



**HAL**  
open science

**Étude de l'influence du microbiote sur les traits  
d'histoire de vie chez les arthropodes hematophages :  
exemple de la fonction de reproduction chez la tique  
ornithodoros moubata**

Florian Taraveau

► **To cite this version:**

Florian Taraveau. Étude de l'influence du microbiote sur les traits d'histoire de vie chez les arthropodes hematophages : exemple de la fonction de reproduction chez la tique ornithodoros moubata. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. dumas-03687140

**HAL Id: dumas-03687140**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03687140>**

Submitted on 13 Jan 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON**

Année 2022 - Thèse n° 005

**ETUDE DE L'INFLUENCE DU MICROBIOTE SUR LES TRAITS  
D'HISTOIRE DE VIE CHEZ LES ARTHROPODES HEMATOPHAGES :  
EXEMPLE DE LA FONCTION DE REPRODUCTION CHEZ LA TIQUE  
*ORNITHODOROS MOUBATA.***

**THESE**

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1  
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 20 mai 2022  
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

TARAVEAU Florian



**CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON**

Année 2022 - Thèse n° 005

**ETUDE DE L'INFLUENCE DU MICROBIOTE SUR LES TRAITS  
D'HISTOIRE DE VIE CHEZ LES ARTHROPODES HEMATOPHAGES :  
EXEMPLE DE LA FONCTION DE REPRODUCTION CHEZ LA TIQUE  
*ORNITHODOROS MOUBATA.***

**THESE**

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1  
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 20 mai 2022  
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

TARAVEAU Florian



## Liste des enseignants du Campus vétérinaire de Lyon (26-01-2022)

Mme	ABITBOL	Marie	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Mme	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Mme	BECKER	Claire	Maître de conférences
Mme	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
M.	BRUTO	Maxime	Maître de conférences Stagiaire
M.	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
M.	BUFF	Samuel	Professeur
M.	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
M.	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
M.	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
M.	CHABANNE	Luc	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
M.	CHAMEL	Gabriel	Maître de conférences
M.	CHETOT	Thomas	Maître de conférences Stagiaire
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Maître de conférences
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Mme	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
M.	GALIA	Wessam	Maître de conférences
M.	GILLET	Benoit	AERC
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Mme	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargé d'enseignement contractuel
M.	JUNOT	Stéphane	Professeur
M.	KODJO	Angeli	Professeur
Mme	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Mme	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	Professeur
Mme	LEDOUX	Dorothee	Maître de conférences
M.	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
M.	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Professeur
M.	LURIER	Thibaut	Maître de conférences Stagiaire
M.	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences Stagiaire
M.	MARCHAL	Thierry	Professeur
Mme	MOSCA	Marion	Maître de conférences
M.	MOUNIER	Luc	Professeur
Mme	PEROZ	Carole	Maître de conférences
M.	PIN	Didier	Professeur
Mme	PONCE	Frédérique	Professeur
Mme	PORTIER	Karine	Professeur
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	Professeur
Mme	REMY	Denise	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
M.	ROGER	Thierry	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Maître de conférences
M.	SCHRAMME	Michael	Professeur
Mme	SERGEANTET	Delphine	Professeur
M.	TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Mme	VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
M.	VIGUIER	Eric	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	Chargé d'enseignement contractuel
M.	ZENNER	Lionel	Professeur

# Remerciements

## Membres du Jury

**A Monsieur le Professeur François MION,**

*De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de Médecine de Lyon Sud*

Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,  
Hommages respectueux.

**A Monsieur le Professeur Lionnel ZENNER,**

*De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,*

Pour avoir accepté d'encadrer ce travail, pour votre temps et la confiance  
accordée,

Remerciements respectueux.

**A Madame la Docteure Magalie RENE-MARTELLET,**

*De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,*

Qui m'a fait l'honneur de participer à mon jury de thèse,

Pour avoir accepté de juger ce travail, pour nos discussions, vos conseils et votre  
confiance,

Mes sincères remerciements.

**A Madame la Docteure Hélène JOURDAN,**

**A Monsieur le Docteur Thomas POLLET,**

*Du CIRAD, UMR ASTRE, Montpellier,*

Pour votre encadrement lors de ce travail,

Pour m'avoir soutenu et aidé à chaque étape, c'est un réel plaisir de travailler  
avec vous et j'espère ne pas vous décevoir pour les années qui arrivent,

Remerciements chaleureux.





# Table des matières

Liste des Annexes .....	8
Liste des Figures .....	9
Liste des Tableaux .....	10
Liste des Abréviations.....	11
Introduction.....	11
Partie I : Biologie et écologie des tiques du genre <i>Ornithodoros</i> .....	14
A/ Taxonomie et phylogénie .....	14
B/ Ecologie.....	16
i) Caractéristiques du cycle parasitaire .....	16
iii) Mode de vie .....	17
ii) Répartition géographique .....	18
C/ Biologie et physiologie.....	20
i) Anatomie externe.....	20
ii) Anatomie interne .....	22
iii) Microbiote connu .....	23
D/ Importance médicale et vétérinaire.....	25
i) Effets directs et indirects liés à la tique.....	25
ii) Peste porcine africaine .....	26
iii) Fièvres récurrentes tropicales .....	28
iv) Autres pathogènes .....	30
E/ Conséquences pour l'étude du modèle <i>Ornithodoros moubata</i> .....	31
i) Collecte des tiques dans le milieu .....	31
ii) Elevage des tiques .....	32
Partie II : Utilisation des antibiotiques pour l'étude du microbiote chez les arthropodes hématophages d'intérêt vétérinaire .....	33
A/ Contexte et objectifs de l'étude .....	33
B/ Conséquences d'un traitement antibiotique chez les arthropodes hématophages non-stricts..	35
i) Modification de la fitness reproductive .....	35
ii) Effets sur le développement et la survie.....	36
iii) Conséquences sur la capacité vectorielle.....	37
C/ Conséquences d'un traitement antibiotique chez les arthropodes hématophages stricts .....	39
i) Diminution de la fitness reproductive.....	39
ii) Altération du métabolisme, des fonctions de nutrition, de la croissance et de la survie.....	40
iii) Modification de la sensibilité à des agents pathogènes.....	42

D/ Réflexion sur les protocoles utilisant des antibiotiques pour l'étude du microbiote .....	43
i) Effet lié à la voie d'administration .....	43
ii) Effet lié à la molécule utilisée.....	43
iii) Limites et biais de l'utilisation des antibiotiques .....	45
iv) Conclusion et perspectives sur l'utilisation des antibiotiques pour l'étude du microbiote.....	45
Partie III : Etude expérimentale du rôle du microbiote bactérien chez la tique <i>Ornithodoros moubata</i> .....	48
A/ Objectifs de l'étude .....	49
B/ Matériel et Méthodes.....	49
i) Tiques utilisées .....	49
ii) Comité éthique .....	51
iii) Gorgement et traitement antibiotique .....	51
iv) Suivi de la reproduction.....	54
v) Extraction de l'ADN .....	54
vi) PCR quantitative .....	54
vii) Analyses statistiques.....	55
C/ Résultats .....	56
i) Analyses moléculaires .....	56
ii) Suivi de la reproduction.....	57
D/ Discussion .....	65
Conclusion .....	71
Références.....	72
Annexes .....	80

# Liste des Annexes

**ANNEXE 1 : Liste des espèces du genre *Ornithodoros* ..... 81**

## Liste des Figures

FIGURE 1 : Histoire évolutive des membres de la famille des <i>Argasidae</i> .....	15
FIGURE 2 : Cycle parasitaire d' <i>Ornithodoros moubata</i> .....	16
FIGURE 3 : Carte de distribution de points de collecte de tiques du genre <i>Ornithodoros</i> en fonction du type de sol (A) ou de l'altitude (B) en Afrique .....	19
FIGURE 4 : Caractéristiques morphologiques des tiques du genre <i>Ornithodoros</i> .....	20
FIGURE 5 : Critères d'identification du sexe chez les tiques du genre <i>Ornithodoros</i> .....	21
FIGURE 6 : Comparaison des stades nymphaux pour quatre espèces du genre <i>Ornithodoros</i> .....	22
FIGURE 7 : Anatomie interne des tiques du genre <i>Ornithodoros</i> .....	23
FIGURE 8 : Principaux genres bactériens faisant parti du microbiote des tiques dures et leur localisation préférentielle .....	24
FIGURE 9 : Carte de distribution des agents de fièvres récurrentes tropicales et leurs vecteurs <i>Ornithodoros</i> respectifs .....	29
FIGURE 10 : Effet d'un traitement antibiotique sur le développement et la survie de la tique <i>Ornithodoros moubata</i> .....	41
FIGURE 11 : Effet de la modification du microbiote par traitement antibiotique sur les traits d'histoire de vie des arthropodes hématophages .....	44
FIGURE 12 : Photographies réalisées à la loupe binoculaire de plusieurs stades de développement de la tique <i>Ornithodoros moubata</i> .....	50
FIGURE 13 : Matériel utilisé pour l'élevage et le gorgement des tiques <i>Ornithodoros moubata</i> . ...	52
FIGURE 14 : Protocole de traitement antibiotique et d'évaluation des traits d'histoire de vie selon le stade du cycle parasitaire d' <i>Ornithodoros moubata</i> .....	53
FIGURE 15 : Représentation des concentrations en ADN obtenues par qPCR pour <i>Rickettsia</i> et <i>Francisella-like endosymbionts</i> (FLE) après traitement antibiotique de nymphes de stade un d' <i>Ornithodoros moubata</i> .....	56
FIGURE 16 : Représentation graphique des indicateurs de la reproduction mesurés chez les tiques femelles adultes <i>Ornithodoros moubata</i> après traitement antibiotique et complémentation en vitamines du premier repas sanguin.....	59
FIGURE 17 : Représentation graphique des indicateurs de la reproduction mesurés chez les tiques femelles adultes <i>Ornithodoros moubata</i> après traitement antibiotique et complémentation en vitamines du deuxième repas sanguin.....	62
FIGURE 18 : Représentation graphique de la survie des tiques <i>Ornithodoros moubata</i> après traitement antibiotique et complémentation en vitamines sur l'ensemble de l'expérience (102 jours) .....	63

## Liste des Tableaux

<b>TABLEAU 1 : Principaux genres bactériens symbiotes primaires d'arthropodes hématophages.....</b>	<b>34</b>
<b>TABLEAU 2 : Principaux genres bactériens symbiotes secondaires d'arthropodes hématophages ..</b>	<b>34</b>
<b>TABLEAU 3 : Effets de plusieurs molécules antibiotiques ou association de molécules sur le microbiote et la physiologie des arthropodes hématophages .....</b>	<b>47</b>
<b>TABLEAU 4 : Résultats des analyses statistiques menées sur les indicateurs de la reproduction mesurés chez les tiques femelles adultes sur 50 jours après le premier repas sanguin traité aux antibiotiques (gentamycine, rifampicine ou témoin négatif) et complémenté en vitamines B (présence ou absence de complémentation) .....</b>	<b>58</b>
<b>TABLEAU 5 : Résultats des analyses statistiques menées sur les indicateurs de la reproduction mesurés chez les tiques femelles adultes sur 50 jours après le deuxième repas sanguin traité aux antibiotiques (gentamycine, rifampicine ou témoin négatif) et complémenté en vitamines B (présence ou absence de complémentation) .....</b>	<b>61</b>

# Liste des Abréviations

**Ab** : Antibiotique

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**ASTRE** : Animal, Santé, Territoires, Risques et Ecosystèmes

**CIRAD** : Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

**CLE** : *Coxiella* Like-Endosymbionts ou *Coxiella* endosymbiotiques

**Ct** : Cycle Treshold ou seuil de cycle

**DMEM** : Dulbecco's modified Eagle's medium

**Dev** : Variance

**ENSL** : Ecole Normale Supérieure de Lyon

**ET** : Ecart-type

**FLE** : *Francisella* Like-Endosymbionts ou *Francisella* endosymbiotiques

**GltA** : Gène codant pour la citrate synthase

***O. moubata*** : *Ornithodoros moubata*

**P2** : Laboratoire de confinement de niveau 2

**PCR** : Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne

**qPCR** : PCR quantitative

**PPA** : Peste Porcine Africaine

**Pr** : P-value

**RCP** : Résumé des Caractéristiques du Produit

***RpoB*** : Gène codant pour la sous-unité  $\beta$  de l'ARN polymérase bactérienne

**taqMan** : Sonde de qPCR

**UMR** : Unité Mixte de Recherche

## Introduction

Borréliose de Lyme, paludisme, fièvre jaune, encéphalites à tiques, dengue... Autant de maladies dont les noms sont associés, à raison, aux piqûres de tiques et de moustiques. Ce rôle que jouent les arthropodes hématophages dans la diffusion de maladies vectorielles constitue l'un des enjeux majeurs de la médecine humaine et vétérinaire d'aujourd'hui (1,2). Chez l'Homme, les maladies issues de la transmission d'agents pathogènes par des arthropodes représentent 17% des cas de maladies infectieuses (3). Rien qu'en Europe, 85 000 cas de borréliose de Lyme se déclarent chaque année (4).

Pourtant, les arthropodes hématophages ne sont pas uniquement porteurs d'agents pathogènes. Comme la plupart des organismes complexes, ils possèdent également un microbiote développé et diversifié qui assure de multiples fonctions et qui fait de chaque individu un holobionte à part entière. L'importance de ce microbiote pour la compétence vectorielle des arthropodes a été extensivement étudiée au cours des dix dernières années (5,6). Dans certaines situations, ce microbiote peut entrer en compétition avec l'agent pathogène pour l'accès aux ressources, empêchant alors la contamination de l'arthropode ; dans d'autres, il peut entrer en synergie avec l'agent pathogène, favorisant ainsi le rôle de vecteur de l'arthropode. La situation peut varier fortement, notamment suivant la communauté microbienne impliquée, sa diversité ou sa taille. L'étude de ce microbiote est donc essentielle pour mieux comprendre l'écologie des arthropodes et leur rôle de vecteur d'agents pathogènes.

Dans cette étude, je me focaliserai sur mon travail de stage de fin d'étude, réalisé dans le cadre du Master 2 Biosciences de l'Ecole Normale Supérieure de Lyon (ENSL) et que j'ai réalisé en tant que cinquième et dernière année de mon cursus vétérinaire à VetAgro-Sup Lyon. Ce stage s'est déroulé au CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement) au sein de l'UMR117 ASTRE (Animal, santé, territoires, risques et écosystèmes) du 11/01/2021 au 25/06/2021 sous l'encadrement d'Hélène JOURDAN et Thomas POLLET. Cette étude a été financée par le projet NifNaf ("Unraveling the effect of contact networks & socio-economic factors in the emergence of infectious diseases at the wild-domestic interface" <https://www.asf-nifnaf.org/>) et s'est déroulé sur la plateforme « Insectarium Baillarguet » (<https://doi.org/10.18167/infrastructure/00001>), appartenant à l'infrastructure nationale EMERG'IN et au réseau VECTOPOLE SUD. Ce travail de stage a été réalisé sur l'espèce de tique *Ornithodoros moubata* sur laquelle nous allons nous concentrer dans ce manuscrit.

*Ornithodoros moubata* est une tique molle appartenant à la famille des *Argasidae* qui se retrouve principalement au sud-est de l'Afrique (7). Parmi les principaux hôtes de cette espèce, se retrouvent les membres domestiques et sauvages de la famille des suidés, en particulier les phacochères, potamochères et cochons domestiques. Les *Ornithodoros* sont aussi connues pour être des réservoirs du *Virus de la peste porcine africaine*, maladie gravissime, à déclaration obligatoire chez le cochon domestique (8). La peste porcine africaine (PPA) est une fièvre hémorragique répertoriée en tant que maladie vétérinaire à déclaration obligatoire de catégorie une en France. Chez le cochon domestique, la forme aiguë de la peste porcine africaine est caractérisée par une mortalité et une morbidité atteignant toutes les deux pratiquement 100% (9). Dans le cycle domestique de la PPA, la transmission a principalement lieu par contact direct entre animaux contaminés ou par la consommation de produits contaminés d'origine animale. Au contraire, dans le cycle sylvatique, l'implication de la tique *Ornithodoros moubata* est bien établi, avec un rôle de vecteur et de réservoir pour le virus de la PPA (10–12). La transmission du virus entre les deux cycles par le biais de la tique *Ornithodoros moubata* reste en revanche à élucider.

Comme mentionné précédemment, la compétence vectorielle d'une tique pour un agent pathogène dépend, entre autres, de son microbiote (13). Néanmoins, la compétence vectorielle n'est pas le seul paramètre influencé par le microbiote. Chez les arthropodes hématophages, ce dernier joue aussi un rôle primordial sur la reproduction, le développement larvaire, le métabolisme et la fitness globale (6). Chez les tiques, deux rôles cruciaux ont été soulignés jusqu'ici : la production de la vitamine B et d'autres nutriments essentiels (14,15) et l'amélioration de la fitness reproductive chez la femelle (16–19).

Dans ce document, le rôle du microbiote pour le développement de la tique *Ornithodoros moubata* sera étudié. Pour cela je commencerai par rappeler les données de la littérature disponibles sur les tiques du genre *Ornithodoros*. Dans un second temps, je présenterai une méthode disponible pour étudier le rôle de certains membres du microbiote des arthropodes hématophages, à savoir la perturbation de ce microbiote par traitement antibiotique. Enfin, je me concentrerai sur l'analyse des résultats obtenus lors de l'étude réalisée en 2021 au CIRAD sur le rôle du microbiote de la tique *Ornithodoros moubata*.



## Partie I : Biologie et écologie des tiques du genre *Ornithodoros*

Dans cette première partie, je ferai un bilan rapide des connaissances scientifiques disponibles sur les tiques du genre *Ornithodoros*.

### A/ Taxonomie et phylogénie

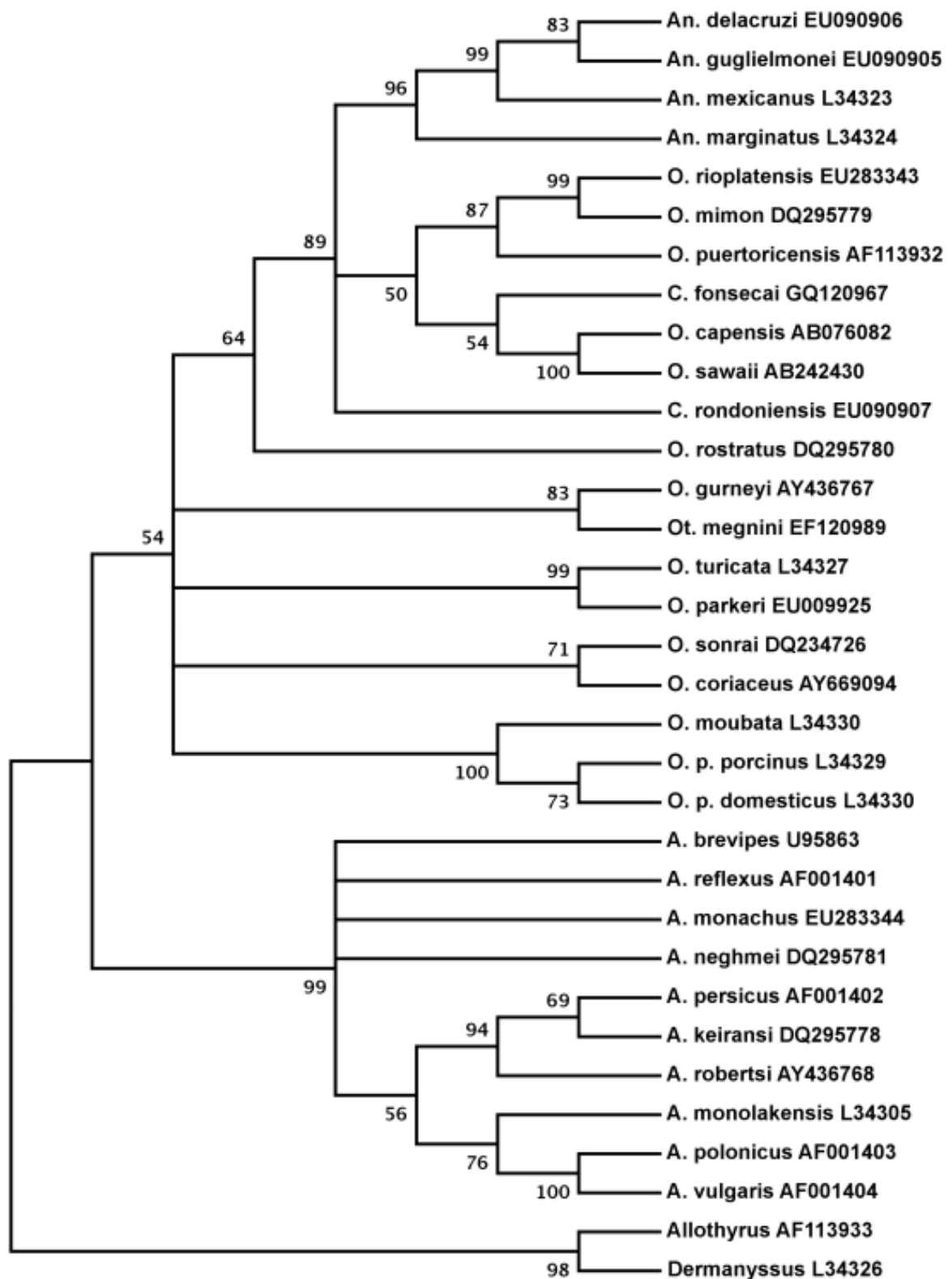
Les *Ornithodoros*, comme l'ensemble des tiques peuvent être présentées selon la classification suivante :

- Embranchement des Arthropodes (exosquelette chitineux et appendices articulés)
- Sous-embranchement des Chélicérates (pas d'antennes ni de mandibules, pédipalpes, quatre paires de pattes)
- Classe des Arachnides (respiration trachéale)
- Ordre des Acariens (corps non segmenté)
- Sous-ordre des *Ixodoidea* (les tiques)

Les tiques sont alors séparées en deux principales familles, les *Ixodidae* et les *Argasidae* auxquelles viennent s'ajouter les *Nuttalliellidae* (20). Les tiques du genre *Ornithodoros* appartiennent à la famille des *Argasidae*, c'est-à-dire les tiques « molles » par opposition aux tiques « dures » (*Ixodidae*). L'ensemble des spécificités anatomiques des *Argasidae* seront reprises dans la partie dédiée.

Chez les *Argasidae*, nous pouvons distinguer deux sous-familles, les *Argasinae* qui contiennent notamment les tiques du genre *Argas*, et les *Ornithodorinae* qui contiennent les tiques des genres *Antricola*, *Nothoaspis*, *Otobius* et *Ornithodoros* (21,22). C'est ce dernier genre qui nous intéresse ici. Au total, 112 espèces ont été identifiées au sein du genre *Ornithodoros* dont l'ensemble des noms sont présentés en **ANNEXE 1** (20). Il est important de noter que la classification des tiques au sein de la sous famille *Ornithodorinae* est sujet à débats et est susceptible d'être modifiée à l'avenir.

La distinction des espèces sur critères morphologiques est extrêmement complexe. Certains critères se basent sur la présence ou l'absence d'yeux, la morphologie des tarsi et des pièces buccales, etc... (21). Les données moléculaires issues de l'ADN 16S ribosomal permettent néanmoins une identification précise des espèces. L'analyse de telles données confirme que le genre *Ornithodoros* n'est pas monophylétique, bien qu'un grand nombre d'espèces afrotropicales demeurent phylogénétiquement proches (**FIGURE 1**) (23,24).

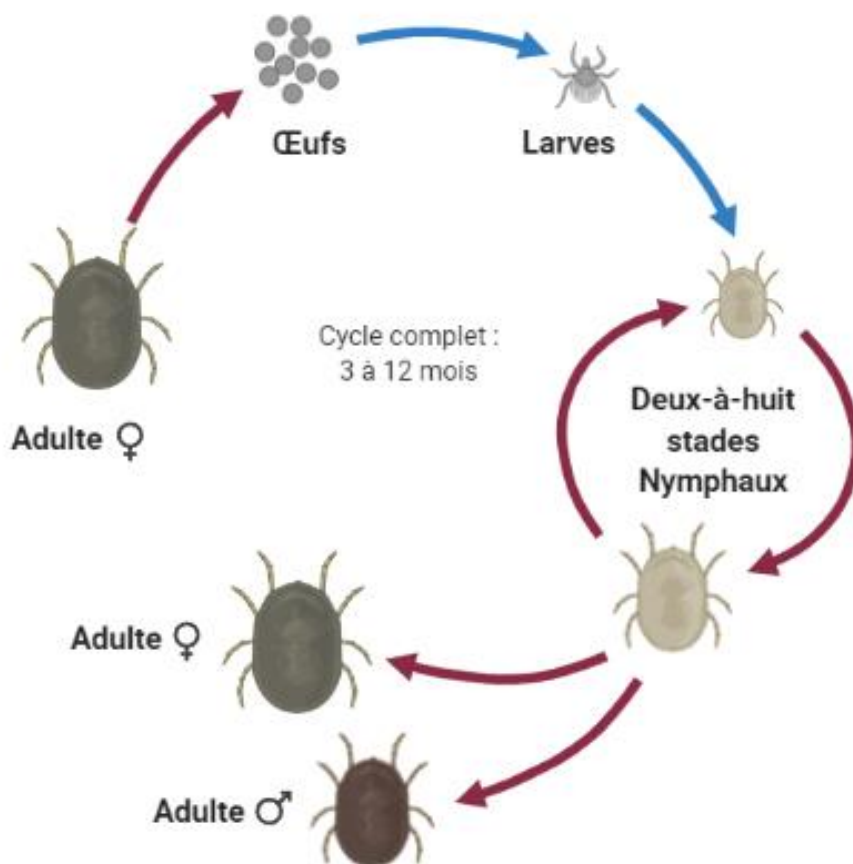


**FIGURE 1 : Histoire évolutive des membres de la famille des *Argasidae*.** Estrada-Pena *et al.* 2010 (24). Arbre optimal par la méthode de *neighbour joining*. Les valeurs de bootstrap (1000 réplicats) sont indiquées sur les branches concernées. *An.* *Antricola*. *O.* *Ornithodoros*. *O. p.* *Ornithodoros porcinus*. *Ot.* *Otobius*. *A.* *Argas*.

## B/ Ecologie

### i) Caractéristiques du cycle parasitaire

Le cycle parasitaire des *Ornithodoros* ressemble globalement à celui de l'ensemble des tiques molles et, plus généralement, à celui des tiques dures (**FIGURE 2**). Il se caractérise par trois stases, larve, nymphe et adulte, séparées par des métamorphoses. La stase nymphale est divisée en plusieurs stades nymphaux, 2 à 5 en général, voire jusqu'à 8 dans certains cas, séparés par des mues. Chaque passage d'un stade à un autre nécessite la prise d'un repas sanguin sur un hôte. Une exception à cette règle est importante à mentionner concernant les *Ornithodoros*. En effet, chez de nombreuses espèces de ce genre, le passage de l'état de larve à celui de nymphe de stade 1 ne nécessite pas de repas sanguin (21,25,26). Ce phénomène peut même se retrouver pour les premiers stades nymphaux, chez *O. amblus* et *O. capensis* par exemple.



**FIGURE 2 : Cycle parasitaire d'*Ornithodoros moubata*.** Les flèches bleues indiquent les étapes du cycle qui ne nécessitent pas de repas sanguin. Les flèches rouges indiquent les étapes du cycle qui nécessitent un repas sanguin. Chaque repas sanguin est court (moins de 3 heures) et la tique se détache systématiquement de l'hôte à l'issue du repas sanguin. Figure réalisée en utilisant BioRender.com.

La durée des repas sanguins est extrêmement courte en comparaison avec les tiques dures. Le gorgement dure en général 15 minutes à 1 heure suivant les espèces et les conditions. Il est important de noter que la durée et la qualité de ce repas peuvent influencer sur de nombreux paramètres, notamment le nombre de stades nymphaux, la durée de la mue ou encore les paramètres de la ponte (25,27). Chez les quelques espèces qui nécessitent un repas sanguin au stade larvaire, celui-ci est en général long de plusieurs jours (28).

Les *Ornithodoros* sont en très grande majorité polyxènes à quelques exceptions près (*O. lahorensis*), signifiant qu'elles vont changer d'hôte entre chaque repas de sang (28). La spécificité d'hôte est très dépendante de l'espèce. Certaines tiques peuvent sembler assez spécifiques (*Ornithodoros moubata* qui se gorge principalement sur les suidés), alors que d'autres espèces peuvent se nourrir sur n'importe quel hôte de passage. Néanmoins, chez les tiques molles, ces différences de tropisme sont fortement influencées par l'habitat de la tique (*O. moubata* qui ne se retrouve que dans les terriers de phacochères mais qui peut techniquement se nourrir sur du sang de vache ou de volaille) et il est de ce fait souvent difficile de connaître les préférences trophiques d'une espèce. Parmi les espèces connues, on retrouve des tiques pouvant se nourrir de manière indifférenciée sur des mammifères (suidés, chauves-souris, rongeurs...), des oiseaux (volaille, pigeon...) et des reptiles (tortues, gecko, serpents...), notamment *O. tartakovskyi*, *O. verrucosus* et *O. sonrai* (25).

Concernant la reproduction, l'accouplement a lieu préférentiellement dans le milieu, avant ou après le repas sanguin (29,30). Contrairement aux tiques dures, les femelles *Ornithodoros* pourront se gorger plusieurs fois et réaliser jusqu'à six pontes sur plusieurs années (31). Une femelle peut s'accoupler plusieurs fois mais un seul accouplement peut également suffire à assurer plusieurs pontes grâce au vagin qui assure aussi un rôle de spermathèque (de manière similaire à la spermathèque des tiques dures) (32). La ponte a lieu après décrochement de l'hôte suite au repas sanguin, une femelle pond en général moins de 200 œufs à chaque ponte (entre 5 et 500 maximum).

Le cycle dure au total entre 3 mois et 1 an environ suivant les espèces et les conditions environnementales. Les tiques *Ornithodoros* sont très résistantes au jeun et peuvent donc entrer en un état de latence, appelé diapause, pendant plusieurs années en attendant que les conditions deviennent plus favorables. La longévité de ces espèces peut atteindre jusqu'à 23 ans (25).

### iii) Mode de vie

Les *Ornithodoros*, contrairement aux tiques dures, sont des tiques endophiles (ou nidicoles), ce qui signifie qu'elles ont tendance à vivre dans des

endroits abrités, isolés du milieu extérieur, tels que des nids d'oiseaux, terriers de mammifères, grottes, anfractuosités rocheuses ou bâtiments humains, en particulier bâtiments d'élevage (29). Cette caractéristique est à mettre en lien avec le cycle de ces tiques. Comme détaillé ci-dessus, les *Ornithodoros* passent très peu de temps sur leur hôte vertébré (repas sanguin court). L'ensemble de leur cycle, y compris la reproduction, s'effectue dans le milieu. Les milieux avec une humidité et une température contrôlées sont donc très favorables pour ces espèces. De plus, avec leur mode de gorgement polyxène (sur de nombreux hôtes), le mode de vie endophile associé à un lieu régulièrement fréquenté par des hôtes potentiels constitue une stratégie de parasitisme efficace (25). *Via* le repas sanguin court, les tiques limitent le risque d'être emportées loin de cet environnement favorable.

Il est à noter que, malgré la capacité des nymphes et des adultes à survivre à des conditions environnementales défavorables, la survie des larves nécessite un environnement plus stable et humide autorisé par le mode de vie nidicole (29). Dans ces environnements, le type de sol, la présence d'anfractuosités et la présence régulière de l'hôte (*via* sa respiration, sa transpiration et ses excréments) sont autant de paramètres venant favoriser l'installation des tiques.

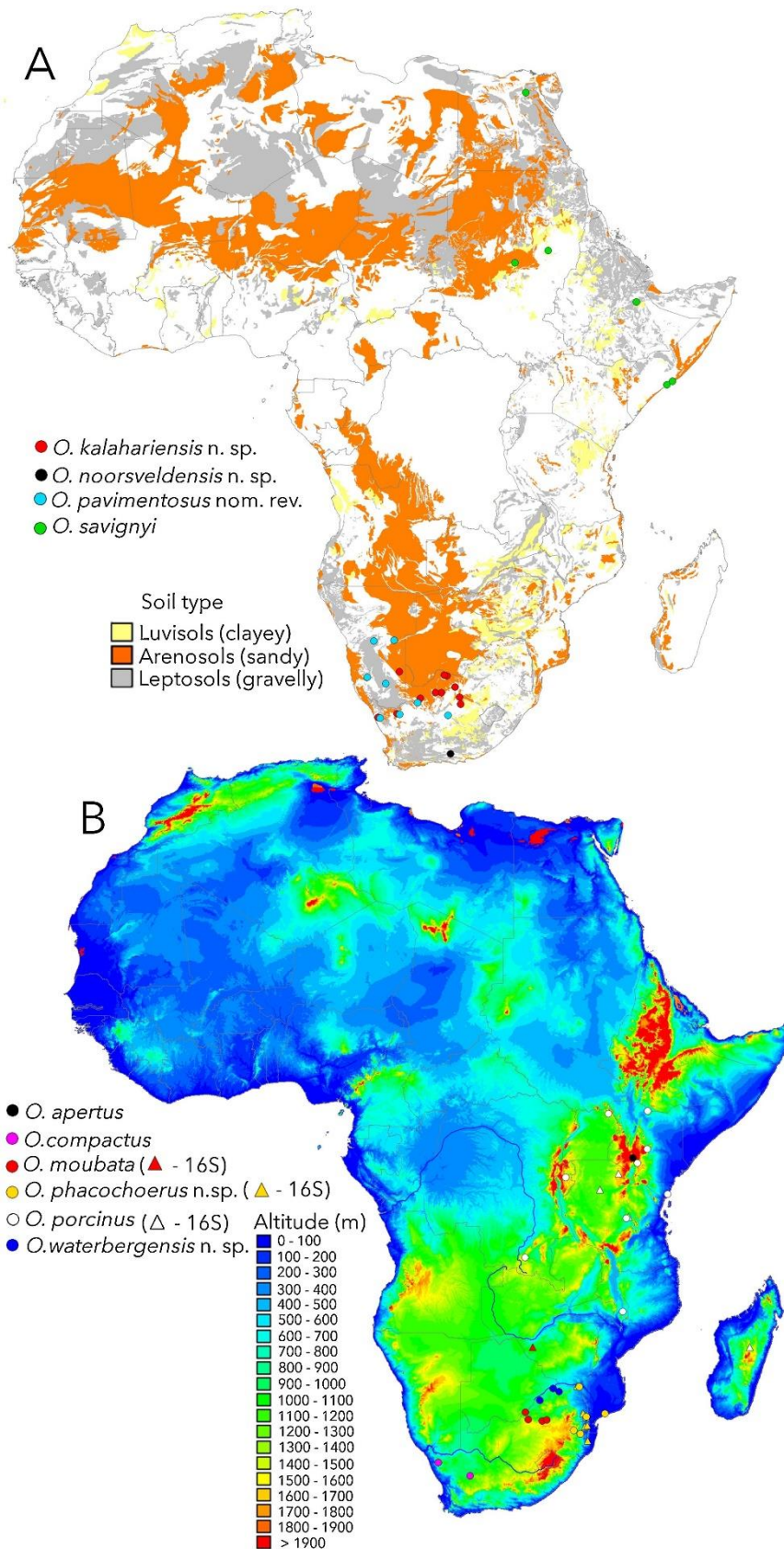
Enfin, il est intéressant de noter que la plupart des espèces du genre *Ornithodoros* évitent la lumière et sont plutôt nocturnes lors de leurs pics d'activité (repas sanguin, reproduction, mue, ponte...).

## ii) Répartition géographique

Les tiques du genre *Ornithodoros* se retrouvent un peu partout à travers le monde, principalement dans les climats tempérés et subtropicaux mais aussi jusque dans des zones tropicales ou arides. Ainsi elles sont présentes sur le pourtour méditerranéen et en Asie du sud et du sud-est (32 espèces), au sud des États-Unis (19 espèces), en Amérique centrale et en Amérique du Sud (54 espèces), en Océanie (10 espèces) et bien sûr à travers toute l'Afrique (21 espèces) (21,25,33).

Si on se concentre sur l'échelle du continent africain, et en particulier, sur les *Ornithodoros* afrotropicales (qui incluent environ dix espèces), on observe une répartition dépendant du climat, du biome (avec une préférence pour les zones semi-arides, tempérées ou de savanes), de l'altitude, du type de sol, de la végétation et des aires de distribution des espèces hôtes (**FIGURE 3**) (21,29,34).

A terme, ce type d'information sur la répartition des tiques permet d'établir des modèles afin d'anticiper les aires potentielles de distribution futures de ces espèces (35,36).



**FIGURE 3 : Carte de distribution de points de collecte de tiques du genre *Ornithodoros* en fonction du type de sol (A) ou de l'altitude (B) en Afrique. Bakkes *et al.* 2018 (21).**

## C/ Biologie et physiologie

### i) Anatomie externe

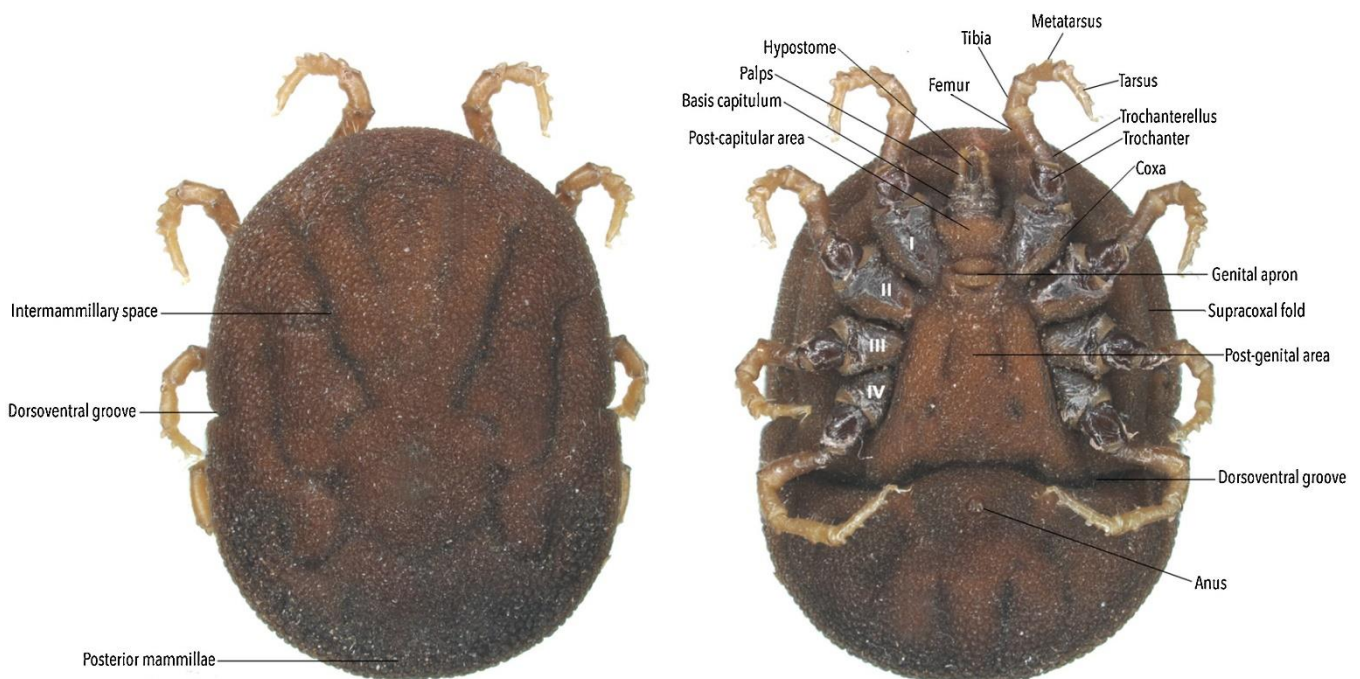
Comme l'ensemble des tiques molles, les *Ornithodoros* répondent à un certain nombre de critères anatomiques (**FIGURE 4**).

Ces tiques ne possèdent pas de scutum, la partie chitineuse dorsale, d'où le nom du groupe « tiques molles ». Le tégument qui constitue leur cuticule est extrêmement résistant et leur permet de survivre à la dessiccation en évitant l'évaporation d'eau (25). Ce tégument est capable de se détendre extrêmement rapidement, permettant un repas sanguin court et rapide.

Les pièces piqueuses et l'ensemble du capitulum (partie antérieure de la tique, incluant les pièces buccales) se situent en position ventrale à l'exception du stade larvaire.

Les yeux sont en général absents (d'où l'un des noms utilisé en anglais : « *eyeless tampans* ») ou très réduits, en particulier chez le mâle. Leurs pattes sont griffues mais ne disposent pas de pulvilles. On trouve des stigmates entre les pattes III et IV qui servent pour la respiration trachéale.

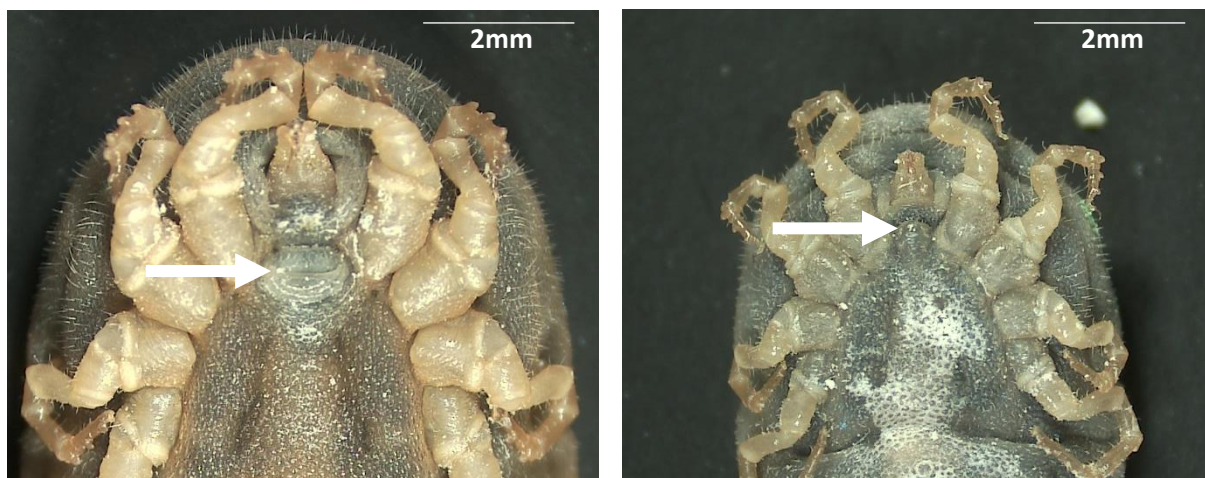
Une des principales particularités de ces tiques, comparées aux tiques dures, est la présence de glandes coxales (ou coxa de type I) qui se trouvent entre les pattes I et II. Ces glandes permettent l'osmorégulation en sécrétant l'excès



**FIGURE 4 : Caractéristiques morphologiques des tiques du genre *Ornithodoros*.** Bakkes *et al.* 2018 (21). Ici un spécimen d'*Ornithodoros phacochoerus* femelle d'Afrique du Sud.

d'eau et de sels minéraux lors du repas sanguin (26). Cette fonction est assurée par les glandes salivaires chez les tiques dures. Les glandes coxales sont plus efficaces que les glandes salivaires pour cette fonction permettant aux tiques molles de réaliser un repas sanguin très rapide. Il est intéressant de noter que ces glandes peuvent aussi jouer un rôle dans la transmission d'agents pathogènes entre les tiques (37).

Chez les *Ornithodoros*, le dimorphisme sexuel est faible hors période de gorgement. On peut déterminer le sexe d'une tique par l'observation à la loupe binoculaire comme présenté en **FIGURE 5**. Cette différenciation de l'appareil génital des tiques ne s'opère qu'au cours de la dernière mue, lors de la métamorphose du dernier stade nymphal vers le stade adulte.



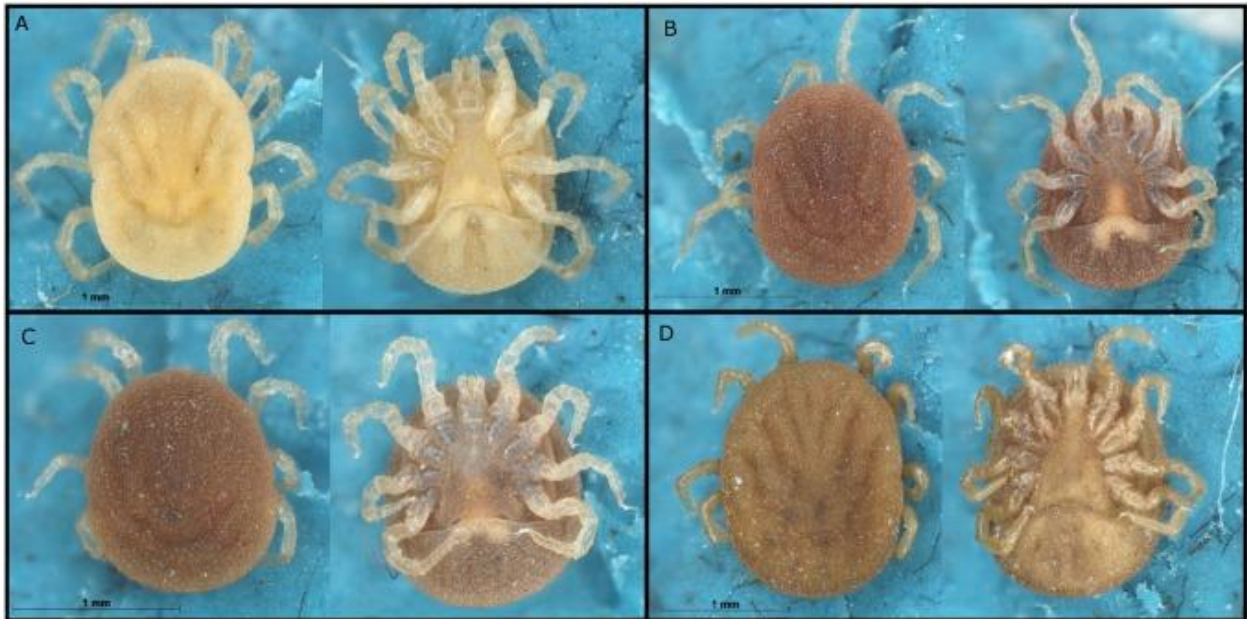
**FIGURE 5 : Critères d'identification du sexe chez les tiques du genre *Ornithodoros*.** Ici chez deux spécimens d'*Ornithodoros moubata* de la lignée d'élevage du CIRAD. A gauche, une femelle adulte. A droite, un mâle adulte. Deux critères sont à prendre en compte, la taille de l'individu et la forme de l'orifice génital (indiqué par les flèches).

Les stades nymphaux sont très similaires au stade adulte si ce n'est par leur taille plus réduite (**FIGURE 6**). En moyenne les tiques *Ornithodoros* mesurent 2 à 30 mm suivant le stade et l'espèce (28).

Les larves en revanche sont très différentes des stades suivants. Elles possèdent trois paires de pattes (contre quatre pour les stades suivants), le capitulum est antérieur et elles possèdent des pulvilles constituées de nombreuses soies adhésives à l'extrémité des tarsi.

Quelques spécificités d'espèce sont amusantes à relever. Ainsi, chez *Ornithodoros savignyi*, le tarse I est de taille excessivement longue, ce qui constitue une adaptation au sol sec alors que chez la tique *Ornithodoros moubata*, le tarse est bien plus court en lien avec le sable facilement malléable des terriers de phacochères, milieu de vie de cette tique (21).





**FIGURE 6 : Comparaison des stades nymphaux pour quatre espèces du genre *Ornithodoros*.** Bakkes et al. 2018 (21). **A.** *Ornithodoros compactus*. **B.** *Ornithodoros moubata* **C.** *Ornithodoros phacochoerus* n. sp. **D.** *Ornithodoros porcinus*.

## ii) Anatomie interne

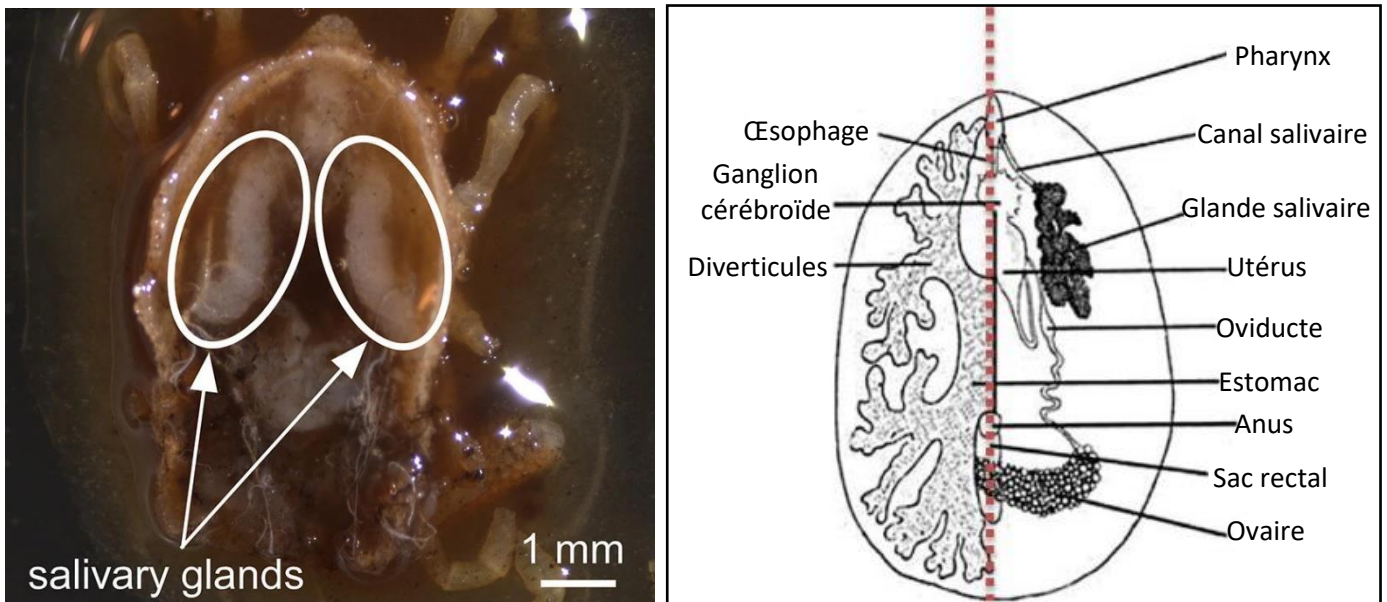
L'anatomie interne diffère assez peu entre les tiques molles et les tiques dures. La respiration est trachéale chez les adultes et les nymphes et cuticulaire (transcutanée) chez les larves. Le système circulatoire est basé sur l'hémocoèle qui contient de l'hémolymphe dans lequel baigne les organes, des cellules du système immunitaire et des protéines et nutriments.

Le système digestif est complexe et très flexible lui permettant de se dilater lors du repas sanguin. Il est constitué de pièces digestives hautes (œsophage, pharynx, orifice buccal) qui permettent l'ingestion de sang et l'excrétion de salive, de deux intestins successifs qui permettent la digestion du sang et, enfin, des tubes de Malpighi et de l'anus qui permettent la transformation des déchets en provenance de l'hémolymphe puis l'excrétion sous forme de cristaux de guanine.

Cet ensemble est complété par les glandes salivaires de la tique, organe clé du repas sanguin. Les glandes salivaires produisent une salive anti-coagulante, vasodilatatrice et immunosuppressive, qui permet d'initier la digestion *via* son action de lyse des cellules (**FIGURE 7**). Contrairement à ce qu'on observe chez les tiques dures, la salive ne participe ni à l'excrétion de l'excès d'eau, ni à la fixation à l'hôte par production de ciment. Ces éléments sont à mettre en lien avec le repas sanguin court chez les *Ornithodoros*. Il est important de mentionner à ce stade que, comme pour les tiques dures, les glandes

salivaires constituent le principal organe impliqué dans la transmission d'agents pathogènes vers l'hôte vertébré (38).

L'appareil reproducteur est similaire aux tiques dures : ovaire, oviducte, utérus et vagin chez la femelle ; testicules, canaux déférents et glande séminale chez le mâle. Chez la femelle, c'est le vagin qui assure le rôle de spermathèque au contraire des tiques dures qui possèdent un organe spécifique dédié (25).

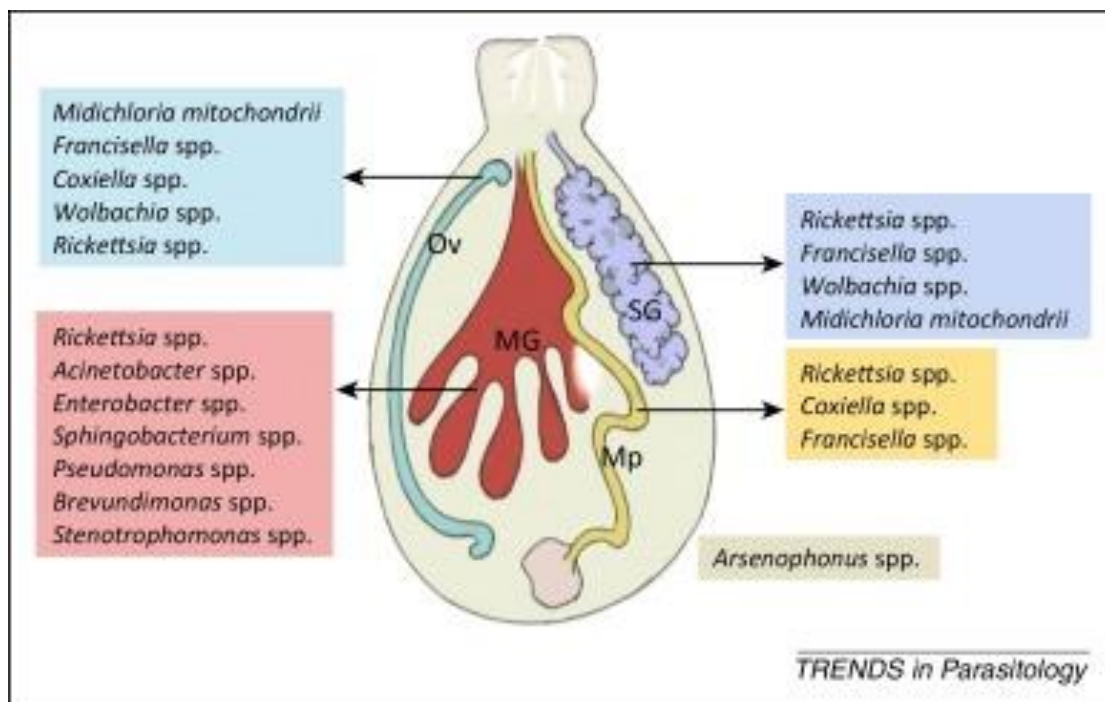


**FIGURE 7 : Anatomie interne des tiques du genre *Ornithodoros*.** Kim *et al.* 2020 (38) et Pérez-Eid *et al.* 2007. A gauche, dissection de la tique *Ornithodoros turicata* et mise en évidence des glandes salivaires. A droite schéma de l'anatomie interne de la tique en coupe frontale.

### iii) Microbiote connu

Le microbiote des tiques a été fortement étudié par séquençage, généralement en ciblant le gène de l'ARN ribosomal 16S (13). La localisation des différentes espèces bactériennes peut être parfois spécifiquement associée à un organe comme présenté en **FIGURE 8**.

Les espèces microbiennes seront séparées en plusieurs catégories selon leur effet sur l'arthropode, catégories qui représentent en réalité un continuum d'interactions entre le microbiote et l'arthropode. Les symbiotes primaires sont considérés comme étant essentiels pour la survie et/ou le développement de la tique. Ils sont de plus systématiquement transmis verticalement à la descendance et la plupart d'entre eux sont intracellulaires. Le reste du microbiote est séparé entre des espèces mutualistes et des espèces commensales (auxquelles on se réfère souvent en temps symbiotes secondaires et dont la plupart des membres sont extracellulaires), ainsi que des espèces dites environnementales et des espèces pathogènes (6).



**FIGURE 8 : Principaux genres bactériens faisant parti du microbiote des tiques dures et leur localisation préférentielle.** Narasimhan 2015 (13). Ov : Ovaire. MG : Intestin. SG : Glande salivaire. Mp : Tube de Malphigi.

Chez les tiques du genre *Ornithodoros*, les symbiotes primaires qui se retrouvent le plus fréquemment sont les endosymbiotes intracellulaires associés à la fonction de nutrition. Ce groupe inclut principalement les *Coxiella*-like endosymbionts, les *Midichloria*-like endosymbionts, les *Francisella*-like endosymbionts et les *Rickettsia* (14,39–41). Ces bactéries, majoritairement trouvées dans les ovaires et transmises maternellement, assurent la production de nutriments essentiels tels que les vitamines B, qui ne sont pas apportés par le repas sanguin (42).

Néanmoins, le microbiote ne se limite pas aux endosymbiotes primaires et de très nombreuses autres espèces sont présentes (13). Jusqu'à ce jour, les principales études menées à ce sujet concernent le microbiote des tiques dures mais les tendances observées dans les quelques études menées sur des *Ornithodoros*, montrent des compositions similaires (13,41). Quelques genres bactériens fréquemment retrouvés sont présentés en **FIGURE 8**.

A cela viennent s'ajouter les espèces que nous qualifions de pathogènes et les espèces environnementales (43). La tique et l'ensemble des espèces microbiennes qu'elle héberge peuvent être qualifiés d'holobionte.

Le rôle du microbiote chez les *Ornithodoros* sera abordé plus en détail dans la suite de ce manuscrit.

## D/ Importance médicale et vétérinaire

En médecine vétérinaire, les tiques constituent le premier arthropode vecteur de maladies, devant les moustiques. L'Homme constitue, dans la majeure partie des cas, un hôte accidentel et il n'y a pas d'espèce de tiques possédant un tropisme spécifique pour l'Homme (32).

Comparé à certaines espèces de tiques dures, les *Ornithodoros* ne constituent néanmoins pas un vecteur majeur d'agents pathogènes et les quelques agents pathogènes portés par des *Ornithodoros* peuvent souvent aussi être transmis par des biais autres que vectoriels. En revanche, de par leur longévité et leur mode de vie, ces tiques constituent bien souvent une espèce réservoir pour les agents pathogènes qu'elles hébergent (29).

La transmission d'agents pathogènes des tiques *Ornithodoros* vers les hôtes vertébrés s'effectue lors du repas sanguin, souvent par le biais des glandes salivaires de la tique (32). La transmission trans-stadiale de l'agent pathogène est une condition obligatoire pour que la tique en soit le vecteur. Une transmission trans-ovarienne de la mère à l'œuf est également possible dans un certain nombre de cas. Enfin, les tiques peuvent se contaminer entre elles lors d'un repas sanguin sur le même hôte, souvent par le biais des glandes coxales. On parle alors de phénomène de co-feeding ou co-repas (44).

Néanmoins, la compétence vectorielle des tiques pour un agent pathogène (c'est-à-dire, la possibilité pour cet agent pathogène d'infecter la tique, de s'y développer puis d'être transmis à un hôte vertébré) n'est pas le seul élément à prendre en compte. La répartition géographique du vecteur, son mode de vie, la fréquence à laquelle il se retrouve dans l'environnement, les phénomènes de migration etc... sont autant de paramètres à considérer pour évaluer les enjeux sanitaires associés aux *Ornithodoros*.

### i) Effets directs et indirects liés à la tique

Comme pour de nombreuses espèces de tiques, la piqûre par les *Ornithodoros* va d'abord avoir des conséquences directes sur l'hôte vertébré. Ces effets s'observent surtout chez les animaux d'élevage et la faune sauvage, principalement lorsque le taux d'infestation est important (32).

Si des effets de spoliation sanguine et des réactions allergisantes peuvent être mentionnés, les principaux risques liés à l'infestation demeurent les toxicoses et les paralysies à tiques. Les paralysies à tiques (qui constituent une forme de toxicose) sont provoquées par des toxines présentes dans la salive des tiques et sont responsables d'une altération des transmissions neuronales chez l'hôte vertébré. Ces paralysies débutent au niveau de l'extrémité des membres

et peuvent d'aller jusqu'à la défaillance respiratoire dans les cas les plus graves. Chez les *Ornithodoros*, les toxicoses sont surtout causées par les espèces pour lesquelles les larves ont besoin de réaliser un repas sanguin long. Une seule tique peut suffire à initier la toxicose et la durée de fixation est un paramètre clé associé à la gravité de la maladie. Le retrait de la tique est suffisant pour le rétablissement de l'animal (28).

Un exemple fréquemment étudié est le cas de la tique *Ornithodoros savignyi* dans les élevages bovins et ovins au sud de l'Afrique dont les nymphes et les adultes peuvent à la fois provoquer des paralysies à tiques mais aussi une autre forme de toxicose (« tampan toxicosis »), fulgurante chez les bovins d'élevage (45). Des cas de toxicoses chez les animaux domestiques et chez l'Homme sont également rapportés suite aux piqûres de certaines espèces (*Ornithodoros brasiliensis* au Brésil), mais ces cas, restent rares et se résolvent le plus souvent sans complications (46).

## ii) Peste porcine africaine

Le virus de la peste porcine africaine constitue l'agent pathogène le plus étudié chez les *Ornithodoros* de par son importance en santé animale. La peste porcine africaine (PPA) est une fièvre hémorragique des suidés transmise par un virus à ADN à double brin de la famille des *Asfarviridae*. Actuellement, 23 géotypes différents sont identifiés pour le virus de la PPA avec une virulence variable suivant les souches considérées (47). Le virus de la PPA est transmissible aux suidés domestiques et sauvages. Les suidés sauvages d'Afrique (phacochères et potamochères) ne présentent aucun signe clinique, malgré une virémie marquée suite à l'infection (10,48). Chez les suidés domestiques (cochons) et chez les suidés sauvages européens (sangliers), l'infection par le virus se traduit par des formes cliniques aiguës ou chroniques. La forme aiguë de la maladie est caractérisée par une morbidité et une mortalité pouvant atteindre 100% en une dizaine de jours (49). Le tableau clinique inclut une atteinte de l'état général avec des symptômes hémorragiques et respiratoires. A cela s'ajoute des symptômes fébriles, nerveux, digestifs et/ou cutanés, le tout se terminant souvent par la mort de l'animal. Dans la forme chronique, les symptômes sont peu spécifiques, caractérisés par des troubles respiratoires et un amaigrissement chronique menant, là aussi, à la mort de l'animal (49). En France, la maladie est considérée comme un danger sanitaire de première catégorie et sa propagation à travers l'Europe et l'Asie est un sujet d'inquiétude pour les filières porcines. En Afrique subsaharienne, la maladie est enzootique avec de nouveaux foyers référencés chaque année et un portage chronique par les espèces réservoirs dans la faune sauvage. Etant donné l'absence de traitement ou de vaccin existant, la seule

approche permettant la gestion de la maladie est l'abattage systématique de l'ensemble des porcins dans les élevages positifs, la mise en quarantaine des lieux contaminés et l'application de mesures sanitaires d'urgence dans le périmètre concerné (50).

Le virus de la PPA se transmet principalement par contact direct entre suidés ou par consommation de tissus contaminés. La principale source d'introduction de la PPA dans un nouveau lieu est le rejet dans l'environnement de restes alimentaires contaminés, qui sont alors consommés par des suidés sauvages. Par la suite, une transmission directe est possible par contact entre des suidés infectés et des suidés sains (49). Pour ce qui concerne le rôle des arthropodes vecteurs, une transmission mécanique du virus entre vertébrés est possible via les mouches piqueuses et les tabanidés (51). Enfin, le virus de la PPA peut-être transmis par les *Ornithodoros* afrotropicales, seul vecteur biologique connu pour ce virus. Ce mode de propagation de la maladie reste très secondaire comparé aux autres méthodes de contamination (49). Néanmoins, de par l'importance de la PPA, le rôle des *Ornithodoros* a été largement étudié au cours des dernières années afin de mieux comprendre la place qu'elles occupent dans l'épidémiologie de la maladie.

Chez les tiques, la contamination s'effectue lors d'un repas sanguin sur un hôte porteur du virus. L'infection de la tique passe alors par une réplication du virus au niveau des cellules épithéliales de l'intestin (52). Après infection de la tique, le virus se retrouve dans les sécrétions salivaires, le fluide coxal (52,53) et les faeces (53). La mortalité chez les tiques suite à l'infection par le virus est rapportée comme étant assez faible (37,53) excepté lors de repas sanguins menant à la reproduction chez la femelle (54). Ces résultats peuvent varier suivant la souche virale utilisée (53) pouvant suggérer des mécanismes de co-évolution entre espèces de tiques et souches virales.

Selon certains résultats récents, l'infection expérimentale via le repas sanguin de tiques *Ornithodoros porcinus*, avec la souche Malawi Li 20/1 du virus de la PPA, ne mène qu'à une infection extrêmement limitée dans le temps (moins de 18 jours) et dans la tique (seulement au niveau des cellules épithéliales de l'intestin). Au contraire, une infection directement par inoculation dans l'hémocoèle menait à une infection persistante (52), suggérant que la barrière intestinale constitue une étape clé de l'infection des tiques par le virus, possiblement en lien avec le microbiote de la tique. Chez *O. moubata*, les deux types d'infections expérimentales ne donnent pas de différences malgré une grande variabilité individuelle (53).

Chez les tiques infectées, des dissections ont permis d'étudier la localisation préférentielle du virus dans les organes (37,55). Il apparaît que le virus peut coloniser l'ensemble des organes de la tique, notamment les gonades,

les tubes de Malpighie, l'hémocoèle, les glandes coxales, les glandes salivaires. Mais c'est dans les cellules épithéliales du tube digestif que la contamination s'effectue dans un premier temps (dès 24h post infection) et reste la plus forte (37,55).

La transmission entre les tiques est possible de manière trans-stadiale, lors de la reproduction (56,57) et de manière trans-ovarienne (58,59) avec un succès pouvant atteindre 100% chez *Ornithodoros moubata* (54). Ces derniers résultats demeurent très variables d'une souche à l'autre (58), certaines souches virales n'étant pas du tout transmises (57) et toutes les espèces de tiques n'autorisant pas la transmission, comme par exemple *O. erraticus* (56). Jusqu'à maintenant, aucune observation d'infection par co-feeding n'a été rapportée (60,61).

Le virus est connu pour s'être implanté chez les tiques *Ornithodoros erraticus* lors des premières périodes de contamination de l'Espagne et du Portugal dans les années 70 (54). Plusieurs études ont démontré que de nombreuses espèces d'*Ornithodoros* sont capables d'être infectées par le virus. En parallèle, il semble qu'en l'absence de réinfections fréquentes et malgré les différents modes de transmission entre tiques, le virus n'est pas maintenu dans les lignées de tiques pendant plus d'un an (53,54).

Malgré cela, les *Ornithodoros* afrotropicales constituent un réservoir du virus dans les zones enzootiques pour la PPA. Le contact régulier avec les suidés sauvages d'Afrique fait que les *Ornithodoros* constituent un maillon récurrent du cycle sylvatique de la PPA (49). Le rôle des *Ornithodoros* dans la transmission du virus de la PPA entre le cycle sylvatique et le cycle domestique reste cependant à évaluer.

### iii) Fièvres récurrentes tropicales

Les bactéries du genre *Borrelia* sont principalement connues pour leur implication dans la borréliose de Lyme, maladie transmise par les tiques dures du genre *Ixodes* (32). Néanmoins, d'autres *Borrelia* peuvent être transmises par des poux et des tiques du genre *Ornithodoros*. Les *Borrelia* associées aux *Ornithodoros* sont responsables des fièvres récurrentes tropicales et il existe de nombreuses combinaisons tiques/bactéries dont certaines sont présentées dans la carte de la **FIGURE 9** (62). Les fièvres récurrentes tropicales sont des zoonoses sous-diagnostiquées sur le continent africain en raison des symptômes peu spécifiques de la maladie et de la priorité donnée à la détection des autres maladies vectorielles, en particulier le paludisme (63).

Bien que les patients n'en soient pas toujours conscients, une lésion peut se développer sur le site de morsure de la tique. Les premiers symptômes (fièvre, douleurs, tremblements, fatigue, éruption cutanée...) se déclarent dans les deux

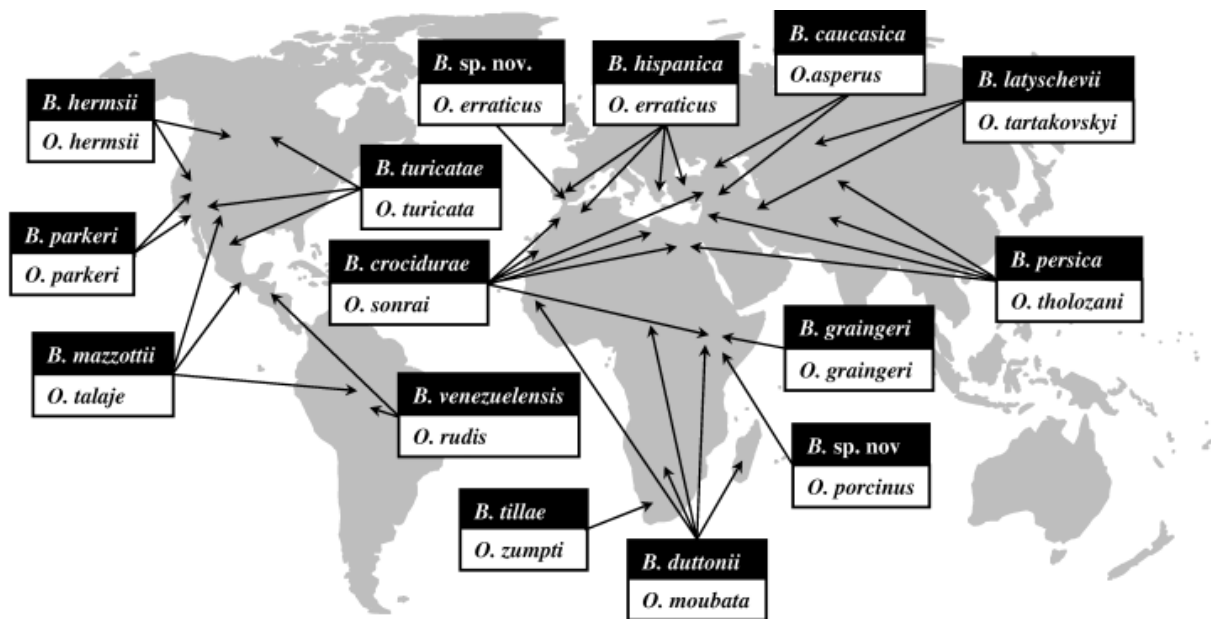


FIGURE 9 : Carte de distribution des agents de fièvres récurrentes tropicales et leurs vecteurs *Ornithodoros* respectifs. Rebaudet *et al.* 2006 (62).

semaines suivant la morsure (29,64). Le taux de rechute peut être assez important sans traitement approprié et la transmission de la mère à l'enfant donne des formes graves chez l'enfant. En présence d'une prise en charge adaptée, le taux de mortalité est inférieur à 5%.

Plus d'une vingtaine d'espèces de *Borrelia* ont été identifiées comme pouvant être associées aux fièvres récurrentes tropicales chacune avec son propre vecteur *Ornithodoros* (65). Cette maladie représente principalement un problème en Afrique subsaharienne où les populations peuvent facilement être mises en contact avec des *Ornithodoros* (63). Les cas relevés en Amérique du nord et en Eurasie sont plus sporadiques et accidentels.

Comme pour les *Borrelia burgdorferi* associées à la maladie de Lyme, les *Borrelia* responsables de fièvres récurrentes ont besoin de passer par un arthropode hématophage pour leur cycle de transmission. De nombreuses espèces d'hôtes peuvent être porteuses des bactéries, notamment des rongeurs et des oiseaux. Etant donné la longévité des *Ornithodoros*, ces tiques ont souvent tendance à constituer un réservoir pour la maladie même en l'absence de réservoir vertébré (66). Il y a transmission trans-stadiale des *Borrelia* chez les tiques. La transmission trans-ovarienne est souvent espèce-dépendante et peut être quasi systématique (*Borrelia turica* chez *Ornithodoros turica*) faisant de la tique un excellent réservoir, ou, à l'opposé, quasiment impossible (comme c'est le cas pour *B. hermsii* chez *O. hermsii*).



Lors de la contamination des tiques par les *Borrelia*, les bactéries se répandent à travers le tube digestif, puis dans les semaines qui suivent, à travers les tubes de Malpighi, les glandes salivaires, les ovaires et les glandes coxales (62,66). La contamination des tiques s'effectue lors du repas sanguin sur un hôte infecté ou par contact avec du liquide coxal infecté.

Dans tous les cas, l'importance du couple *Borrelia/Ornithodoros* dans l'apparition de foyers de fièvre récurrente chez l'Homme dépend de nombreux paramètres écologiques, notamment, la taille des populations de tiques, leurs hôtes vertébrés privilégiés et la possibilité de contacts avec l'Homme.

#### iv) Autres pathogènes

Concernant les pathogènes bactériens, les spirochetes associés aux fièvres récurrentes tropicales ont déjà été mentionnés. Cependant, d'autres spirochètes peuvent être transmis par les *Ornithodoros*. Ainsi, aux Etats-Unis, la tique *Ornithodoros coriaceus* est responsable de la transmission d'une delta-proteobacterium responsable de l'Epizootic bovine abortion (EBA) (67).

De manière plus accidentelle, les *Ornithodoros* peuvent être associées à la transmission de rickettsioses, de mycoplasmes, de staphylocoques ou de salmonelles (29,32). Lors de l'analyse des microorganismes présents dans une tique, il sera toujours essentiel de rester prudent quant au rôle des pathogènes supposés, certains d'entre eux pouvant en effet faire partie du microbiote symbiotique de la tique et avoir perdu leur pouvoir pathogène (68).

Pour les virus, en plus du virus de la peste porcine africaine, certaines espèces (notamment *Ornithodoros moubata*) peuvent porter le virus du Nil occidental dont les principaux vecteurs sont les moustiques du genre *Culex*. Contrairement aux tiques du genre *Ixodes*, les *Ornithodoros* sont capables d'être infectées par le virus du Nil occidental, de maintenir ce virus entre plusieurs stades de mues et de métamorphoses et même de s'infecter par « co-feeding » lors du repas sanguin. La transmission trans-ovarienne n'a en revanche pas pu être démontrée (69). S'il est peu probable que les *Ornithodoros* jouent un rôle important dans la transmission de ce virus, elles peuvent néanmoins constituer un réservoir (69,70).

De nombreux autres virus peuvent être portés et transmis par les *Ornithodoros*. Il s'agit surtout de cas spécifiques à la faune sauvage comme avec le virus de Meaban, le virus de Soldado et autres virus assimilés qui sont des virus des oiseaux marins. Ces virus se retrouvent chez les tiques *Ornithodoros maritimus* spécifiques des nids d'oiseaux marins (71,72).

Concernant les protozoaires, aucun cas de vectorisation par des *Ornithodoros* n'a été mis en évidence. Des données d'infections expérimentales suggèrent que la tique *Ornithodoros moubata* élimine les *Babesia* avec lesquelles elle pourrait entrer en contact au cours du repas sanguin (73). La détection de *Theileria* est parfois avérée comme avec *Theileria ovis* chez la tique *Ornithodoros lahorensis* en Chine, ce qui suggère qu'une transmission du parasite serait possible (74). Néanmoins ces éléments demeurent extrêmement marginaux et les *Ornithodoros* ne sont pas considérées comme étant vectrices de protozoaires pathogènes.

## E/ Conséquences pour l'étude du modèle *Ornithodoros moubata*

Dans la partie expérimentale présentée en **PARTIE III** de ce manuscrit, je m'intéresserai à la tique molle *Ornithodoros moubata* qui fait partie des *Ornithodoros* afrotropicales. Afin de mieux comprendre les contraintes de ce modèle, cette partie présentera très sommairement deux étapes clés de l'utilisation d'*Ornithodoros* en recherche : la capture dans le milieu et l'élevage en conditions contrôlées.

### i) Collecte des tiques dans le milieu

Comme mentionné précédemment, les *Ornithodoros* sont des tiques endophiles qu'on retrouve souvent dans un environnement favorable, isolé du milieu extérieur. Dans le cas des *Ornithodoros* afrotropicales, ce milieu correspond aux terriers de phacochères qui constituent l'un des principaux hôtes vertébrés de ces tiques. La collecte des *Ornithodoros* passe par l'inspection de terriers de phacochères dans les zones géographiques propices pour les tiques.

Plusieurs méthodes peuvent alors être utilisées. La première est l'inspection manuelle du terrier, dont le sable et les parois sont excavés à la pelle et étalés sur des bâches pour repérer les tiques à l'œil nu. Le processus n'est pas destructeur pour le terrier mais provoque une perturbation pour l'hôte qui mène probablement à l'abandon temporaire du terrier. Le succès de la collecte est souvent zone-dépendant, voire terrier-dépendant, sans que des paramètres précis associés à la présence ou à l'absence de tiques n'aient pu être mis en évidence. Une autre méthode consiste à disposer des pièges à CO<sub>2</sub> dans les terriers de phacochères pour attirer et collecter des tiques. Cependant, cette méthode peut être complexe à mettre en œuvre sur le terrain (disponibilité et stockage de la glace carbonique) et a une efficacité limitée pour le piégeage de tiques du genre *Ornithodoros*. Le piégeage peut également être réalisé dans des porcheries ou tout lieu susceptible de contenir les tiques recherchées.

## ii) Elevage des tiques

L'élevage et la conservation des tiques du genre *Ornithodoros* se font en étuve en conditions contrôlées dans un insectarium. La température est fixée (environ 25°C), l'humidité élevée (au moins 75%, souvent 85%) et la luminosité maintenue à 0% dans l'étuve. Les tiques peuvent être conservées pendant plusieurs années à différents stades de développement, principalement des stades nymphaux.

Des repas sanguins, ou gorgements, sont effectués afin de maintenir les populations et lorsque des expériences le nécessitent. Le gorgement s'effectue sur des périodes de trois heures, à partir de sang de vache prélevé en tube hépariné, soit le jour même, soit congelé et conservé à -20°C. Le gorgement est artificiel sur membrane de parafilm. L'infection artificielle des tiques par des agents pathogènes d'intérêt est possible *via* le gorgement artificiel en manipulant les tiques dans un laboratoire adapté au niveau de risque de l'agent pathogène étudié (laboratoire P2, P3 ou P4).

## Partie II : Utilisation des antibiotiques pour l'étude du microbiote chez les arthropodes hématophages d'intérêt vétérinaire

Comme mentionné dans la partie précédente, de nombreux facteurs liés au repas sanguin et à l'environnement, biotique ou abiotique, viennent influencer la biologie des tiques molles et l'épidémiologie des maladies associées. Un facteur assez peu étudié est le microbiote des tiques, c'est-à-dire l'ensemble des organismes microbiens qui sont présents dans la tique. En effet, outre les agents pathogènes, les tiques abritent d'autres micro-organismes, impliqués dans le développement et la physiologie des tiques (14,40) et potentiellement dans l'acquisition et la transmission des agents pathogènes (13,43,75).

Le microbiote des arthropodes a été fortement décrit ces dernières années par le biais des nouvelles méthodes de séquençage. Néanmoins, le rôle de ce microbiote pour l'arthropode reste souvent difficile à établir. Pour pallier ce biais, l'utilisation de traitements antibiotiques constitue un outil permettant de modifier le microbiote des arthropodes afin de collecter des indices sur ses rôles potentiels, soit en étudiant les conséquences de son élimination, soit en repeuplant des organismes exempts de germes (germ-free) avec des espèces microbiennes connues (76,77).

### A/ Contexte et objectifs de l'étude

Dans cette partie, je présenterai un aperçu des données publiées dans la littérature concernant l'étude du rôle du microbiote chez les arthropodes hématophages d'intérêt médical ou vétérinaire. Cette partie se focalisera uniquement sur des études utilisant un traitement antibiotique comme outil pour évaluer le rôle du microbiote.

Le but est d'évaluer le rôle du microbiote dans les étapes de développement de l'arthropode, pour son métabolisme, sa fonction de reproduction et plus globalement, sa capacité vectorielle. En plus de ces éléments, la pertinence des méthodes utilisées sera également évaluée.

Le rôle de plusieurs espèces bactériennes sera étudié ici. Les **TABLEAU 1** et **TABLEAU 2** référencent les principales espèces mentionnées. Les espèces microbiennes peuvent être séparées en plusieurs catégories comme expliqué en **PARTIE I**, selon le type d'interaction qu'elles entretiennent avec l'arthropode : les symbiotes primaires (intracellulaires, transmis verticalement, nécessaires),

	<i>Asaia</i>	<i>Arsenophonus</i>	<i>Bartonella</i>	<i>Cardinium</i>	<i>Coxiella</i>	<i>Francisella</i>	<i>Lariskella</i>	<i>Midichloria</i>	<i>Rickettsia</i>	<i>Riesia</i>	<i>Sodalis</i>	<i>Spiroplasma</i>	<i>Wigglesworthia</i>	<i>Wolbachia</i>
Moustiques <sup>1</sup>	Vert clair								Vert			Vert		Vert clair
Phlébotomes <sup>1</sup>					Orange				Vert			Vert		Vert
Glossines <sup>1</sup>								Orange			Vert		Vert	Bleu
Puces <sup>2</sup>			Vert	Vert								Orange		Vert
Sangsues <sup>3</sup>								Vert	Vert					Vert
Punaises de lit <sup>4</sup>		Vert												Vert
Punaises <sup>4</sup>		Vert			Orange			Orange	Vert					Vert
Tiques <sup>5</sup>		Bleu		Orange	Vert	Vert	Orange	Bleu	Vert			Bleu		Bleu

**TABEAU 1 : Principaux genres bactériens symbiotes primaires d'arthropodes hématophages.**

	<i>Acinetobacter</i>	<i>Bacterioides</i>	<i>Brucella</i>	<i>Chryseobacter</i>	<i>Elizabethkingia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>Leifsonia</i>	<i>Ochrobactrum</i>	<i>Pantoea</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Rahnella</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Serratia</i>	<i>Staphylococcus</i>
Moustiques <sup>1</sup>	Bleu	Bleu		Bleu	Bleu	Bleu	Bleu			Bleu	Bleu			Bleu	
Phlébotomes <sup>1</sup>			Bleu					Bleu	Vert			Vert		Bleu	
Glossines <sup>1</sup>	Bleu					Bleu				Bleu	Bleu			Bleu	
Puces <sup>2</sup>	Orange										Bleu				
Sangsues <sup>3</sup>	Bleu													Bleu	
Punaises de lit <sup>4</sup>			Orange											Bleu	Bleu
Punaises <sup>4</sup>											Bleu		Vert		
Tiques <sup>5</sup>		Orange	Orange												Orange

**TABEAU 2 : Principaux genres bactériens symbiotes secondaires d'arthropodes hématophages.**

Adapté de Jiménez-Cortés *et al.* (6). Dans les lignes, le nom commun des principaux groupes d'arthropodes hématophages étudiés ici. Ordre des <sup>1</sup> *Diptera*, <sup>2</sup> *Siphonaptera*, <sup>3</sup> *Phthiraptera*, <sup>4</sup> *Hemiptera* et <sup>5</sup> *Ixodida*. Les moustiques et les phlébotomes sont les seuls arthropodes hématophages non stricts présentés ici. En colonne, les genres bactériens étudiés. Les couleurs indiquent la présence ou l'absence de chaque genre bactérien chez l'arthropode. Le vert indique une présence systématique chez la plupart des espèces du groupe. Le bleu indique une présence qui est souvent rapportée mais qui peut être facultative ou qui peut varier d'une espèce à l'autre ou d'un individu à l'autre. Le orange indique une présence rarement rapportée, soit chez une seule espèce ou uniquement sous des conditions particulières. Le vert clair indique un cas particulier de compétition entre *Asaia sp.* et *Wolbachia sp.*, ces deux genres ne pouvant pas être retrouvés simultanément dans l'arthropode mais l'un des deux étant systématiquement présent.

les symbiotes secondaires (souvent extracellulaires, mutualistes ou commensaux), les espèces environnementales et les espèces pathogènes (6).

Dans cette partie, les arthropodes hématophages non stricts (principalement les moustiques) et stricts (principalement les tiques) seront étudiés séparément et comparés. L'ensemble des données collectées ici permettront par la suite d'adapter les protocoles à utiliser pour l'étude du microbiote chez la tique *Ornithodoros moubata*.

## B/ Conséquences d'un traitement antibiotique chez les arthropodes hématophages non-stricts

Les arthropodes hématophages non stricts que nous allons évoquer ici incluent les diptères de la famille des *Culicidae* (les moustiques) et de la sous famille des *Phlebotominae* (les phlébotomes). Ces insectes sont assez proches d'un point de vue phylogénétique et partagent des similarités concernant leur écologie, notamment dans l'organisation de leur cycle parasitaire et l'importance du repas sanguin pour la ponte (78). Les espèces de ces groupes sont anautogènes, signifiant que la femelle doit prendre un repas particulier (ici un repas de sang) pour permettre le développement des œufs et la ponte (78). Ces caractéristiques communes se perçoivent aussi au niveau du microbiote avec des populations microbiennes similaires. Tous ces éléments suggèrent que des résultats obtenus chez un de ces arthropodes pourraient donner un aperçu de la situation chez les autres (6).

Etant donné le haut taux d'incidence des maladies vectorisées par les moustiques (2,3), le microbiote des *Culicidae* a été étudié de manière beaucoup plus détaillée que pour aucun autre arthropode hématophage. Dans cette partie, je me concentrerai sur les principaux traits d'histoire de vie qui se retrouvent modifiés après une dysbiose par traitement antibiotique chez des arthropodes hématophages non-stricts.

### i) Modification de la fitness reproductive

Les moustiques femelles ayant besoin d'un repas sanguin pour initier la ponte, il peut être attendu que le microbiote ait un rôle à jouer juste après le repas sanguin. Cependant, peu d'études se concentrent sur la fitness reproductive chez les moustiques adultes. Une étude (79) rapporte que l'utilisation d'un cocktail de pénicilline et de streptomycine dans le repas sanguin augmente significativement le pourcentage de femelles déposant des œufs et le nombre d'œufs pondus (augmentation de 32% et 53% respectivement) chez des moustiques *Anopheles* infectés ou non par *Plasmodium* (l'agent pathogène

responsable du paludisme). Dans cette étude, les auteurs ont aussi pu relier ce phénomène à une déplétion complète du microbiote à l'exception de quelques sous espèces du genre *Acetobacteraceae*, notamment *Asaia sp.* (79). En particulier, les populations de *Serratia sp.* ont été complètement éliminées alors qu'*Asaia sp.* a vu sa population augmenter après traitement. Ce résultat suggère que 1) *Asaia sp.* soutient la fonction de reproduction chez cette espèce de moustique et/ou *Serratia sp.* inhibe cette même fonction et 2) *Plasmodium sp.* améliore la fécondité et est positivement sélectionné après la réduction de la compétition avec le microbiote lors du traitement antibiotique. Etant donné que la fécondité est un paramètre de la capacité vectorielle, ces résultats suggèrent que la présence d'antibiotique dans le repas sanguin augmente la propagation de *Plasmodium*.

## ii) Effets sur le développement et la survie

De nombreuses études incorporent des traitements antibiotiques dans le milieu aquatique des larves de moustiques pour en étudier les effets sur le développement (80–82). Dans cette situation, les auteurs rapportent que la transformation des larves en pupes est altérée (80–82). Wang *et al.* observent même que des larves élevées dans de l'eau contenant de l'ampicilline sont toutes incapables de se métamorphoser (contre 11% des larves qui y parviennent dans un environnement témoin) (80). Les concentrations en bactéries dans des eaux traitées de cette manière ont été suivies par pyroséquençage, montrant une perte d'un facteur 14 de la concentration en bactéries ainsi qu'une perte de diversité (81). L'environnement aquatique semble ainsi être une source cruciale en bactéries pour les stades précoces de développement chez les moustiques. Un traitement antibiotique large spectre empêche alors les larves d'acquérir le microbiote nécessaire pour leur développement.

La modification ou l'élimination du microbiote chez les arthropodes est aussi souvent rapportée comme étant source de mortalité (83). Cependant chez les moustiques, la situation est complexe. Guégan *et al.* (84) rapportent dans leur étude les effets d'un cocktail de gentamycine, de streptomycine et d'ampicilline sur des femelles *Aedes albopictus*. Aucune modification de la survie n'a été rapportée par rapport aux témoins sur 30 jours de surveillance. Pourtant, dans cette étude, il a été confirmé que le microbiote a été fortement perturbé par le traitement avec une chute de la diversité et une modification des espèces majoritaires. La plupart des symbiotes secondaires (en particulier les genres *Elizabethkingia* et *Chryseobacterium*) ont vu leurs populations s'effondrer, tandis que la plupart des populations de *Wolbachia* ont proliféré. De plus,

Gendrin *et al.* (79) ont également montré que les anophèles infectés par *Plasmodium* avaient un taux de survie augmenté après traitement antibiotique (75% contre 50% chez les moustiques témoins 10 jours après traitement). Là aussi les observations étaient liées à un changement de l'organisation du microbiote (en faveur de *Asaia sp.* dans ce cas)

Tous ces résultats suggèrent que les symbiotes primaires des moustiques comme *Wolbachia* et *Asaia* (**TABLEAU 1**) survivent au traitement antibiotique et voient même leurs populations augmenter en lien avec une forte diminution de la compétition. L'espérance de vie des moustiques reste donc la même, voire augmente en présence d'antibiotique.

Il est intéressant de noter que la relation entre les populations de *Wolbachia* et d'*Asaia* est influencée par le traitement antibiotique. La transmission horizontale de *Wolbachia* chez les anophèles est augmentée et la transmission verticale de ce symbiote est également facilitée après traitement antibiotique (85). Les anophèles hébergent habituellement des *Asaia* dont la présence est incompatible avec celle de *Wolbachia* (86). Un traitement antibiotique à base de gentamycine ou de kanamycine réduit les populations d'*Asaia*, permettant alors une colonisation du microbiote par *Wolbachia*. Il est donc possible que le traitement antibiotique modifie la fitness de l'arthropode en permettant une modification des endosymbiotes primaires présents (d'*Asaia* vers *Wolbachia* dans cet exemple).

Finalement, les endosymbiotes primaires façonnent la survie des moustiques et des études les ciblant spécifiquement pourraient permettre de déterminer jusqu'à quel point.

### iii) Conséquences sur la capacité vectorielle

Selon les résultats présentés précédemment, une dysbiose du microbiote chez les moustiques peut être associée à une augmentation de la survie et de la fertilité, deux paramètres de la capacité vectorielle. De plus, si nous reprenons l'étude de Gendrin *et al.* (79), il apparaît que les moustiques nourris sur des souris infectées par *Plasmodium berghei* (agent de la malaria chez les rongeurs) sont plus susceptibles d'être infectés lorsqu'ils ont été soumis à un traitement antibiotique. La prévalence de l'infection augmente alors de 138% et le nombre d'oocystes de *Plasmodium* retrouvés chez les moustiques infectés augmente de 62%. Ces résultats sont à corréliser avec une perte du microbiote intestinal suite au traitement. De plus, les observations précédemment réalisées sur des moustiques exempts de germes (germ-free) ont aussi démontré une augmentation de la sensibilité à l'infection par *Plasmodium* (87). Plus récemment, Kalappa *et al.* (88) ont confirmé ces résultats. Après perturbation



du microbiote intestinal par ajout d'antibiotique dans le repas sucré chez des anophèles, les auteurs ont observé une augmentation de la sensibilité à *Plasmodium berghei* ainsi qu'une augmentation de l'intensité de l'infection. Les espèces du microbiote intestinal des genres *Enterobacter* et *Pseudomonas* ont été notamment mises en avant comme permettant de limiter l'infection par *Plasmodium* (88,89). Le microbiote intestinal régule positivement l'expression de facteurs anti-*Plasmodium*, limitant ainsi l'infection (87). Des résultats similaires ont été obtenus en utilisant certaines souches de *Wolbachia* chez les moustiques *Aedes aegypti*, la présence de *Wolbachia* limitant l'infection des moustiques par le virus de la dengue, du chikungunya et le virus Zika (90,91).

Bien au contraire, Wu *et al.* (92) apportent un exemple dans lequel le microbiote intestinal favorise la compétence vectorielle de l'arthropode. Ces auteurs rapportent une diminution d'un facteur 10 de l'infection de moustiques *Aedes* par le virus de la dengue après traitement antibiotique comparé au groupe témoin. La supplémentation des moustiques traités aux antibiotiques avec la bactérie intestinale *Serratia marcescens* a également été testée et restaure alors la susceptibilité au virus de la dengue.

D'autres exemples peuvent se trouver chez les phlébotomes qui sont notamment vecteurs des parasites du genre *Leishmania*. Plusieurs études se sont intéressées à l'effet d'un traitement antibiotique sur des phlébotomes des genres *Phlebotomus* et *Lutzomia* afin de mieux comprendre le rôle du microbiote dans la compétence vectorielle de ces arthropodes. Ainsi, il a été montré que le traitement antibiotique est associé à une diminution de l'infestation des phlébotomes par *Leishmania* (93,94). Cet effet était compensé en repeuplant les phlébotomes avec des bactéries des genres *Leifsonia*, *Rahnella*, *Enterobacter* ou *Serratia* (93). *Leishmania* est un agent pathogène intracellulaire dépendant des neutrophiles pour la phagocytose et pour son cycle infectieux. Dey *et al.* (95) ont observé que le microbiote des phlébotomes était nécessaire pour initier le recrutement neutrophilique au niveau du site de piqûre. Ainsi, le traitement antibiotique, en appauvrissant le microbiote intestinal du phlébotome, altère les stades précoces de la transmission de *Leishmania*. Cette particularité du microbiote intestinal d'augmenter la réponse immunitaire au niveau du site de piqûre pourrait s'avérer être essentielle pour de nombreux agents pathogènes dépendants du système immunitaire de l'hôte.

Si nous résumons, la composition du microbiote des phlébotomes et des moustiques modifie leur capacité vectorielle. Le microbiote intestinal assure un rôle de barrière contre les agents opportunistes (*Plasmodium*). Cependant, le cycle infectieux de certains agents pathogènes peut aussi être boosté par des interactions mutualistes avec le microbiote (*Leishmania*, virus de la dengue).

## C/ Conséquences d'un traitement antibiotique chez les arthropodes hématophages stricts

Les arthropodes hématophages stricts incluent des genres phylogénétiquement éloignés possédant des microbiotes parfois très différents (**TABLEAU 1** et **TABLEAU 2**). Etant donné qu'ils dépendent entièrement du repas sanguin pour leur apport énergétique, une particularité commune de ces arthropodes est le déficit en nutriments essentiels. Le microbiote joue alors un rôle primordial en apportant ces nutriments à l'arthropode, en particulier la vitamine B (40,96).

Dans cette partie, nous allons étudier les effets d'un traitement antibiotique chez les arthropodes hématophages stricts tout en comparant les résultats avec ceux obtenus dans la partie précédente. Les données de la littérature se concentrent principalement sur les tiques dures *Ixodida* avec quelques études orientées vers d'autres groupes.

### i) Diminution de la fitness reproductive

Contrairement aux moustiques, le rôle du microbiote pour la reproduction a été étudié à de nombreuses reprises chez les tiques. Une dysbiose de ce microbiote par traitement antibiotique provoque alors un délai et une augmentation de la durée de la ponte (17–19,97), une diminution du nombre d'œufs déposés (16,18), une augmentation du temps d'incubation des œufs (17), une diminution du taux d'éclosion (16,17,19) et une augmentation de la mortalité chez les larves (19).

Ces résultats ont notamment été mis en relation avec la perte des populations de *Coxiella* like-endosymbionts (CLE) et *Rickettsia* (19). Les études les plus récentes ont ciblé spécifiquement ces groupes bactériens et ont observé que l'élimination des CLE par l'utilisation de kanamycine résultait en une baisse de la capacité reproductive (17), tandis que l'élimination de *Rickettsia* via la ciprofloxacine n'avait aucune conséquence sur la reproduction (97).

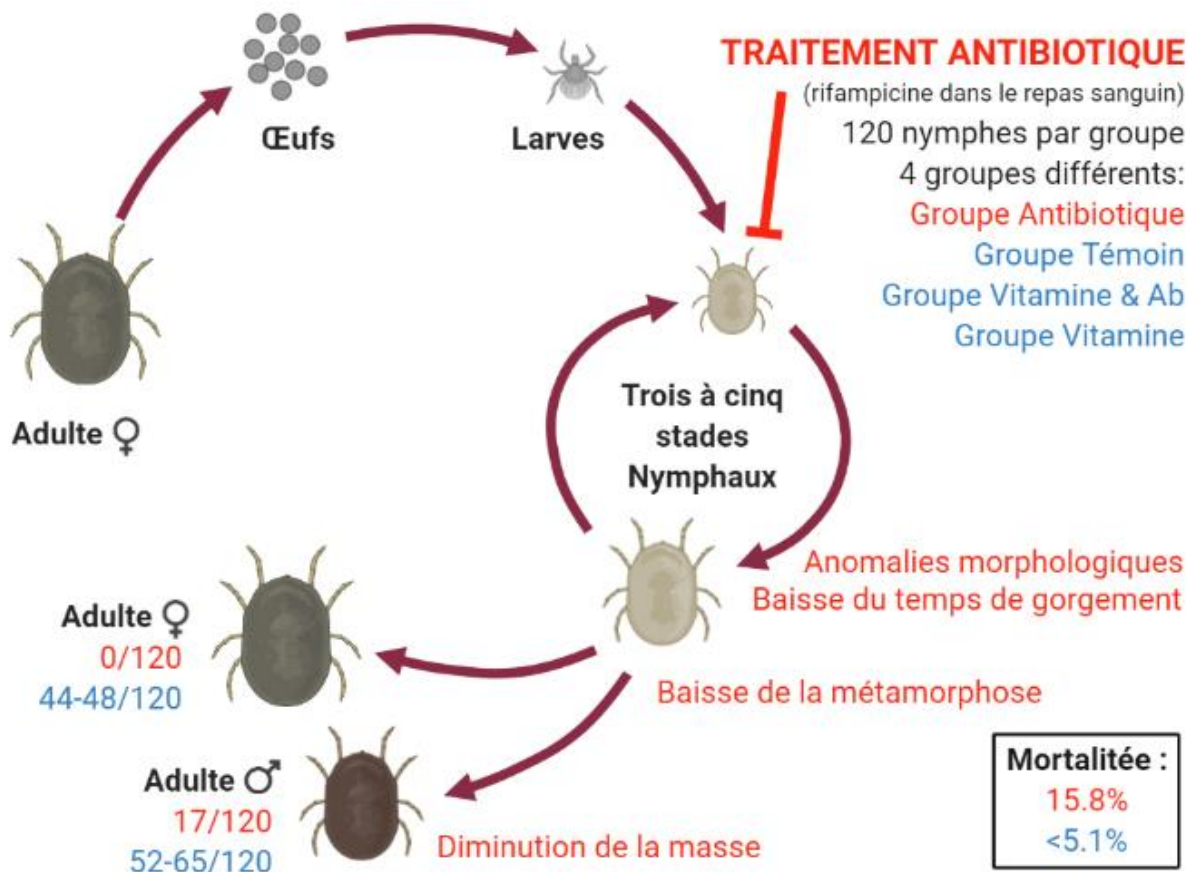
Il est intéressant de noter que l'espèce *Ixodes pacificus* semble constituer une exception dans ce schéma, aucune modification des paramètres liés à la reproduction n'ayant été notée chez cette espèce après différents traitements antibiotiques (97). Après analyse, il apparaît que le microbiote d'*Ixodes pacificus* ne contient pas de CLE (98), suggérant une faible influence du microbiote de cette tique sur la reproduction.

Au vu de ces études, il semble que les endosymbiotes primaires de plusieurs espèces de tiques, et notamment les *Coxiella* like-endosymbionts, influencent la fonction de reproduction.

Les effets du microbiote sur la reproduction chez le mâle ne sont que peu étudiés chez les arthropodes hématophages, à l'exception de quelques études sur la mouche tsétsé *Glossina morsitans*. Des mouches exemptes de germes (germ-free) ont été obtenues par traitement antibiotique des mères puis ont été utilisées dans des études de transcriptomique (99). Ces expériences montrent qu'en l'absence du microbiote, l'expression des gènes liés à la reproduction est diminuée dans les glandes accessoires des mâles (notamment impliquées dans la production du liquide sérial) et augmentée dans les centres de la spermatogénèse. Ces résultats suggèrent que la capacité reproductive chez le mâle pourrait effectivement être influencée par le microbiote mais les résultats doivent être confirmés par une évaluation de la fonction de reproduction à l'échelle macroscopique. Toujours dans la même espèce, Engl *et al.* (100) ont noté que le traitement antibiotique affectait les hydrocarbures cuticulaires chez les mâles et les femelles. Les hydrocarbures cuticulaires ont un rôle de protection chez les arthropodes mais participent aussi à la communication entre individus. Lors d'études sur le choix d'un partenaire sexuel, les auteurs ont observé que 71% des mâles de mouches tsétsé choisissent préférentiellement des femelles qui n'ont pas reçu de traitement de tétracycline. Ces effets viennent confirmer l'importance du microbiote pour la reproduction mais plus d'études sont nécessaires chez les mâles et sur d'autres espèces d'arthropodes hématophages stricts.

ii) Altération du métabolisme, des fonctions de nutrition, de la croissance et de la survie

Une baisse de la masse moyenne des tiques a été rapportée après traitements antibiotiques dans les études se concentrant sur la reproduction (19) suggérant un rôle métabolique du microbiote. Duron *et al.* (14) ont examiné plus en détail ce rôle métabolique chez la tique *Ornithodoros moubata*. Les auteurs se sont concentrés sur le processus de synthèse de la vitamine B qui est connu pour être indispensable chez les arthropodes hématophages stricts (15). En utilisant de la rifampicine, les auteurs ont éliminé les endosymbiotes du genre *Francisella* et ont suivi la croissance des tiques. Les résultats (**FIGURE 10**) indiquent une forte altération du développement et de la croissance chez les tiques ainsi traitées. Les anomalies observées sont réversibles en cas de complémentation avec de la vitamine B, confirmant ainsi le rôle des *Francisella* like-endosymbionts (FLE) pour la production de la vitamine B chez *O. moubata*.



**FIGURE 10 : Effet d'un traitement antibiotique sur le développement et la survie de la tique *Ornithodoros moubata*.** Adapté de Duron *et al.* (14). Cycle de vie de la tique *O. moubata*. Le stade traité aux antibiotiques est indiqué. Les résultats sont présentés *via* le texte de couleur ; en rouge pour le groupe traité aux antibiotiques et non complémenté en vitamines ; en bleu pour les trois autres groupes (résultats non significativement différents entre ces trois groupes). La position du texte indique quel stade est affecté. La mortalité sur l'ensemble de l'expérience est également indiquée. Figure réalisée en utilisant BioRender.com.

Ces résultats viennent compléter une étude précédemment menée par Guizzo *et al.* (16) dans laquelle l'utilisation de tétracycline sur des tiques *Rhipicephalus microplus* réduisait les populations de *Coxiella* like-endosymbionts (CLE) au niveau des œufs et des larves. Cette perte du symbiote CLE empêchait alors complètement les nymphes obtenues de se métamorphoser en adultes. L'hypothèse principale avancée étant alors que les CLE assument le rôle de synthèse de vitamine B chez cette tique.

Toutes ces expériences ont aussi permis de mettre en lumière la transmission maternelle d'une partie du microbiote. Néanmoins, l'origine environnementale d'une partie du microbiote comme observé chez les moustiques n'a pas encore été étudiée chez les premiers stades de développement des tiques, ne permettant pas de répondre complètement aux questions sur l'origine du microbiote.

### iii) Modification de la sensibilité à des agents pathogènes

Concernant ce dernier point, une poignée d'études ont été réalisées chez les tiques, à commencer par des études sur la transmission de *Borrelia burgdorferi*, l'agent responsable de la maladie de Lyme. Concernant cette espèce, Narasimhan *et al.* (101) ont observé que le fait de perturber le microbiote avec un traitement antibiotique réduisait la colonisation des tiques par les *Borrelia*. Ce phénomène a été rattaché à une altération de l'intégrité de l'épithélium digestif, un paramètre clé de la contamination de la tique par *Borrelia*.

De manière similaire, l'acquisition de *Francisella novicida* (modèle pour l'étude de *Francisella tularensis*, l'agent de la tularémie) semble être influencé par le microbiote de la tique et en particulier par les populations de *Francisella* like-endosymbionts (FLE) (102). Ces deux espèces bactériennes proches semblent pouvoir mettre en place une relation mutualiste dont le mécanisme demeure inconnu mais qui facilite la contamination de l'arthropode.

Au contraire, l'infection des tiques par des bactéries *Anaplasma marginale*, responsables de l'anaplasmose, semble être réduite après traitement antibiotique et réensemencement par *Rickettsia bellii*. *Rickettsia* et *Anaplasma* semblent entrer en compétition l'une avec l'autre, venant limiter la contamination de la tique par *Anaplasma* (102).

Au final, et par comparaison avec ce qui a été fait chez les moustiques et les phlébotomes, peu d'études utilisent les antibiotiques pour étudier le rôle du microbiote dans la capacité vectorielle des tiques. De plus, toutes se concentrent sur des bactéries alors que les tiques peuvent aussi transmettre des virus responsables de maladies graves voire mortelles comme la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (103) ou l'encéphalite à tiques (104). Ceci est lié à l'incidence moindre des maladies à tiques chez l'homme comparé aux moustiques, la plupart des agents pathogènes transmis étant la source de maladies animales, émergentes ou géographiquement localisées.

En conclusion, la perturbation du microbiote par traitement antibiotique a des conséquences fortes sur la physiologie des arthropodes hématophages stricts. Le nombre d'études concernant des espèces autres que les tiques demeure très faible et, par conséquent, le rôle du microbiote chez les puces, les sangsues et les punaises demeure assez peu connu. Plus d'études seraient également nécessaires concernant l'influence du microbiote sur la capacité vectorielle des arthropodes hématophages stricts.

## D/ Réflexion sur les protocoles utilisant des antibiotiques pour l'étude du microbiote

### i) Effet lié à la voie d'administration

Si nous reprenons les différentes études mentionnées précédemment, il apparaît que le protocole utilisé pour administrer une molécule antibiotique est un paramètre clé de l'étude.

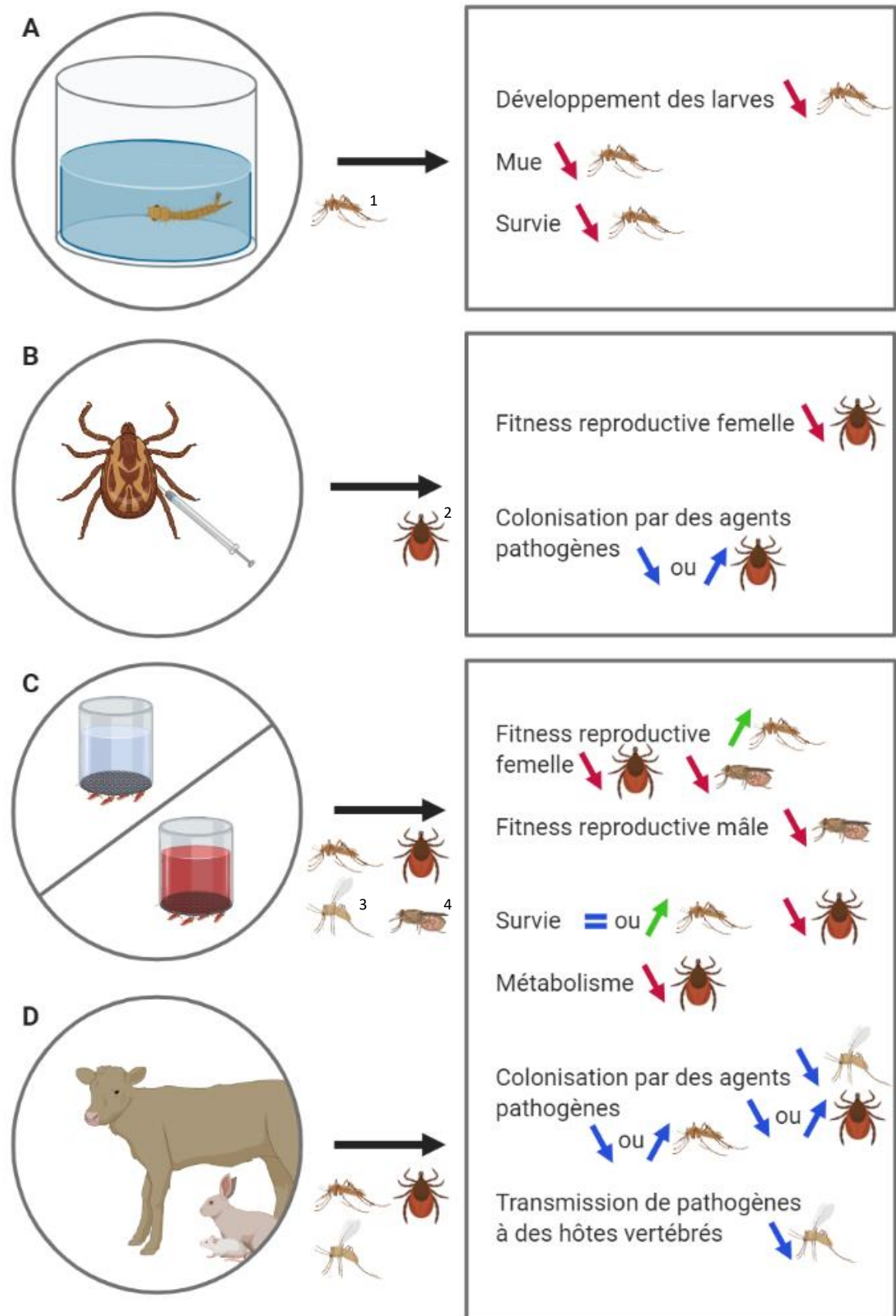
Trois voies d'administration des antibiotiques peuvent être utilisées (**FIGURE 11**). Tout d'abord, il est possible de traiter directement l'environnement de l'arthropode (80), ce qui permet d'évaluer l'origine du microbiote et son rôle chez les stades précoces de développement. Cela fonctionne particulièrement bien pour les espèces chez lesquelles les larves ont besoin d'un environnement aqueux pour se développer (moustiques). Des antibiotiques à large spectre peuvent alors être utilisés pour obtenir un environnement stérile et suivre les effets sur le développement larvaire. Cette méthode constitue également un excellent modèle pour tester l'effet de contaminants environnementaux (81).

L'injection directe de la molécule dans le corps de l'arthropode est également possible *via* des micro-aiguilles adaptées (105). Cette méthode n'est utilisable que pour les arthropodes pouvant être facilement manipulés sans risque de les blesser (principalement les tiques dures, parfois les moustiques). Néanmoins, les effets associés au côté traumatique de cette manipulation ne peuvent pas être exclus (105).

Enfin, une administration par voie orale, mélangé au repas sanguin ou au repas sucré reste le protocole le plus simple à mettre en place. Cela peut être obtenu sur des systèmes de gorgements artificiels ou directement sur animaux vivants (veaux, souris, lapins). Cette méthode est idéale pour cibler le microbiote intestinal et pour simuler une contamination par le sang d'un hôte sous traitement antibiotique (79).

### ii) Effet lié à la molécule utilisée

Un autre paramètre essentiel dans le protocole de traitement est le choix de la molécule antibiotique. De ce côté, les chercheurs disposent d'un large panel de molécules (**TABLEAU 3**). Le spectre de l'antibiotique choisi va influencer les espèces affectées. Ainsi, lorsque l'on souhaite évaluer le microbiote dans son ensemble, une combinaison de molécules à large spectre va être utilisée. A l'opposé, plusieurs études comparatives ont identifié des molécules qui vont spécifiquement affecter certaines espèces microbiennes, comme par exemple



**FIGURE 11 : Effet de la modification du microbiote par traitement antibiotique sur les traits d’histoire de vie des arthropodes hématophages.** Sur la gauche, les différentes routes d’administration utilisées. **A.** Environnement. **B.** Injection. **C.** Repas sucré ou sanguin. **D.** Hôte vertébré. Sur la droite, conséquences pour l’arthropode. Les couleurs indiquent une baisse (rouge), une amélioration (vert) ou la non modification (bleu) de la fitness de l’arthropode. <sup>1</sup> moustiques, <sup>2</sup> tiques, <sup>3</sup> phlébotomes, <sup>4</sup> glossines. Figure réalisée en utilisant BioRender.com.

la kanamycine sur les bactéries du genre *Coxiella* (17). De plus l'action de l'antibiotique sur la cellule doit aussi être pris en compte et il faudra favoriser un antibiotique capable de passer la paroi cellulaire pour cibler un endosymbiote intracellulaire chez l'arthropode.

### iii) Limites et biais de l'utilisation des antibiotiques

L'une des problématiques clé à adresser avec les protocoles utilisant des antibiotiques est la possible toxicité de la molécule pour l'arthropode. Coon *et al.* (82) ont essayé de tester cet effet sur plusieurs molécules. Ils observent que la mortalité associée à l'utilisation de kanamycine, de tétracycline et de gentamycine serait plutôt due à la toxicité de la molécule plutôt qu'à la modification du microbiote lui-même.

Plus d'études sont nécessaires pour évaluer cette toxicité potentielle, en particulier pour les molécules les plus utilisées. Une façon de procéder serait d'élever des lignées d'arthropodes exempts de germes (germ-free). L'utilisation d'organismes exempts de germes permettrait de tester l'effet de la molécule indépendamment de celui du microbiote et donc de tester directement sa toxicité (106). Néanmoins, de telles lignées sont très difficiles à obtenir et à stabiliser, d'autant plus pour des espèces qui dépendent entièrement de leur microbiote pour l'apport de nutriments essentiels.

### iv) Conclusion et perspectives sur l'utilisation des antibiotiques pour l'étude du microbiote

Finalement, au vu de la littérature récente, il semble que l'utilisation d'un traitement antibiotique pour modifier le microbiote a permis de mettre en évidence le rôle des endosymbiotes primaires dans la reproduction, la croissance et le développement des arthropodes hématophages. De plus, il apparaît que les communautés microbiennes, et en particulier le microbiote intestinal, façonnent la capacité vectorielle des arthropodes en entrant en compétition ou en synergie avec les agents pathogènes potentiels.

Historiquement, le traitement antibiotique constituait le principal outil disponible pour étudier l'organisation du microbiote (76,77). Aujourd'hui, les nouvelles méthodes de séquençage continuent d'apporter de nouvelles données sur la composition des communautés microbiennes. Pour faire sens de cet afflux de données brutes, des méthodes qui permettent d'étudier les interactions vecteur-microbiote-pathogène demeurent indispensable, par exemple *via* des traitements antibiotiques (107,108).



Antibiotiques (spectre)	Cibles		Avantages et spécificités	Effets secondaires
	Groupe	Espèce		
Lincomycine <sup>1</sup> (étroit)	Moustique	<i>Culex</i> (larve) (81)	- Présence dans les eaux usées	NE <sup>8</sup>
Ciprofloxacine <sup>2</sup> (large)	Tique	<i>Rhipicephalus</i> (femelle) (17) <i>Ixodes</i> (femelle) (97)	- Élimine <i>Rickettsia</i> mais pas <i>Coxiella</i>	NE
	Moustique	<i>Culex</i> (larve) (81)	- Présence dans les eaux usées	NE
Oxytétracycline <sup>3</sup> (très large)	Tique	<i>Dermacentor</i> (adulte) (102,108)	- Utilisé en agriculture	NE
	Moustique	<i>Culex</i> (larve) (81)	- Présence dans les eaux usées	NE
Tétracycline <sup>3</sup> (très large)	Tique	<i>Amblyomma</i> (adulte) (19) <i>Rhipicephalus</i> (femelle) (16,17) <i>Haemaphysalis</i> (adulte) (18) <i>Ixodes</i> (femelle) (107)	- Très efficace pour éliminer le microbiote - Élimine les <i>Coxiella</i> et les <i>Rickettsia</i>	- Suspicion de toxicité pour la tique
	Moustique	<i>Aedes</i> et <i>Culex</i> (larve) (82)	- Fréquemment utilisé	- Mortalité élevée
	Glossine	<i>Glossina</i> (adulte) (99,100)		NE
Chloramphenicol <sup>4</sup> (très large)	Moustique	<i>Aedes</i> and <i>Culex</i> (larve) (82)	- Très efficace pour éliminer le microbiote - Pas de mortalité	NE
Gentamycine <sup>5</sup> (large)	Tique	<i>Ixodes</i> (adulte) (101)	- Élimination spécifique du microbiote	NE
	Moustique	<i>Aedes</i> and <i>Culex</i> (larve) (82) <i>Aedes</i> (adulte) (84)	intestinal	- Mortalité très élevée
Kanamycine <sup>5</sup> (large)	Tique	<i>Rhipicephalus</i> (femelle) (17)	- Élimine <i>Coxiella</i> mais pas <i>Rickettsia</i>	- Suspicion de toxicité
	Moustique	<i>Aedes</i> and <i>Culex</i> (larve) (82) <i>Anopheles</i> (adulte) (85)	- Très efficace pour éliminer les endosymbiotes	- Mortalité élevée pour les larves
Streptomycine <sup>5</sup> (large)	Moustique	<i>Aedes</i> and <i>Culex</i> (larve) (82) <i>Anopheles</i> (adulte) (85)	- Très efficace pour éliminer les endosymbiotes	- Mortalité modérée
Rifampicine <sup>6</sup> (large)	Tique	<i>Amblyomma</i> (adulte) (19) <i>Ornithodoros</i> (nymphe) (14)	- Très efficace pour éliminer le microbiote	- Protocole inhabituel (Témoin = méthanol)
Ampicilline <sup>7</sup> (large)	Tique	<i>Rhipicephalus</i> (femelle) (17) <i>Ixodes</i> (femelle) (97)	- Spécifique du microbiote intestinal	- Peu efficace
	Moustique	<i>Aedes</i> , <i>Culex</i> (larve) (80,82)	- Utilisé historiquement	
	Glossine	<i>Glossina</i> (adulte) (100)		NE
Penicilline <sup>7</sup> (étroit)	Moustique	<i>Aedes</i> and <i>Culex</i> (larve) (82)	- Pas de mortalité	NE

Penicilline <sup>7</sup> + Streptomycine <sup>5</sup>	Moustique	<i>Anopheles</i> (adulte) (79,87,88,92)	- Elimination totale du microbiote	NE
	Phlébotome	<i>Phlebotomus</i> (adulte) (93)	- Souvent utilisé	
Penicilline <sup>7</sup> + Gentamicine <sup>5</sup> + Clindamycine <sup>1</sup>	Phlébotome	<i>Lutzomia</i> (adulte) (94,95)	- Elimination totale du microbiote	NE
Ampicilline <sup>7</sup> + Gentamicine <sup>5</sup> + Streptomycine <sup>5</sup>	Moustique	<i>Aedes</i> (femelle) (84)	- Elimination totale du microbiote - Souvent utilisé en médecine/agriculture	NE

**TABEAU 3 : Effets de plusieurs molécules antibiotiques ou association de molécules sur le microbiote et la physiologie des arthropodes hématophages.** <sup>1</sup> Macrolide, bactériostatique, intracellulaire, inhibe la synthèse protéique. <sup>2</sup> Quinolone, bactéricide, intracellulaire, inhibe la réplication. <sup>3</sup> Tétracycline, bactériostatique, intracellulaire, inhibe la traduction. <sup>4</sup> Amphénicole, bactériostatique, intracellulaire, inhibe la traduction. <sup>5</sup> Aminoglycoside, bactéricide, extracellulaire, inhibe la traduction. <sup>6</sup> Rifamycine, bactéricide, intracellulaire, inhibe la transcription. <sup>7</sup>  $\beta$ -lactamine, bactéricide, extracellulaire, inhibe la synthèse de peptidoglycane. <sup>8</sup> NE: Non évalué

Dans plusieurs articles scientifiques, l'utilisation de molécules antibiotiques pour la gestion des parasites a été suggérée (19,108). En considérant les résultats rassemblés ici, nous ne recommanderions pas d'avoir recours à de telles procédures. En plus du développement de résistance aux molécules utilisées, le renouvellement du microbiote après une dysbiose est loin d'être compris et les conséquences d'un tel traitement pourraient finir par être bien différentes de celles souhaitées.

## Partie III : Etude expérimentale du rôle du microbiote bactérien chez la tique *Ornithodoros moubata*

Dans cette partie, je présenterai les expériences et résultats obtenus dans le cadre de mon stage de fin d'étude du Master 2 Biosciences de l'ENS de Lyon, réalisé au CIRAD dans l'UMR 117 ASTRE du 11/01/2021 au 25/06/2021 et faisant office de 5<sup>ème</sup> année d'approfondissement dans le cursus vétérinaire de VetAgroSup Lyon.

Dans ce cadre, je me concentrerai sur la tique *Ornithodoros moubata* élevée dans l'insectarium Baillarguet sur le site du CIRAD. L'étude du microbiote de cette tique a été réalisée par utilisation de traitements antibiotiques administrés lors du repas sanguin.

Le protocole de cette étude se base sur une étude précédemment réalisée par Duron *et al.* (14) sur le rôle du microbiote de *O. moubata* pour la production de vitamine B. D'après les résultats de Duron *et al.*, deux endosymbiotes primaires se retrouvent principalement sur la souche *Ornithodoros moubata* étudiée au CIRAD : *Francisella*-like endosymbionts (FLE) et *Rickettsia* (42).

La littérature récente nous permet de savoir que les FLE sont impliquées dans la production de vitamines B, notamment la biotine, l'acide folique et la riboflavine (14). A ce stade, nous pouvons rappeler que les endosymbiotes primaires sont la seule source de vitamine B pour la tique, cette vitamine étant absente du repas de sang. Toutes les espèces de tiques hébergent des bactéries capables de produire les vitamines B. Chez certaines espèces de tiques, ce rôle est assuré par d'autres bactéries que les FLE, en particulier, très fréquemment par les *Coxiella*-like endosymbionts (CLE) par exemple chez la tique *Amblyomma americanum* ou encore par des *Rickettsia* comme chez *Ixodes Pacificus* (15).

Il est important de noter que les CLE et les *Rickettsia* sont des endosymbiotes également associés à la fonction de reproduction chez les tiques des genres *Ixodes* (97), *Rhipicephalus* (17), *Haemaphysalis* (18) et *Amblyomma* (19). Le nombre d'œufs pondus, la masse des œufs, la durée de la ponte et le taux d'éclosion constituent autant de paramètres modifiés négativement lors de l'élimination du microbiote.

Chez les tiques molles, l'influence du microbiote sur la physiologie de la tique reste peu connue. Notre modèle, *Ornithodoros moubata*, héberge des *Francisella*-like endosymbionts (FLE) et des *Rickettsia*, bactéries sur lesquelles nous nous sommes focalisés. Etant donné que les FLE jouent un rôle nutritionnel chez la tique, toute étude de leurs autres rôles biologiques potentiels doit passer par une complémentation des tiques en vitamine B afin de compenser les effets liés à des carences.

A travers cette étude, nous espérons mieux comprendre le rôle du microbiote chez les tiques molles ainsi que les dynamiques qui peuvent prendre place entre plusieurs espèces d'endosymbiotes différentes.

## A/ Objectifs de l'étude

Deux grands axes viennent orienter cette étude :

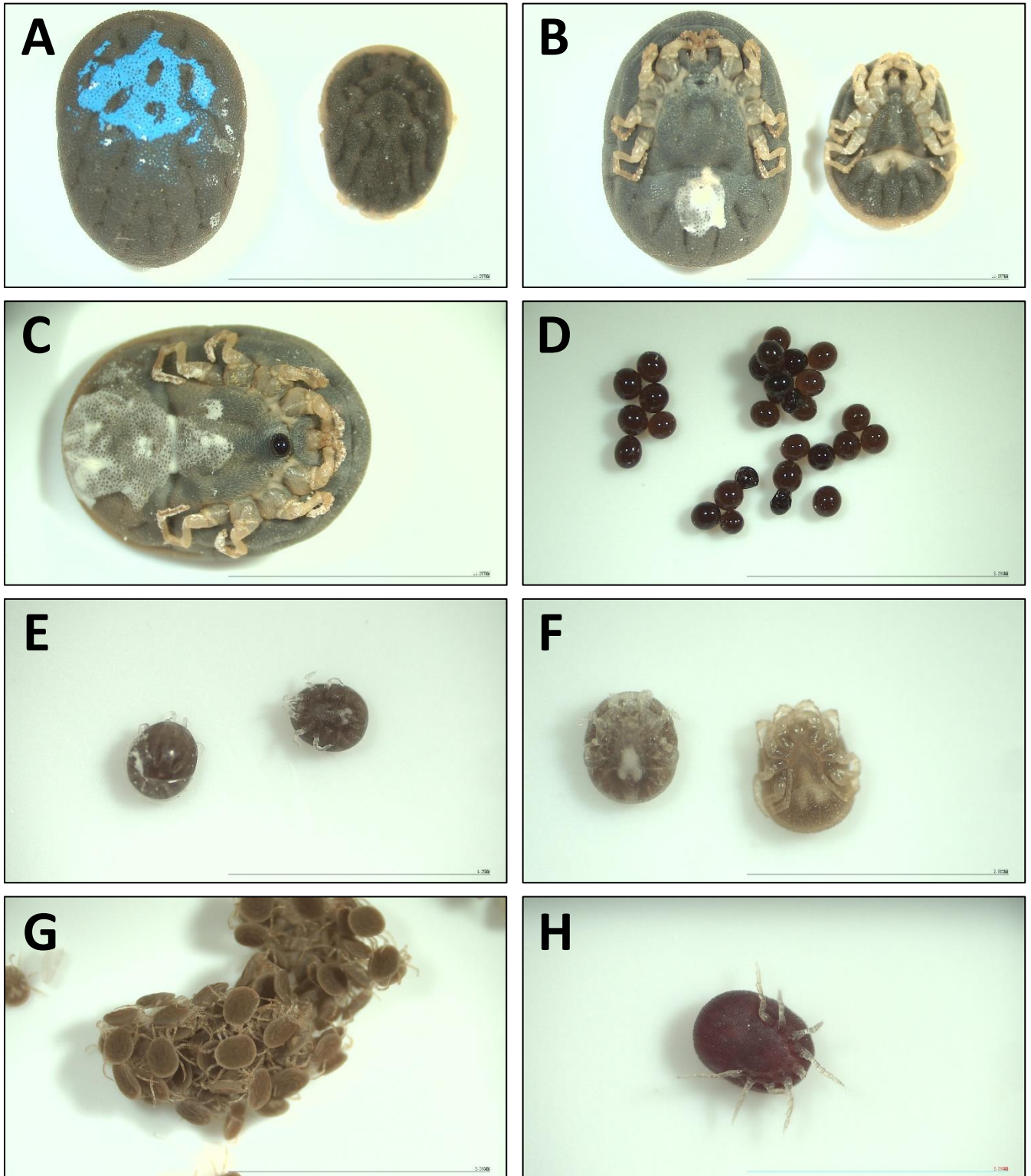
- Le premier objectif est d'éliminer, ou diminuer drastiquement, les principales espèces bactériennes constituant le microbiote d'*Ornithodoros moubata* puis d'évaluer les conséquences de cette déplétion sur les traits d'histoire de vie liés à la reproduction chez la tique. Pour cela, plusieurs traitements antibiotiques consécutifs ont été administrés *per os* à des nymphes pour tester l'efficacité du traitement antibiotique et à des adultes pour suivre la reproduction.
- Le deuxième objectif de cette étude est de faire la part entre le rôle nutritionnel du microbiote et le rôle direct sur la reproduction. Pour tester cela, 50% des tiques ont été complémentées en vitamines B et les résultats pour les deux groupes ont été comparés.

## B/ Matériel et Méthodes

### i) Tiques utilisées

Toutes les tiques utilisées sont issues de la lignée d'*Ornithodoros moubata* maintenue au laboratoire du CIRAD depuis 2008 (Montpellier, France, membre du réseau vectopole sud). Cette colonie est issue de la souche Neuchâtel, initialement originaire de Tanzanie et entretenue à l'université de Neuchâtel (Suisse).

Les femelles utilisées pour les expériences n'avaient jamais été mises à la reproduction avant et n'ont reçu aucun gorgement depuis leur dernier stade nymphal. Tous les individus, adultes, nymphes, larves et œufs ont été conservés dans des conditions stables au sein d'un même incubateur, à 25°C, avec 80% d'humidité et une luminosité de 0%. Se reporter à la **FIGURE 12** pour la visualisation des différents stades étudiés et à la **FIGURE 13** pour la visualisation du matériel utilisé.



**FIGURE 12 : Photographies réalisées à la loupe binoculaire de plusieurs stades de développement de la tique *Ornithodoros moubata*. A. Face dorsale et B. face ventrale d'une femelle adulte marquée au feutre Posca bleu (à gauche) et d'un mâle adulte (à droite), barre d'échelle : 11,3mm. C. Femelle adulte lors de la ponte, barre d'échelle : 11,3mm. D. Œufs, barre d'échelle : 8,4mm. E. Larves après éclosion, barre d'échelle : 4,3mm. F. Larve (à gauche) et nymphe de stade un (à droite), barre d'échelle : 2,9mm. G. Nymphes de stade un avant gorgement, barre d'échelle : 8,4mm. H. Nymphe de stade un après gorgement, barre d'échelle : 4,3mm.**

## ii) Comité éthique

Dans le cadre de cette étude, l'utilisation d'animaux vertébrés était régie par la régulation européenne pour les standards éthiques (directive du Conseil Européen du 24 novembre 1986 (86/609 / EEC)) et par la législation française (comité éthique numéro CEEA-LR-36 accessible sur la plateforme APAFIS).

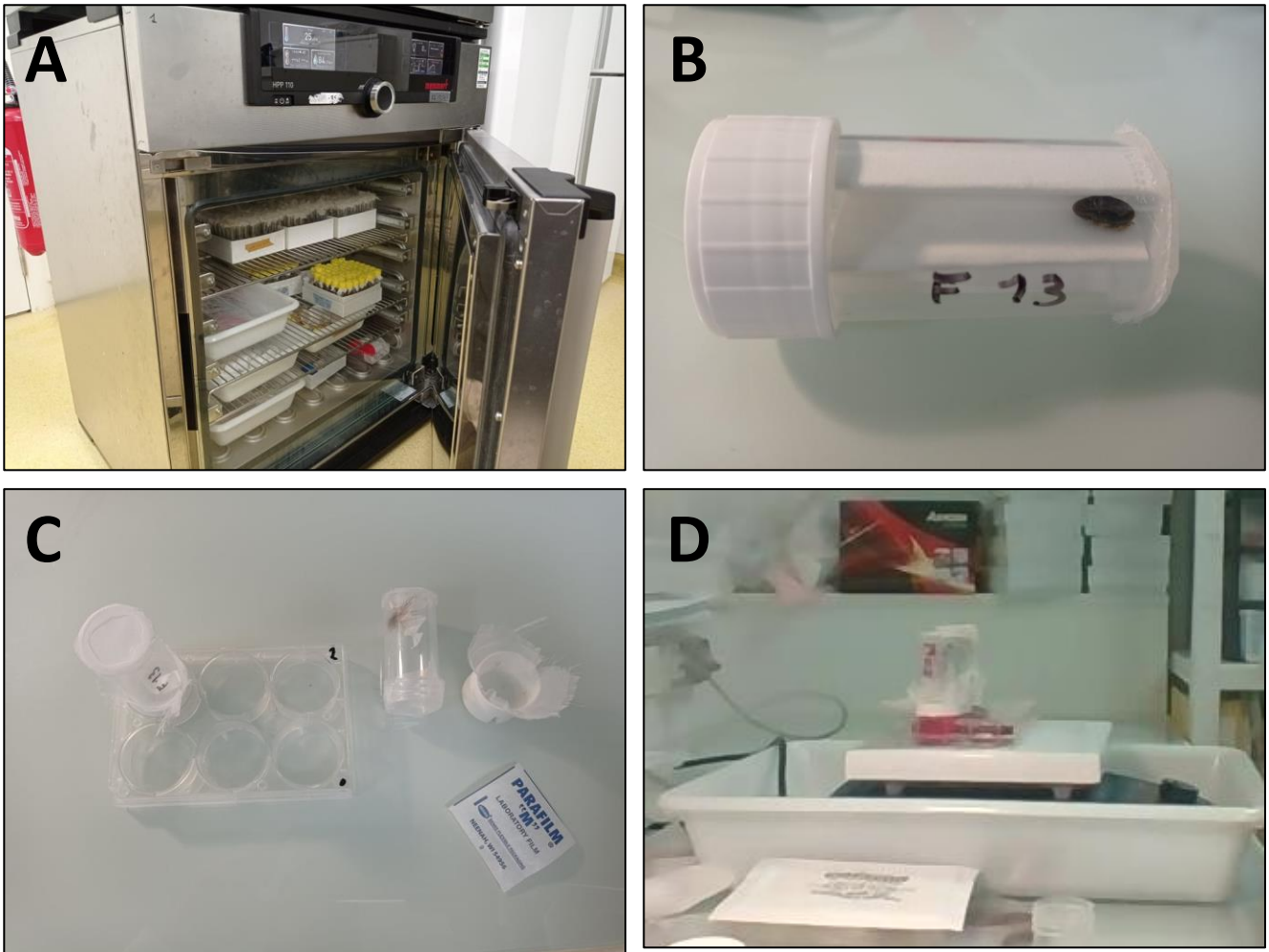
## iii) Gorgement et traitement antibiotique

Les tiques adultes ont été mises au gorgement une première fois au début de l'expérience, puis une seconde fois 52 jours plus tard. Soixante-douze heures avant le gorgement, les tiques femelles étaient rassemblées par lots et placées avec un groupe de trois mâles.

Les nymphes de stade un ont été mises au gorgement une seule fois et dix individus ont été échantillonnés pour analyse à différents temps après le repas sanguin : jour 0, jour 1, jour 3, jour 5, jour 10, jour 15 et jour 30. En raison de contraintes matérielles liées aux pénuries sur les consommables de laboratoire, seuls les échantillons des jours 0, 1, 3 et 10 ont pu être analysés (**FIGURE 14**).

Dans les deux cas, le repas sanguin a été fourni en utilisant un système de gorgement artificiel et du sang de vache prélevé dans les trois heures précédant l'expérience dans des tubes héparinés de 10mL. Le sang utilisé pour l'ensemble des expériences provient d'un seul et même animal. Un échantillon de 1mL de sang est systématiquement mis de côté et conservé à -80°C pour permettre de réaliser des analyses en cas de suspicion de contamination du sang. Le repas sanguin est réalisé dans des tubes en plastique recouverts d'une membrane de parafilm à travers laquelle les tiques pourront piquer. Un morceau de toile est ajouté pour parer à une déchirure du parafilm par les tiques. Les tubes contenant les tiques sont ensuite placés dans des plaques six puits contenant chacun 9mL de sang (**FIGURE 13, PANNELS C ET D**). Le repas sanguin se déroule pendant trois heures, à l'obscurité, le sang est maintenu en permanence à 41°C et est agité à 250 rpm. Au total, quatre à sept tiques adultes femelles sont gorgées dans un même tube en présence de trois mâles. Dans le cas où le premier gorgement n'a pas suffi, un deuxième puis un troisième gorgement sont réalisés le jour même. Si après trois gorgements la tique n'a toujours pas pris de repas sanguin, elle est exclue de l'étude.

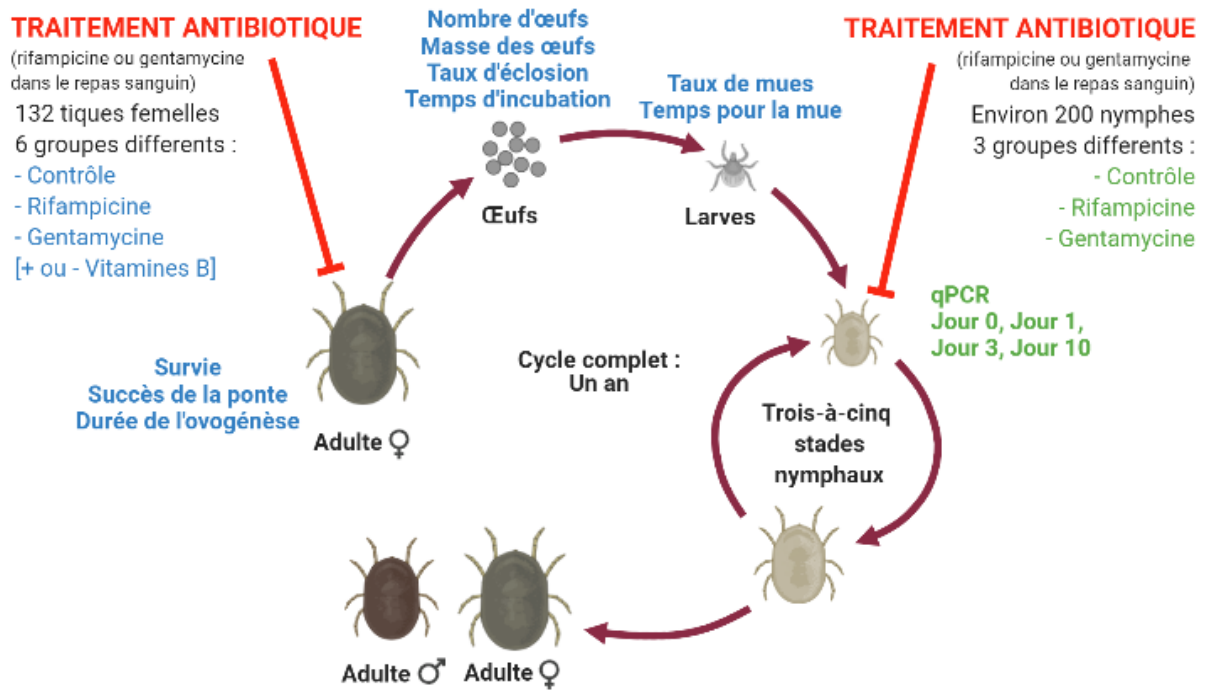
Les traitements antibiotiques et les vitamines ont été ajoutés au sang en se basant sur le protocole établi par Duron *et al.* (14). Trois conditions de traitement ont été réalisées : rifampicine (*Francisella* et *Rickettsia* sensibles), gentamycine (*Francisella* sensibles et *Rickettsia* résistantes) et absence d'antibiotique. Une quatrième condition a été ajoutée pour les nymphes avec



**FIGURE 13 : Matériel utilisé pour l'élevage et le gorgement des tiques *Ornithodoros moubata*. A. Incubateur. B. Tubes individuels pour les tiques femelles adultes. C. et D. système de gorgement artificiel sur sang de vache.**

l'ampicilline (cible le microbiote intestinal mais pas *Francisella* ni *Rickettsia*). Pour chaque condition de traitement antibiotique, deux sous-groupes ont été séparés, un recevant une complémentation en vitamines B (un mélange de biotine, acide folique et riboflavine), l'autre sans complémentation.

En pratique, l'ensemble du sang obtenu pour l'expérience était homogénéisé puis séparé en autant d'aliqots que de conditions à tester. Des solutions mères pour les vitamines et antibiotiques ont été préparées par dilution dans de l'eau Milli-Q (et non pas du méthanol contrairement aux protocoles précédemment établis pour éviter la toxicité de ce composé). Les concentrations des solutions mères ont été établies en fonction de la concentration finale souhaitée dans le sang et de façon à minimiser le volume de solution à ajouter au sang afin d'éviter de diluer celui-ci. De plus, la solubilité de chaque composé a également dû être prise en compte. Les concentrations



**FIGURE 14 : Protocol de traitement antibiotique et d'évaluation des traits d'histoire de vie selon le stade du cycle parasitaire d'*Ornithodoros moubata*.** Les traits étudiés sont indiqués à côté du stade concerné. En bleu, l'expérience réalisée sur les tiques adultes pour suivre les paramètres liés à la reproduction. En vert, l'expérience réalisée sur les nymphes de stade 1 pour suivre les populations bactériennes après traitement antibiotique. Figure réalisée en utilisant BioRender.com.

d'antibiotiques dans le sang ont été choisies en fonction des recommandations du RCP (Résumé des Caractéristiques du Produit) et de la littérature pour les espèces bactériennes ciblées : gentamycine  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , rifampicine  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , ampicilline  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$  (14,19,101). Les concentrations en vitamines ont été choisies en accord avec le protocole de Duron *et al.* : biotine  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , acide folique  $30 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , riboflavine  $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$  (14). Les antibiotiques et les vitamines ont été remplacées par de l'eau Milli-Q pour les témoins négatifs.

Afin de permettre un suivi individuel des tiques lors des gorgements, celles-ci ont été marquées avec des points de couleur dorsalement en utilisant des feutres Posca (**FIGURE 12, PANNEL A**). Chaque tique a été pesée individuellement 24h avant et 10min après le gorgement. Si à la fin d'un repas sanguin une tique a gagné moins de 50mg, elle est considérée comme ne s'étant pas gorgée et est donc placée en tube à nouveau pour un deuxième voire un troisième repas. Si au bout de trois tentatives, la tique n'est toujours pas gorgée, elle est exclue de l'étude.



#### iv) Suivi de la reproduction

Après le repas sanguin, les femelles ont été laissées avec les mâles pendant sept jours puis ont été isolées dans des tubes en plastique individuels (**FIGURE 13, PANNEL B**). Le suivi des paramètres de reproduction a été réalisé en double aveugle vis-à-vis du traitement effectué. Au total, 132 tiques femelles adultes ont été incluses dans l'étude et suivies pendant deux périodes de 50 jours post repas sanguin. Pour chaque tique, le nombre d'œufs pondus, la masse des œufs et la date de ponte ont été enregistrés. Pour chaque lot d'œufs pondus le même jour, le taux d'éclosion et le taux de larves survivant jusqu'au premier stade nymphal étaient suivis. Pour chaque œuf, la date d'éclosion et la date de mue ont été enregistrées (**FIGURE 14**).

#### v) Extraction de l'ADN

Les nymphes sélectionnées ont été placées individuellement dans des tubes Eppendorf 1,5 mL contenant 300 µL de milieu de culture DMEM complété à 10% par du sérum de veau. Les nymphes ont ensuite été écrasées en passant les tubes au TissueLyser Qiagen en présence de billes d'acier et de plastique. L'extraction d'ADN a ensuite été réalisée à partir de 75 µL de l'homogénat obtenu après broyage, en utilisant le kit NucleoSpin® Tissue (Macherey-Nagel, Hoerdt, Allemagne) et en respectant le protocole pour une utilisation sur tissus humains ou animaux et cultures cellulaires. L'ADN extrait a été élué dans 50 µL de tampon d'éluion et stocké à -20°C en attendant d'être utilisé.

#### vi) PCR quantitative

Les PCRs quantitatives étaient lancées sur les ADNs extraits, le lendemain des extractions, dans deux machines Roche Lightcycler® 96 (Roche Applied Sciences, Beijing, Chine) au laboratoire P2 du CIRAD avec la méthode taqMan.

Pour chaque échantillon, l'extrait d'ADN (2 µL) était ajouté au mix d'amplification (18 µL : mix 10 µL, H<sub>2</sub>O 6,6 µL, amorce sens pour l'actine 0,4 µL, amorce antisens pour l'actine 0,4 µL, sonde pour l'actine 0,4 µL, amorce sens pour le gène cible 0,4 µL, amorce antisens pour le gène cible 0,4 µL, sonde pour le gène cible 0,4 µL). Les amorces utilisées pour amplifier l'ADN de Francisella-like endosymbiont ciblaient le gène *RpoB* codant pour la sous unité β de l'ARN polymérase. Les séquences des amorces étaient sens : 5'-GTGGTGTACCTATTGCT ACG-3', anti-sens : 5'-TGATGGTCGTAAGC-3' et sonde : 5'-ATAGGTGGCTT TGCAACTAA-3'. Les amorces utilisées pour amplifier l'ADN de *Rickettsia* ciblaient

le gène *GltA* codant pour l'enzyme de synthèse du citrate (citrate synthase). Les séquences des amorces étaient sens : 5'-AATGATCCGTTTAGGTTGATG-3', anti-sens : 5'-ACCCACTCCTGCAAATAG-3' et sonde : 5'-GTGCCGCAGTACTTAAAGA-3'. Le gène de l'actine de la tique *Ornithodoros moubata* était également amplifié en tant que contrôle positif de l'extraction d'ADN et afin de pouvoir prendre en compte la taille de chaque individu analysé.

Des témoins positifs et négatifs ont été inclus en utilisant respectivement 2 µL d'ADN des expériences réalisées par Duron *et al.* (14) et 2 µL d'eau Milli-Q. Le programme PCR utilisé comprenait 1 minute à 95°C, suivi par 45 cycles de 1 minute à 95°C et 30 secondes à 56°C. Les analyses ont été réalisées en utilisant des indicateurs de fluorescence FAM et HEX. Les échantillons avec un cycle de seuil (Ct) supérieur à 38 ont été considérés comme négatifs. Les scores de Cts ont été convertis en concentrations en utilisant les courbes étalons réalisées lors de chaque PCR à partir d'un plasmide contenant les séquences ciblées.

## vii) Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel R version 4.0.3 (2020-10-10) (109). Pour les analyses des résultats de qPCR, un modèle linéaire simple a été mis en place grâce à la fonction **lm**.

Pour les analyses des données liées aux paramètres de reproduction chez les tiques, nous avons utilisé des modèles linéaires généralisés avec la fonction **glm**, ou des modèles mixtes généralisés avec la fonction **glmer** (R package **Lme4** (110)) en fonction de l'absence (**glm**) ou de la présence (**glmer**) d'un effet aléatoire. L'effet aléatoire permet de prendre en considération le manque d'indépendance entre certaines données étant donné que les œufs et larves suivis peuvent être les descendants de la même mère. Suivant la variable suivie, une distribution de Poisson ou une distribution binomiale a été utilisée. La sur-dispersion et la sous-dispersion des données ont été évaluées en utilisant le même modèle que précédemment avec une distribution respectivement quasi-Poisson ou quasi-binomiale. En cas de sur-dispersion ou sous-dispersion, ce nouveau modèle était conservé en faveur du précédent.

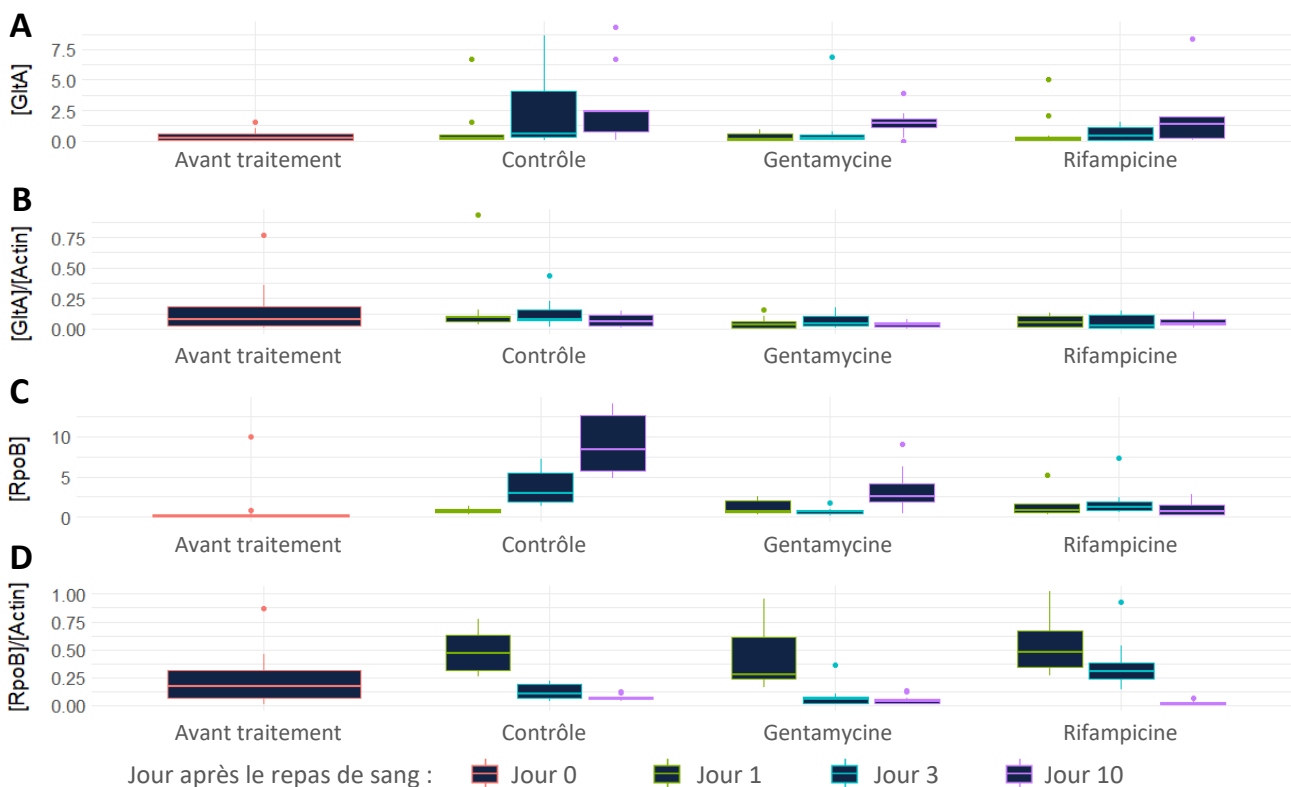
Les comparaisons statistiques des données ont été réalisées en utilisant des tests F ou un test de Chi-square. La variance et les p-values ont été enregistrées. Lorsque la valeur moyenne obtenue pour un trait est présentée, l'écart-type (ET) pour cette valeur est ajoutée entre crochets.

## C/ Résultats

### i) Analyses moléculaires

Au total, 110 nymphes de stade un ont été analysées, soit 30 nymphes par groupe de traitement (gentamycine, rifampicine et témoin négatif) avec 10 nymphes pour chaque jour d'échantillonnage (jour 1, jour 3 et jour 10). De plus, 20 nymphes ont également été collectées juste avant le repas sanguin (jour 0). Tous les individus ont été testés séparément pour *Rickettsia* (gène cible *GltA*) et *Francisella*-like endosymbiont (gène cible *RpoB*).

Sur l'ensemble des individus, 100% ont été testés positifs pour *Rickettsia* (109/109) avec un individu de groupe témoin exclu en raison d'une courbe de qPCR anormale. Aucune différence significative n'a été notée sur les concentrations en ADN obtenues entre les différents groupes de traitement (**FIGURE 15, PANNEL A**). Néanmoins, on peut noter que la quantité d'ADN



**FIGURE 15 : Représentation des concentrations en ADN obtenues par qPCR pour *Rickettsia* et *Francisella*-like endosymbionts (FLE) après traitement antibiotique de nymphes de stade un d'*Ornithodoros moubata*. A. Concentration en ADN pour *GltA* ([GltA]), indicateur de la présence de *Rickettsia*. B. Ratio de [GltA] et de la concentration en ADN pour l'actine d'*O. moubata* ([Actin]) afin de corriger pour la taille de la nymphe. C. Concentration en ADN pour *RpoB* ([RpoB]), indicateur de la présence de FLE. D. Ratio de [RpoB] et [Actin] afin de corriger pour la taille de la nymphe. Les concentrations sont indiquées en nombre de copies par mL.**

bactérien détectée augmente avec le temps après le gorgement entre le jour 0 et le jour 10 (**FIGURE 15, PANNEL A**). Une augmentation similaire est notée pour le gène de l'actine. Lorsque les quantités d'ADN pour le gène cible sont normalisées avec les quantités d'ADN de l'actine, aucune différence ne peut être notée entre aucun groupe (**FIGURE 15, PANNEL B**).

Concernant les *Francisella*-like endosymbionts, 98,2% des qPCR étaient positives (108/110) avec un individu négatif dans le groupe du jour 0 et un individu négatif dans le groupe Rifampicine du jour 1. Tout comme pour *Rickettsia*, la quantité d'ADN obtenue augmente avec le temps après gorgement chez le groupe contrôle (**FIGURE 15, PANNEL C**). Cependant, cette augmentation n'est pas observée dans le cas des groupes ayant été traités à la rifampicine ou à la gentamycine. L'utilisation du ratio avec la quantité d'ADN pour l'actine ne révèle encore une fois aucune différence entre les différents groupes (**FIGURE 15, PANNEL D**).

## ii) Suivi de la reproduction

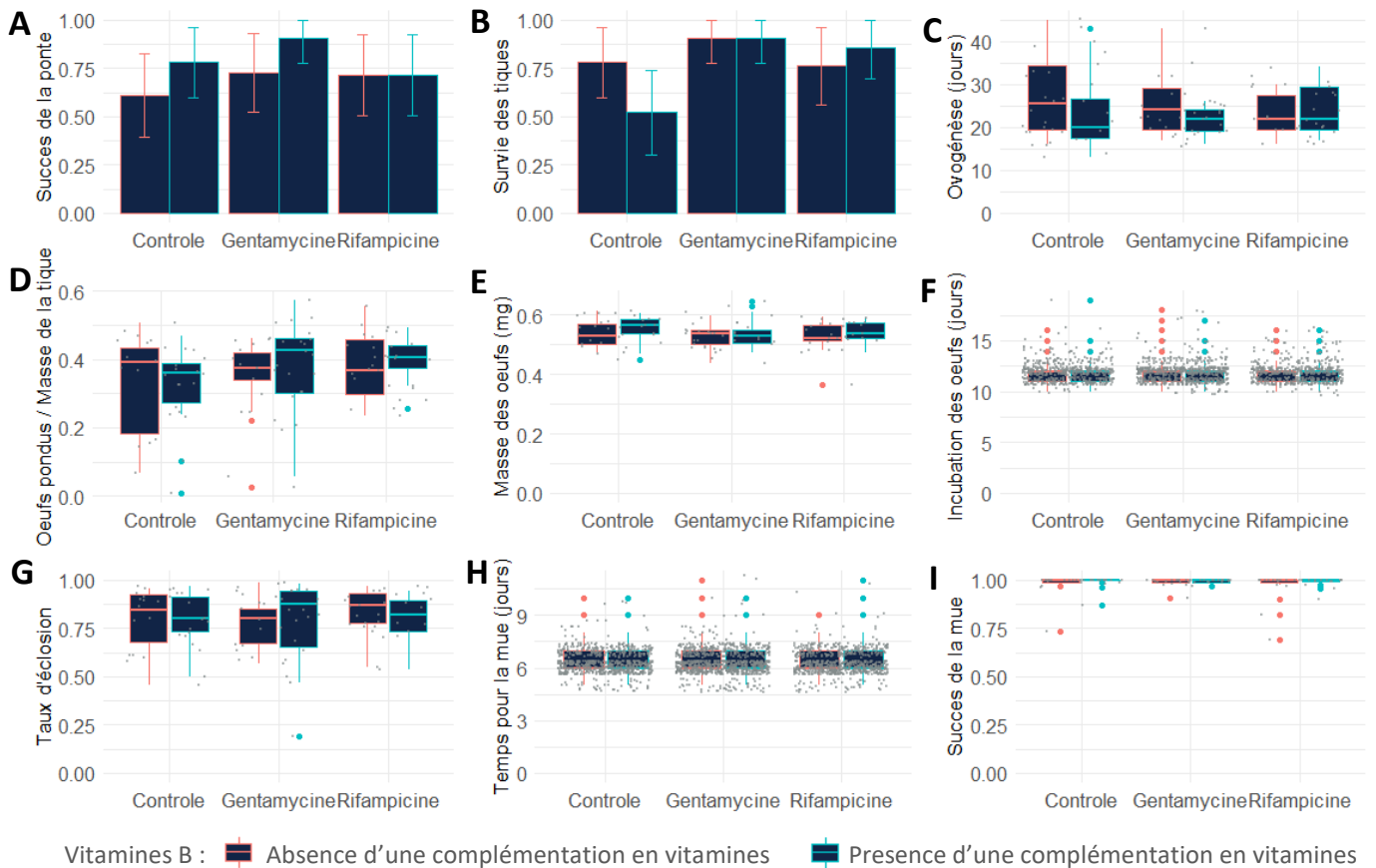
Les tiques adultes étaient réparties dans trois groupes de traitement différents (témoin n=46, gentamycine n=44, rifampicine n=42), chaque groupe étant divisé en deux sous-groupes (la moitié des individus recevant un traitement complémentaire en vitamines B, l'autre moitié sans cette complémentation). Les paramètres associés à la reproduction ont ensuite été suivis quotidiennement pendant deux périodes successives de 50 jours séparées par un deuxième traitement identique au premier. Les effets associés au traitement antibiotique, à la complémentation en vitamines et aux interactions entre les deux ont été testés pour des différences significatives (**TABLEAU 4**).

Sur 132 tiques gorgées, 74,2% (98/132) ont pondu durant la première période de 50 jours. Le pourcentage de femelles ayant pondu variait entre 60,9% et 78,2% selon les groupes mais aucune différence significative n'a pu être attribuée à ce paramètre (**FIGURE 16, PANNEL A** et **TABLEAU 4**). Au total, 78,8% (104/132) des tiques ont survécu. La mortalité observée est significativement différente entre les trois groupes de traitement, sans différence entre les sous-groupes liés à la vitamine (**FIGURE 16, PANNEL B** et **TABLEAU 4**). Le groupe témoin présente une mortalité plus élevée (34,8%) que les groupes traités à la gentamycine (9,1%) ou à la rifampicine (19,0%).

Trait surveillé	Famille	Effet de l'antibiotique	Effet des vitamines	Effet de l'interaction
Succès de la ponte	Binomiale	Pr : 0,3499 Dev : 2,100	Pr : 0,1073 Dev : 2,594	Pr : 0,4483 Dev : 1,605
Survie sur 50 jours après le repas sanguin	Binomiale	Pr : 0,009687** Dev : 9,274	Pr : 0,3768 Dev : 0,7810	Pr : 0,1867 Dev : 3,356
Nombre de jours avant la ponte	Quasi-Poisson <sup>1</sup>	Pr : 0,3741 Dev : 3,548	Pr : 0,05820 Dev : 6,472	Pr : 0,1609 Dev : 6,590
Nombre d'œufs corrigé par le poids de la mère	Quasi-Poisson <sup>2</sup>	Pr : 0,09462 Dev : 0,1784	Pr : 0,5601 Dev : 0,01284	Pr : 0,8410 Dev : 0,01310
Masse moyenne des œufs	Quasi-Poisson <sup>2</sup>	Pr : 0,3506 Dev : 0,008410	Pr : 0,1405 Dev : 0,008714	Pr : 0,8974 Dev : 0,0008689
Temps d'incubation des œufs	Quasi-Poisson <sup>2</sup>	Pr : 0,6958 Dev : 0,06174	Pr : 0,7652 Dev : 0,007590	Pr : 0,05697 Dev : 0,4878
Taux d'éclosion	Binomiale	Pr : 0,7510 Dev : 0,5726	Pr : 0,9560 Dev : 0,003039	Pr : 0,5526 Dev : 1,186
Temps nécessaire pour la métamorphose	Quasi-Poisson <sup>2</sup>	Pr : 0,7098 Dev : 0,04697	Pr : 0,3924 Dev : 0,05011	Pr : 0,7444 Dev : 0,04045
Taux de métamorphose	Binomiale	Pr : 0,8477 Dev : 0,3305	Pr : 0,1925 Dev : 1,699	Pr : 0,7623 Dev : 0,5428

**TABLEAU 4 : Résultats des analyses statistiques menées sur les indicateurs de la reproduction mesurés chez les tiques femelles adultes sur 50 jours après le premier repas sanguin traité aux antibiotiques (gentamycine, rifampicine ou témoin négatif) et complémenté en vitamines B (présence ou absence de complémentation).** Pr : P-value. Dev : Variance. Le degré de liberté est de 2 pour l'effet du traitement antibiotique et pour l'effet de l'interaction, et de 1 pour l'effet de la complémentation en vitamines. <sup>1</sup> Distribution corrigée pour des données sur-dispersées. <sup>2</sup> Distribution corrigée pour des données sous-dispersées. Les résultats significatifs sont indiqués par un fond grisé. P-value : 0 '\*\*\*\*' 0,001 '\*\*\*' 0,01 '\*\*' 0,05 ' ' 1

Concernant la ponte en elle-même, le temps nécessaire pour l'ovogénèse, estimé par le temps entre le repas sanguin et le premier jour de dépôt des œufs, était en moyenne de 23,9 jours [ET : 6,81]. Il est important de noter que le jeu de données collecté était soumis à un léger effet de sur-dispersion qui a été corrigé en utilisant un modèle basé sur une distribution de quasi-Poisson pour les analyses statistiques. Aucune différence statistique claire n'a pu être établie entre les groupes. Néanmoins, dans les groupes témoins et gentamycine, il a été observé que la complémentation en vitamines avait tendance à diminuer le temps nécessaire pour l'ovogénèse (**FIGURE 16, PANNEL C et TABLEAU 4**).



**FIGURE 16 : Représentation graphique des indicateurs de la reproduction mesurés chez les tiques femelles adultes *Ornithodoros moubata* après traitement antibiotique et complémentation en vitamines du premier repas sanguin. A.** Succès de la ponte : nombre de tiques ayant pondu dans un groupe / taille du groupe. **B.** Taux de survie des tiques après le gorgement. **C.** Temps nécessaire pour l'ovogénèse (entre le repas sanguin et le premier jour de la ponte, en jours). **D.** Nombre d'œufs pondus par tique corrigé par la masse de la tique après le repas de sang (en nombre d'œufs par mg de poids de la tique). **E.** Masse moyenne des œufs (en mg). **F.** Temps d'incubation des œufs (en jours). **G.** Taux d'éclosion des œufs. **H.** Temps entre l'éclosion et la métamorphose des larves en nymphes de stade un (en jours). **I.** Taux de succès de la métamorphose en nymphes de stade un. Dans les histogrammes, les intervalles de confiance à 95% sont indiqués.

Le nombre d'œufs déposés a été étudié en le rapportant au poids de la femelle après son repas sanguin. Sur la première période de 50 jours, les femelles ont pondu entre 2 et 220 œufs avec une moyenne de 109 œufs (ou après standardisation au poids, 0,361 œuf par mg de poids de la tique [ET : 0,116]). Aucune différence entre aucun sous-groupe n'a été trouvée pour ce trait (**FIGURE 16, PANNEL D** et **TABLEAU 4**). De la même manière, aucune différence n'a été détectée concernant le poids des œufs (**FIGURE 16, PANNEL E** et **TABLEAU 4**). En moyenne les œufs pesaient 0,538 mg [ET : 0,0463].

Les paramètres associés à l'éclosion ont été mesurés pour chaque groupe d'œufs déposés un même jour par une même femelle. Que ce soit pour le temps d'incubation des œufs ou pour le taux d'éclosion, aucune différence statistique n'a pu être mise en évidence entre les groupes (**FIGURE 16, PANNEL F, PANNEL G et TABLEAU 4**). En moyenne, le temps d'incubation des œufs était de 11,9 jours [ET : 1,01] avec un taux d'éclosion de 79,6% [ET : 15,1].

Après éclosion, les larves ont été suivies jusqu'à leur métamorphose en nymphes de stade un. Aucune différence n'a été rapportée entre les groupes concernant le temps entre l'éclosion et la métamorphose (**FIGURE 16, PANNEL H et TABLEAU 4**). En moyenne, une larve se métamorphose au bout de 6,31 jours après éclosion [ET : 0,657]. Enfin, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence concernant le taux de succès de la métamorphose qui atteignait en moyenne 98,4% [ET : 4,77] (**FIGURE 16, PANNEL I et TABLEAU 4**). Dans les groupes témoins et rifampicine, le taux d'éclosion était meilleur en présence de vitamines (95,8% contre 99,1% dans le groupe rifampicine et 97,5% contre 99,0% dans le groupe témoin). Néanmoins, la P-value associée à l'effet lié aux vitamines sur le taux de mue ne permet pas de conclure sans données supplémentaires (**TABLEAU 4**).

A l'issue de cette première période de 50 jours, les femelles survivantes ont été gorgées une seconde fois selon le même protocole de gorgement et de traitement. Les femelles ont ensuite été suivies de nouveau sur une période de 50 jours pour les mêmes paramètres indicateurs de la reproduction. Au total 102 tiques ont pu être mises au gorgement. Trois tiques ont été exclues car non gorgées après trois tentatives. Les 99 autres tiques étaient réparties de la manière suivante : témoin n=15 ; témoin + vitamines n=12 ; gentamycine n=19 ; gentamycine + vitamines n=20 ; rifampicine n=16 ; rifampicine + vitamines n=17. Après traitement, les tiques ont été isolées en tubes individuels et suivies pour les paramètres liés à la reproduction. Les effets associés au traitement antibiotique, à la complémentation en vitamines et aux interactions entre les deux ont été testés pour des différences significatives comme précédemment (**TABLEAU 5**).

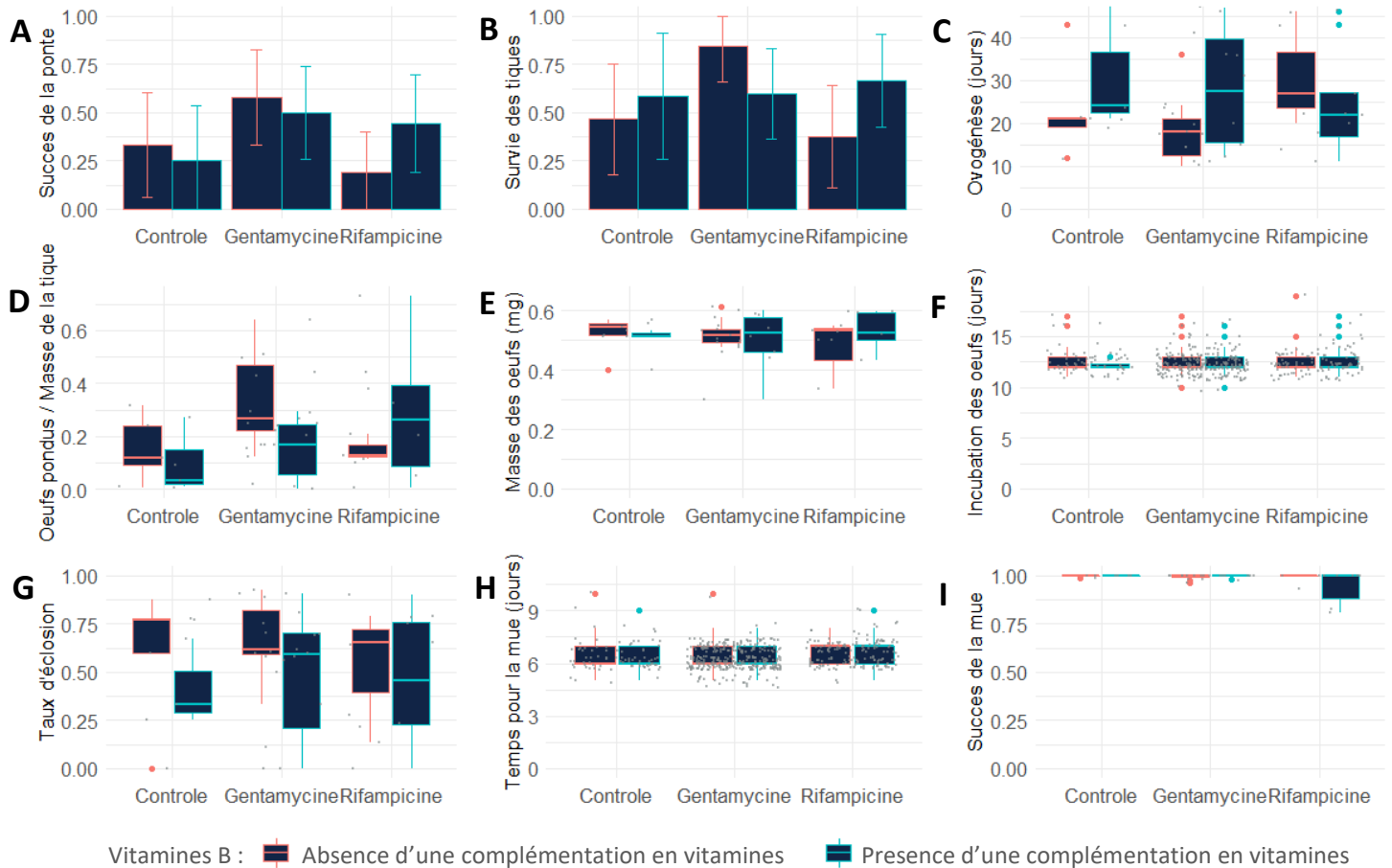
Sur 99 tiques gorgées, 40,4% (40/99) ont pondu durant la deuxième période de 50 jours. Le pourcentage de femelles ayant pondu variait entre 18,8% et 57,9% selon les groupes. Aucune différence significative n'a pu être attribuée à ce paramètre (**FIGURE 17, PANNEL A et TABLEAU 5**) mais une tendance peut être observée en lien avec le traitement antibiotique, les tiques traitées à la rifampicine ayant un succès de ponte diminué comparé aux deux autres groupes (18,8% contre 33,3% pour le témoin et 57,9% pour la gentamycine). Cet effet est annulé en présence de vitamine (44,4%).

Trait surveillé	Famille	Effet de l'antibiotique	Effet des vitamines	Effet de l'interaction
Succès de la ponte	Binomiale	Pr : 0,08903 Dev : 5,146	Pr : 0,7287 Dev : 0,1280	Pr : 0,2472 Dev : 2,974
Survie sur l'ensemble de l'expérience (102 jours)	Binomiale	Pr : 0,006548** Dev : 10,06	Pr : 0,9598 Dev : 0,002503	Pr : 0,06723 Dev : 5,399
Survie sur 50 jours après le 2 <sup>ème</sup> repas sanguin	Binomiale	Pr : 0,1501 Dev : 3,793	Pr : 0,7106 Dev : 0,1376	Pr : 0,04820* Dev : 6,065
Nombre de jours avant la ponte	Quasi-Poisson <sup>1</sup>	Pr : 0,6820 Dev : 4,207	Pr : 0,1323 Dev : 12,46	Pr : 0,2084 Dev : 17,24
Nombre d'œufs corrigé par le poids de la mère	Quasi-Poisson <sup>2</sup>	Pr : 0,1504 Dev : 0,4265	Pr : 0,1092 Dev : 0,2888	Pr : 0,05911 Dev : 0,6367
Masse moyenne des œufs	Quasi-Poisson <sup>2</sup>	Pr : 0,9867 Dev : 0,0002565	Pr : 0,8612 Dev : 0,0002930	Pr : 0,3503 Dev : 0,02012
Temps d'incubation des œufs	Quasi-Poisson <sup>2</sup>	Pr : 0,3250 Dev : 0,2497	Pr : 0,6804 Dev : 0,01885	Pr : 0,01565* Dev : 0,9236
Taux d'éclosion	Binomiale	Pr : 0,5314 Dev : 1,264	Pr : 0,1925 Dev : 1,698	Pr : 0,4869 Dev : 1,439
Temps nécessaire pour la métamorphose	Quasi-Poisson <sup>2</sup>	Pr : 0,0003831*** Dev : 1,264	Pr : 0,6249 Dev : 0,01920	Pr : 0,9009 Dev : 0,01676
Taux de métamorphose	Binomiale	Pr : 0,2346 Dev : 2,900	Pr : 0,6025 Dev : 0,2712	Pr : 0,1365 Dev : 3,984

**TABLEAU 5 : Résultats des analyses statistiques menées sur les indicateurs de la reproduction mesurés chez les tiques femelles adultes sur 50 jours après le deuxième repas sanguin traité aux antibiotiques (gentamycine, rifampicine ou témoin négatif) et complété en vitamines B (présence ou absence de complémentation).** Pr : P-value. Dev : Variance. Le degré de liberté est de 2 pour l'effet du traitement antibiotique et pour l'effet de l'interaction, et de 1 pour l'effet de la complémentation en vitamines. <sup>1</sup> Distribution corrigée pour des données sur-dispersées. <sup>2</sup> Distribution corrigée pour des données sous-dispersées. Les résultats significatifs sont indiqués par un fond grisé. P-value : 0 '\*\*\*' 0,001 '\*\*' 0,01 '\*' 0,05 ' ' 1

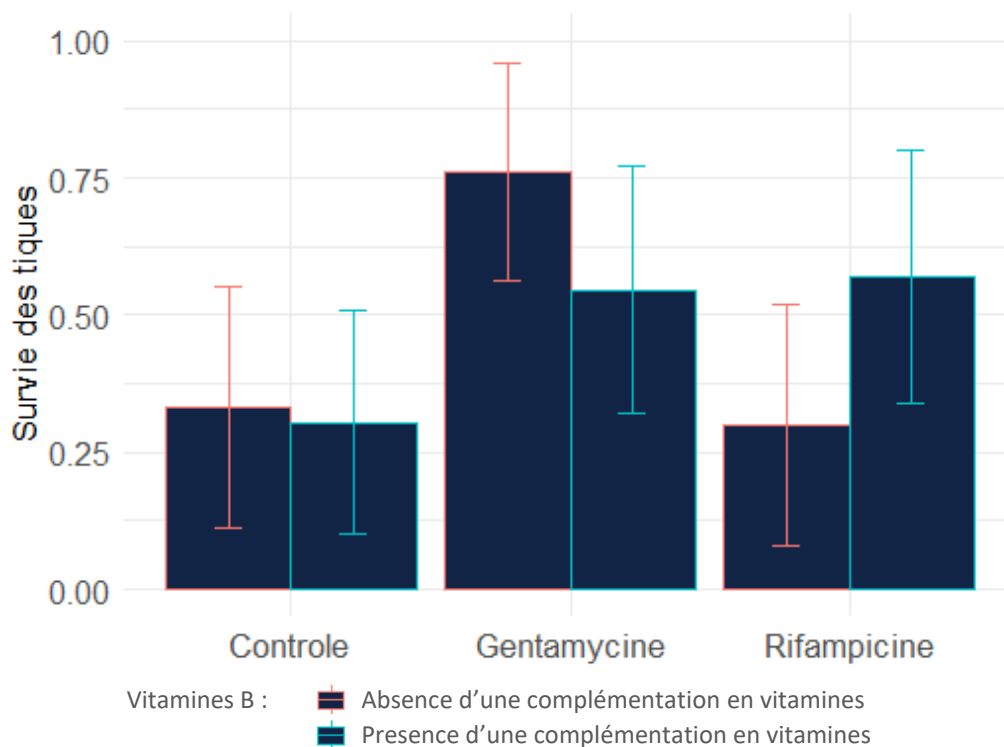
Après le deuxième gorgement, 60,6% (60/99) des tiques ont survécu. La mortalité observée est significativement dépendante de l'interaction entre le traitement antibiotique et la complémentation en vitamines avec un plus fort effet du premier (**FIGURE 17 PANNEL B** et **TABLEAU 5**). Si nous regardons les données concernant la survie sur l'ensemble de l'expérience, un fort effet du traitement antibiotique peut être noté ainsi qu'un faible effet de l'interaction entre le traitement et la complémentation en vitamines. Dans ce cadre, le





**FIGURE 17 : Représentation graphique des indicateurs de la reproduction mesurés chez les tiques femelles adultes *Ornithodoros moubata* après traitement antibiotique et complémentation en vitamines du deuxième repas sanguin. A. Succès de la ponte : nombre de tiques ayant pondu dans un groupe / taille du groupe. B. Taux de survie des tiques après le gorgement. C. Temps nécessaire pour l’ovogénèse (entre le repas sanguin et le premier jour de la ponte, en jours). D. Nombre d’œufs pondus par tique corrigé par la masse de la tique après le repas de sang (en nombre d’œufs par mg de poids de la tique). E. Masse moyenne des œufs (en mg). F. Temps d’incubation des œufs (en jours). G. Taux d’éclosion des œufs. H. Temps entre l’éclosion et la métamorphose des larves en nymphes de stade un (en jours). I. Taux de succès de la métamorphose en nymphes de stade un. Dans les histogrammes, les intervalles de confiance à 95% sont indiqués.**

groupe témoin présente des mortalités élevées (66,7% et 69,6% respectivement en absence et en présence de vitamines). Mortalité qui est similaire pour le groupe traité à la rifampicine sans vitamines (70,0%). Les trois autres groupes présentent une mortalité plus faible, 42,9% pour le groupe rifampicine plus vitamines, 45,5% et 23,8% pour les groupes gentamycine avec ou sans vitamines (**FIGURE 18, TABLEAU 5**).



**FIGURE 18 : Représentation graphique de la survie des tiques *Ornithodoros moubata* après traitement antibiotique et complémentation en vitamines sur l'ensemble de l'expérience (102 jours). Les intervalles de confiance à 95% sont indiqués.**

Concernant les paramètres de la ponte après le deuxième gorgement, le temps nécessaire pour l'ovogénèse, était en moyenne de 24,7 jours [ET : 12,0] avec un phénomène de sur-dispersion. Aucune différence statistique claire n'a pu être établie entre les différents groupes, et les tendances observées précédemment concernant la complémentation en vitamines ne sont pas confirmées (**FIGURE 17, PANNEL C** et **TABLEAU 5**).

Sur cette deuxième période de 50 jours, les femelles ont pondu entre 1 et 206 œufs avec une moyenne de 65,2 œufs (ou, après standardisation par la masse de la tique, 0,228 œuf par mg de poids de la tique [ET : 0,176]). Aucune différence entre aucun sous-groupe n'a été trouvée pour ce trait (**FIGURE 17, PANNEL D** et **TABLEAU 5**). De la même manière, toujours aucune différence n'a été détectée concernant le poids des œufs (**FIGURE 17, PANNEL E** et **TABLEAU 5**). En moyenne les œufs pesaient 0,516 mg [ET : 0,0671].

Concernant les paramètres associés à l'éclosion, les résultats sont légèrement différents de ceux obtenus après le premier gorgement. Ainsi, pour le temps d'incubation des œufs, un effet de l'interaction entre le traitement et la complémentation semble significatif sans rôle clair des deux paramètres (**FIGURE 17, PANNEL F** et **TABLEAU 5**). Pour le taux d'éclosion, aucune différence statistique n'a pu être mise en évidence entre les groupes (**FIGURE 17, PANNEL G**).

et **TABLEAU 5**). En moyenne, le temps d'incubation des œufs était de 12,4 jours [ET : 1,18] avec un taux d'éclosion de 55,0% [ET : 28,9].

Concernant la métamorphose des larves en nymphes de stade 1, une différence significative a été rapportée entre les différents groupes de traitement pour le temps nécessaire entre l'éclosion et la métamorphose (**FIGURE 17, PANNEL H** et **TABLEAU 5**) avec un temps légèrement plus long pour le groupe rifampicine que pour les deux autres groupes (6,59 jours contre 6,38 jours pour le témoin et 6,34 jours pour le groupe gentamycine). Aucun effet des vitamines n'est rapporté. En moyenne, une larve se métamorphose 6,39 jours après éclosion [ET : 0,724].

Enfin, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence concernant le taux de succès de la métamorphose qui atteignait en moyenne 98,5% [ET : 4,32] (**FIGURE 17, PANNEL I** et **TABLEAU 5**). Les tendances observées après le premier gorgement concernant une différence en présence ou en absence de complémentation en vitamines B ne sont pas observées ici.

## D/ Discussion

Comme pour de nombreux arthropodes, le microbiote des tiques a été séquencé de manière extensive (111). Si le rôle précis de chaque espèce microbienne reste difficile à déterminer, certains effets marquant sur la biologie de la tique ont été clairement établis. Cela mène à la définition de plusieurs types d'agents du microbiote selon leur relation avec l'arthropode (6). Comme définis plus tôt dans cette étude, les endosymbiotes primaires sont héréditaires d'une génération à l'autre et constituent des symbiotes obligatoires. Ils jouent un rôle crucial dans la survie et/ou le développement de l'arthropode (39). En se basant sur cette définition, quatre genres bactériens ont, jusqu'ici, été identifiés comme endosymbiotes primaires chez les tiques : *Coxiella*-like endosymbiotes (CLE), *Candidatus Midichloria mitochondrii*, *Francisella*-like endosymbiotes (FLE) et, moins fréquemment, *Rickettsia*. Chacun de ces groupes porte une copie du gène impliqué dans la synthèse de nutriments essentiels, dont les vitamines B, qui ne sont pas naturellement apportées par l'alimentation hématophage stricte. Selon l'espèce de tique étudiée, un ou deux de ces quatre genres bactériens sera trouvé de manière prédominante et assurera la fonction d'apport de vitamine B (40,75). Avec le temps, plusieurs événements évolutifs ont mené à la perte ou l'acquisition d'endosymbiotes, menant à la diversité observée de nos jours (40,42).

Cependant, le rôle des endosymbiotes n'est pas limité à l'apport en nutriments. Chez les tiques, ils sont aussi connus pour avoir des conséquences sur les fonctions de reproduction (16–19,97), le système immunitaire ou la compétence vectorielle des tiques (75,101,102). De plus, en utilisant les méthodes de séquençage haut-débit, il a pu être montré que le microbiote est constitué de bien plus d'espèces que les seuls endosymbiotes primaires, espèces dont le rôle est loin d'être élucidé.

Dans notre étude, nous avons décidé de nous concentrer sur certains membres du microbiote de la tique *Ornithodoros moubata*. Comme mentionné en première partie de ce manuscrit, *O. moubata* possède principalement deux endosymbiotes primaires, à savoir *Francisella*-like endosymbiotes (FLE) et *Rickettsia*, FLE étant l'espèce en charge de la fonction nutritive (14). Ici, nous avons choisi d'éliminer ces deux espèces afin d'évaluer l'effet de cette dysbiose sur les traits d'histoire de vie de la tique.

En se basant sur la littérature présentée en PARTIE II, nous avons sélectionné un protocole basé sur un traitement antibiotique dans le repas sanguin (14,16,18,107). Chez la plupart des tiques dures, le repas sanguin doit être réalisé directement sur un hôte vertébré pour obtenir un gorgement

satisfaisant. Au contraire, d'excellents résultats sont obtenus chez *Ornithodoros moubata* en utilisant un gorgement artificiel, nous permettant facilement de modifier la composition du repas sanguin. Le protocole utilisé par Duron *et al.* (14) a été choisi et adapté à notre étude. Une autre option aurait été de réaliser des micro-injections d'antibiotique directement dans les tiques adultes vivantes (16–19,97,107). Si cette méthode est extrêmement efficace en terme de précision du traitement antibiotique, elle reste néanmoins hautement traumatique pour les tiques et n'est pas adaptée aux espèces de tiques molles.

Le choix des molécules antibiotiques à utiliser a été réalisé en se basant sur les espèces cibles identifiées par Duron *et al.* par séquençage de tiques de la lignée *O. moubata* du CIRAD (14). En se basant sur ces résultats, nous avons choisi d'utiliser la rifampicine, qui cible à la fois *Rickettsia* et FLE, et la gentamycine, pour laquelle la plupart des souches de *Rickettsia* sont résistantes alors que les *Francisella* y sont sensibles. D'autres molécules telles que la kanamycine et la tétracycline ont été éliminées en raison de leur potentielle toxicité pour les arthropodes (17,82). Enfin, la complémentation en vitamines a été choisie pour apporter les vitamines B essentielles à la physiologie des tiques (riboflavine, acide folique et biotine) (14).

En utilisant ces conditions expérimentales, plusieurs résultats étaient attendus. Tout d'abord, l'élimination de *Francisella* seule après traitement gentamycine devait permettre d'évaluer le rôle de ce symbiote indépendamment de *Rickettsia* (pour laquelle des pistes de rôles pourront être apportées *via* le traitement rifampicine). Il est important de garder à l'esprit que le reste du microbiote n'a pas été suivi de manière détaillée et devra donc toujours être considéré comme pouvant participer aux effets observés. L'utilisation d'une complémentation en vitamines adresse un autre point essentiel. Lorsqu'un effet est observé sur les paramètres liés à la reproduction, il est important de vérifier si cet effet est annulé en complémentation avec la vitamine B. Cela signifierait alors que l'effet observé serait probablement lié au rôle nutritionnel des symbiotes. Au contraire, si l'effet n'est pas annulé lors de la complémentation en vitamines B, alors il est probablement lié à une action du symbiote sur la reproduction indépendante de la carence en vitamines B.

Dans un premier temps, l'efficacité des traitements antibiotiques sur les deux endosymbiotes ciblés a été évaluée par qPCR. Les résultats indiquaient une faible efficacité du traitement chez les nymphes de stade un dans les dix jours suivant le traitement. Tout d'abord, aucun effet du traitement antibiotique n'a été détecté sur les populations de *Rickettsia*. Ce résultat était attendu pour la gentamycine, les *Rickettsia* étant résistantes à cet antibiotique (112). Néanmoins, la rifampicine n'a pas permis non plus de diminuer la quantité de

*Rickettsia*. Une première hypothèse qui peut être avancée serait que les *Rickettsia* portées par la lignée d'*Ornithodoros moubata* du CIRAD auraient acquis un gène de résistance à la rifampicine (112). Une autre possibilité serait que la pression exercée par le traitement antibiotique n'était pas suffisante pour éliminer les *Rickettsia*, par exemple à cause d'une trop courte durée d'exposition, de la trop faible concentration du traitement ou d'un mode d'administration inapproprié.

De manière assez similaire, aucun des traitements antibiotiques n'a mené à l'élimination des *Francisella*-like endosymbionts pourtant censés être sensibles. Néanmoins, pour ce symbiote, il semblerait qu'un effet bactériostatique soit obtenu. En effet, lorsque nous comparons les résultats obtenus avec le groupe témoin sans traitement, nous observons que la concentration en *RpoB* après traitement reste stable dans le temps alors qu'elle augmente chez le groupe témoin. Cette observation vient appuyer l'idée que le traitement a probablement été insuffisant pour éliminer complètement le microbiote mais qu'il a néanmoins permis d'empêcher la croissance des FLE.

En parallèle de ces résultats, nous avons obtenu des données concernant l'effet du repas sanguin sur la taille des populations bactériennes. En effet, que ce soit pour *Francisella* ou pour *Rickettsia*, une augmentation significative de la quantité d'ADN bactérien a été noté sur les 10 jours suivant le repas sanguin. Ce processus a déjà été observé chez d'autres espèces, notamment chez *Midichloria mitochondrii*, principal endosymbiote de la tique dure *Ixodes ricinus*, dont les abondances augmentaient très significativement après le repas sanguin chez les larves, nymphes et femelles adultes (113). Il apparaît également dans notre étude que la quantité d'ADN de l'actine associé à la tique suit une évolution similaire sur la même période. Cela suggère que le repas sanguin constitue une période de très forte activité métabolique avec de nombreuses divisions cellulaires. Cette observation est à relier au processus de mue qui prend place 10,5 jours après le repas sanguin [ET : 1,06] (données non publiées). *Francisella* et *Rickettsia* étant des bactéries intracellulaires, il est possible qu'elles tirent avantage de cette augmentation du métabolisme pour leur propre croissance comme rapporté chez d'autres espèces (114).

Pour résumer, les résultats de qPCR nous poussent à être extrêmement prudents quant à l'interprétation des résultats du suivi de reproduction. En effet, il apparaît ici que les traitements antibiotiques n'ont pas permis d'éliminer complètement le microbiote. Les effets observés ici pourraient néanmoins être améliorés en augmentant les dosages utilisés ou, plus probablement par la réalisation de plusieurs traitements successifs (14). L'efficacité du traitement sera donc à réévaluer après analyse des nymphes collectées à 15 et 30 jours post-traitement.

Comme pour les nymphes, les tiques adultes ont reçu trois traitements différents lors du repas sanguin (gentamycine, rifampicine ou eau Milli-Q pour le groupe témoin) en présence ou en absence de vitamines.

Si on analyse dans un premier temps les effets liés uniquement aux traitements antibiotiques, aucun effet n'a pu être détecté sur les paramètres liés à la reproduction suite au premier traitement. Il est difficile de déterminer si cela est dû au fait que le microbiote n'est effectivement pas impliqué dans la reproduction chez *Ornithodoros moubata* ou si cela est lié au fait que le traitement mis en place n'était pas suffisant pour modifier le microbiote. Néanmoins, il a été observé que le groupe témoin présentait une mortalité significativement supérieure à celle des groupes traités avec des antibiotiques. Ce résultat surprenant nous pousse à considérer le coût que peut avoir un endosymbiote sur la fitness de l'arthropode (115). Par exemple, il est possible d'envisager que les *Francisella* assurent une fonction essentielle sur le long terme (à savoir assurer l'apport en nutriments essentiels et éviter une carence) mais un coût à court terme (mortalité augmentée pendant la ponte).

Dans le cadre de notre schéma expérimental, l'effet des antibiotiques ne doit pas être considéré seul. En effet, plusieurs effets intéressants sont également à noter en lien avec la complémentation en vitamines B. Ces tendances ne sont pas suffisamment prononcées pour être validées statistiquement, néanmoins, elles demeurent essentielles à considérer. D'après nos observations, la complémentation en vitamines B a tendance à être associée à une diminution du temps pour l'ovogénèse, une augmentation du taux de succès de la ponte et une légère augmentation du taux de succès de métamorphose entre le stade larvaire et le premier stade nymphal. Ces observations sont en accord avec l'idée que les vitamines B sont essentielles pour le développement de la tique et permettent d'améliorer les paramètres liés à la reproduction et à la métamorphose (14,40). Ceci soutient l'importance des endosymbiotes nutritionnels comme les FLE.

Si l'on regarde plus précisément les résultats issus du deuxième repas sanguin, deux éléments principaux peuvent être soulignés. Le premier est la précision de l'effet observé sur la mortalité des tiques. Il apparaît ici que le groupe témoin est effectivement associé à une mortalité supérieure au groupe traité à la gentamycine, venant renforcer l'hypothèse du coût des endosymbiotes. Cependant, cette fois-ci, le groupe traité à la rifampicine est lui aussi affecté par cette mortalité conséquente. Une hypothèse envisageable pourrait être la sélection de souches microbiennes résistantes à la rifampicine suite au premier traitement, souches qui ne sont donc que peu affectées lors du deuxième traitement, menant à une situation similaire à celle du groupe témoin.

Une autre explication pourrait être liée à une potentielle toxicité de la rifampicine pour la tique, toxicité dont les effets augmenteraient avec la dose administrée et apparaîtraient donc plus fortement après le deuxième gorgement. Le rôle des vitamines dans ce processus est en revanche toujours difficile à établir.

Le deuxième élément apporté par ce second traitement concerne les autres paramètres de la reproduction. Comme précédemment, aucun effet ne peut être clairement établi au vu des résultats. Les tendances observées précédemment concernant l'apport de vitamines ne sont pas confirmées ni infirmées et les rares effets significatifs (temps d'incubation des œufs et temps nécessaire pour la métamorphose) sont des variations de faible amplitude. S'il est difficile de conclure sur les données concernant le temps d'incubation des œufs, celle sur le temps nécessaire pour la métamorphose sont plus orientées avec un délai plus long pour le groupe traité à la rifampicine. Comme suggéré par la littérature, les endosymbiotes jouent un rôle essentiel lors des étapes de métamorphose et ce résultat semble être orienté dans ce sens (14). Au vu des réserves émises précédemment, il est néanmoins nécessaire de rester prudent sur l'interprétation de ce type de variations.

Il faut à présent rappeler que notre étude se basait sur un article précédemment publié par Duron *et al.* (14). Deux différences majeures sont à noter entre les deux études. Tout d'abord Duron *et al.* ont utilisé six traitements successifs en débutant avec des nymphes de stade un. Dans notre étude, seuls deux traitements successifs ont été réalisés. Il est important de noter que chez *Ornithodoros moubata*, la vitellogénèse débute lors des derniers stades nymphaux (28), ce qui suggère que le rôle potentiel du microbiote pour la fonction de reproduction peut avoir déjà eu lieu avant le stade adulte. Afin de vérifier cette hypothèse, des traitements antibiotiques vont être réalisés sur des nymphes de stade un, obtenues à partir de cette expérience afin d'évaluer le rôle du microbiote lors des stades précoces de développement.

Le repas sanguin et la reproduction demeurent néanmoins également des étapes essentielles de la vitellogénèse (116) et la plupart des études réalisées sur la reproduction des tiques ciblent directement des femelles adultes (16–19,97). Des paramètres tels que le nombre d'œufs déposés dépendent directement de la qualité du repas sanguin. De plus, comme démontré ici et dans de précédentes études (114), les populations d'endosymbiotes ont tendance à fortement croître juste après le repas sanguin, renforçant l'hypothèse selon laquelle ils jouent probablement un rôle clé pendant ou après le repas sanguin. Idéalement, utiliser des lignées de tiques « germ-free » lors du repas sanguin permettrait d'apporter des éléments de réponse sur ce point. De telles lignées sont malheureusement



pratiquement impossibles à maintenir chez les tiques et le traitement antibiotique reste actuellement notre meilleur outil pour étudier les effets du microbiote.

Lorsqu'on jette un coup d'œil à la littérature sur le rôle des endosymbiotes pour la reproduction chez les tiques, plusieurs études rapportent des effets associés à l'élimination des *Coxiella* like-endosymbionts (CLE) chez les tiques dures. Parmi ces effets, on retrouve une diminution du nombre d'œufs pondus (16,18), une augmentation du temps d'incubation des œufs (17), une baisse du succès d'éclosion (16–18) et une baisse du succès de la première métamorphose (19). Il est intéressant de noter qu'aucun effet n'a été rapporté pour *Rickettsia* (97) ou pour les FLE. C'est d'autant plus surprenant que ces trois symbiotes assurent un rôle nutritionnel similaire (synthèse de vitamine B). A ce stade, il faut envisager que les CLE puissent être les seuls symbiotes de tiques qui assurent à la fois la synthèse de vitamine B, tout en améliorant la fitness reproductive chez la tique, menant cette bactérie à rester le principal symbiote qu'on retrouve chez les tiques.

Malheureusement, cette étude et le design expérimental établi ne nous ont pas permis d'apporter des preuves du rôle des *Francisella*-like endosymbionts ou des *Rickettsia* pour la fonction de reproduction chez *O. moubata*. Néanmoins, notre étude met en évidence quelques tendances associées avec la présence ou l'absence de ces bactéries (augmentation des populations de symbiotes après le repas sanguin, coût sur la fitness...). Ces résultats seront complétés par des expériences futures utilisant des traitements antibiotiques tout au long de la croissance des tiques dès les premiers stades nymphaux. De plus, le rôle du microbiote sur la compétence vectorielle d'*Ornithodoros moubata* sera aussi considéré, cette tique jouant un rôle dans l'épidémiologie du virus de la peste porcine africaine.

Pour finir, il convient de se rappeler qu'élucider le rôle du microbiote est une tâche difficile. Les traitements antibiotiques constituent un outil puissant dans ce cadre, mais les protocoles doivent être constamment ajustés suivant le vecteur étudié, la composition du microbiote et sa sensibilité au traitement. Cette méthode peut être complétée avec du séquençage haut débit dans le but de considérer l'entièreté du microbiote de la tique.

## Conclusion

Les tiques molles du genre *Ornithodoros* constituent un vecteur d'agents pathogènes souvent peu étudié comparé aux tiques dures. Néanmoins, la propagation de la peste porcine africaine en Europe et en Asie a remis au goût du jour les questions concernant la compétence vectorielle et l'écologie de ces tiques.

Comme exposé dans cette étude, la compétence vectorielle et plusieurs autres traits physiologiques de la tique peuvent être influencés par son microbiote. Etudier le rôle du microbiote chez les arthropodes hématophages est une tâche complexe pour laquelle peu d'outils sont disponibles. L'utilisation de traitements antibiotiques permet d'initier ce type d'études et d'élucider, en partie, le rôle des symbiotes bactériens.

La présente étude se focalise sur le rôle du microbiote sur certains paramètres physiologiques de la tique *Ornithodoros moubata*. En se basant sur la littérature, un protocole basé sur deux traitements antibiotiques successifs dans le repas sanguin a été mis en place dans le but d'éliminer les endosymbiotes primaires. Les paramètres liés à la reproduction chez la tique ont ensuite été suivis afin d'évaluer le rôle du microbiote pour cette fonction. Une complémentation en vitamines B a également été utilisée afin de prendre en compte le rôle nutritionnel du microbiote.

Les expériences réalisées ici n'ont pas permis d'éliminer complètement les endosymbiotes ciblés. Malgré cela, les résultats obtenus permettent de relever plusieurs éléments clés associés au microbiote chez *Ornithodoros moubata*, notamment la forte croissance bactérienne juste après le repas sanguin et le coût potentiel des symbiotes pour la fitness de la tique au moment de la période de reproduction.

Finalement, cette étude constituera un point de départ pour la suite du travail de recherche à effectuer sur le microbiote d'*Ornithodoros moubata*. Les prochaines étapes visant à élucider le rôle de ce microbiote incluront, entre autres, le suivi du développement des descendants issus du traitement antibiotique et l'étude de la compétence vectorielle chez la tique.

## Références

1. Otranto D. Arthropod-borne pathogens of dogs and cats: from pathways and times of transmission to disease control. *Vet Parasitol.* 2018 ; 251:68-77.
2. Genta FA, Diaz-Albiter HM, Salgueiro P, Gomes B. Control of vector-borne human parasitic diseases. *BioMed Res Int.* 2016 ; 2016:1014805.
3. World Health Organization. Vector-borne diseases. *World Health Organization.* 2020 ; Disponible sur: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>
4. Stone BL, Tourand Y, Brissette CA. Brave new worlds: the expanding universe of lyme disease. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2017 ; 17(9):619-29.
5. Dennison NJ, Jupatanakul N, Dimopoulos G. The mosquito microbiota influences vector competence for human pathogens. *Curr Opin Insect Sci.* 2014 ; 3:6-13.
6. Jiménez-Cortés JG, García-Contreras R, Bucio-Torres MI, Cabrera-Bravo M, Córdoba-Aguilar A, Benelli G, *et al.* Bacterial symbionts in human blood-feeding arthropods: patterns, general mechanisms and effects of global ecological changes. *Acta Trop.* 2018 ; 186:69-101.
7. Jori F, Vial L, Penrith ML, Pérez-Sánchez R, Etter E, Albina E, *et al.* Review of the sylvatic cycle of African swine fever in sub-Saharan Africa and the Indian ocean. *Virus Res.* 2013 ; 173(1):212-27.
8. Sánchez-Vizcaíno JM, Mur L, Bastos ADS, Penrith ML. New insights into the role of ticks in African swine fever epidemiology. *Rev Sci Tech Int Off Epizoot.* 2015 ; 34(2):503-11.
9. Dixon LK, Stahl K, Jori F, Vial L, Pfeiffer DU. African swine fever epidemiology and control. *Annu Rev Anim Biosci.* 2020 ; 8:221-46.
10. Anderson EC, Hutchings GH, Mukarati N, Wilkinson PJ. African swine fever virus infection of the bushpig (*Potamochoerus porcus*) and its significance in the epidemiology of the disease. *Vet Microbiol.* 1998 ; 62(1):1-15.
11. Haresnape JM, Wilkinson PJ, Mellor PS. Isolation of African swine fever virus from ticks of the *Ornithodoros moubata* complex (*Ixodoidea: Argasidae*) collected within the African swine fever enzootic area of Malawi. *Epidemiol Infect.* 1988 ; 101(1):173-85.
12. Plowright W, Parker J, Peirce MA. African swine fever virus in ticks (*Ornithodoros moubata*, *murray*) collected from animal burrows in Tanzania. *Nature.* 1969 ; 221(5185):1071-3.
13. Narasimhan S, Fikrig E. Tick microbiome: the force within. *Trends Parasitol.* 2015 ; 31(7):315-23.
14. Duron O, Morel O, Noël V, Buysse M, Binetruy F, Lancelot R, *et al.* Tick-bacteria mutualism depends on B vitamin synthesis pathways. *Curr Biol.* 2018 ; 28(12):1896-1902.e5.
15. Rio RVM, Attardo GM, Weiss BL. Grandeur alliances: Symbiont metabolic integration and obligate arthropod hematophagy. *Trends Parasitol.* 2016 ; 32(9):739-49.
16. Guizzo MG, Parizi LF, Nunes RD, Schama R, Albano RM, Tirloni L, *et al.* A *Coxiella* mutualist symbiont is essential to the development of *Rhipicephalus microplus*. *Sci Rep.* 2017 ; 7.

17. Li L-H, Zhang Y, Zhu D. Effects of antibiotic treatment on the fecundity of *Rhipicephalus haemaphysaloides* ticks. *Parasit Vectors*. 2018 ; 11.
18. Zhang C-M, Li N-X, Zhang T-T, Qiu Z-X, Li Y, Li L-W, *et al.* Endosymbiont CLS-HI plays a role in reproduction and development of *Haemaphysalis longicornis*. *Exp Appl Acarol*. 2017 ; 73(3-4):429-38.
19. Zhong J, Jasinskas A, Barbour AG. Antibiotic Treatment of the tick vector *Amblyomma americanum* reduced reproductive fitness. *PLoS ONE*. 2007 ; 2(5).
20. Guglielmone AA, Robbins RG, Apanaskevich D, Petney T, Estrada-Peña A, Horak I, *et al.* The *Argasidae*, *Ixodidae* and *Nuttalliellidae* (*Acari: Ixodida*) of the world: A list of valid species names. *Exp Appl Acarol*. 2010 ; 28:27-54.
21. Bakkes DK, De Klerk D, Latif AA, Mans BJ. Integrative taxonomy of Afrotropical *Ornithodoros* (*Ornithodoros*) (*Acari: Ixodida: Argasidae*). *Ticks Tick-Borne Dis*. 2018 ; 9(4):1006-37.
22. Nava S, Guglielmone AA, Mangold AJ. An overview of systematics and evolution of ticks. *Front Biosci*. 2009 ; 14(8):2857-77.
23. Black WC, Piesman J. Phylogeny of hard- and soft-tick taxa (*Acari: Ixodida*) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 ; 91(21):10034-8.
24. Estrada-Pena A, Mangold AJ, Nava S, Venzal JM, Labruna M, Guglielmone AA. A review of the systematics of the tick family *Argasidae* (*Ixodida*). *Acarologia*. 2010 ; 50(3):317-33.
25. Vial L. Biological and ecological characteristics of soft ticks (*Ixodida: Argasidae*) and their impact for predicting tick and associated disease distribution. *Parasite Paris Fr*. 2009 ; 16(3):191-202.
26. Hoogstraal H. Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Adv Parasitol*. 1985 ; 24:135-238.
27. Olmedo FF, Estrada-Pena A, Espuny JC. Variations in the size and weight of adults of *Ornithodoros maroccanus Velu* (*Acari, Argasidae*), according nymphal blood intake. *Acarologia*. 1995 ; 36(3):195-201.
28. Sonenshine DE, Roe RM. *Biology of ticks*. Oxford University Press. 1991 ; Vol. I.
29. Sonenshine DE, Roe RM. *Biology of ticks*. Oxford University Press. 2014 ; Vol. II.
30. Connat J-L, Ducommun J, Diehl P, Aeschlimann A. Some aspects of the control of the gonotrophic cycle in the tick *Ornithodoros moubata* (*Ixodoidea, Argasidae*). *Morphology, Physiology, and Behavioral Biology of Ticks*. 1986 ; 7:165-193.
31. Farkas R, Estrada-Peña A, Jaenson TGT, Pascucci I, Madder M. Basic biology and geographical distribution of tick species involved in the transmission of animal pathogens, including zoonoses. *Ticks and tick-borne diseases; geographical distribution and control strategies in the Euro-Asian region*. 2012 ; 1:6-28.
32. Duvallet G, Fontenille D, Robert V. *Entomologie médicale et vétérinaire*. Editions Quæ et IRD. 2017.

33. Donaldson TG, Pèrez de León AA, Li AI, Castro-Arellano I, Wozniak E, Boyle WK, *et al.* Assessment of the geographic distribution of *Ornithodoros turicata* (Argasidae): climate variation and host diversity. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016 ; 10(2):e0004383.
34. Peirce MA. Distribution and ecology of *Ornithodoros moubata porcinus* Walton (Acarina) in animal burrows in East Africa. *Bull Entomol Res.* 1974 ; 64(4):605-19.
35. Cumming GS, Van Vuuren DP. Will climate change affect ectoparasite species ranges? *Glob Ecol Biogeogr.* 2006 ; 15(5):486-97.
36. Vial L, Ducheyne E, Filatov S, Gerilovych A, McVey DS, Sindryakova I, *et al.* Spatial multi-criteria decision analysis for modelling suitable habitats of *Ornithodoros* soft ticks in the Western Palearctic region. *Vet Parasitol.* 2018 ; 249:2-16.
37. Kleiboeker SB, Burrage TG, Scoles GA, Fish D, Rock DL. African swine fever virus infection in the argasid host, *Ornithodoros porcinus porcinus*. *J Virol.* 1998 ; 72(3):1711-24.
38. Kim HJ, Krishnavajhala A, Armstrong BA, Pérez de León AA, Filatov S, Teel PD, *et al.* Humoral immune response of pigs, *Sus scrofa domesticus*, upon repeated exposure to blood-feeding by *Ornithodoros turicata* Duges (Ixodida: Argasidae). *Parasit Vectors.* 2020 ; 13(1):66.
39. Bonnet SI, Binetruy F, Hernández-Jarguín AM, Duron O. The tick microbiome: why non-pathogenic microorganisms matter in tick biology and pathogen transmission. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017 ; 7:236.
40. Duron O, Gottlieb Y. Convergence of nutritional symbioses in obligate blood feeders. *Trends Parasitol.* 2020 ; 36(10):816-25.
41. Barraza-Guerrero S, Meza-Herrera CA, Garcia-De La Peña C, Gonzalez-Alvarez V, Vaca-Paniagua F, Díaz-Velásquez C, *et al.* General microbiota of the soft tick *Ornithodoros turicata* parasitizing the Bolson tortoise (*Gopherus flavomarginatus*) in the Mapimi Biosphere Reserve, Mexico. *Biology.* 2020 ; 9:275.
42. Duron O, Binetruy F, Noël V, Cremaschi J, McCoy KD, Arnathau C, *et al.* Evolutionary changes in symbiont community structure in ticks. *Mol Ecol.* 2017 ; 26(11):2905-21.
43. Lejal E, Chiquet J, Aubert J, Robin S, Estrada-Peña A, Rue O, *et al.* Temporal patterns in *Ixodes ricinus* microbial communities: an insight into tick-borne microbe interactions. *Microbiome.* 2021 ; 9(1):153.
44. Randolph SE, Gern L, Nuttall PA. Co-feeding ticks: Epidemiological significance for tick-borne pathogen transmission. *Parasitol Today Pers Ed.* 1996 ; 12(12):472-9.
45. Mans BJ, Steinmann CML, Venter JD, Louw AI, Neitz AWH. Pathogenic mechanisms of sand tampan toxicoses induced by the tick, *Ornithodoros savignyi*. *Toxicon Off J Int Soc Toxinology.* 2002 ; 40(7):1007-16.
46. Reck J, Marks FS, Guimarães JA, Termignoni C, Martins JR. Epidemiology of *Ornithodoros brasiliensis* (mouro tick) in the southern Brazilian highlands and the description of human and animal retrospective cases of tick parasitism. *Ticks Tick-Borne Dis.* 2013 ; 4(1-2):101-9.

47. Achenbach JE, Gallardo C, Nieto-Pelegrín E, Rivera-Arroyo B, Degefa-Negi T, Arias M, *et al.* Identification of a new genotype of African swine fever virus in domestic pigs from Ethiopia. *Transbound Emerg Dis.* 2017 ; 64(5):1393-404.
48. Thomson GR, Gainaru MD, Van Dellen AF. Experimental infection of warthos (*Phacochoerus aethiopicus*) with African swine fever virus. *Onderstepoort J Vet Res.* 1980 ; 47(1):19-22.
49. Blome S, Franzke K, Beer M. African swine fever - A review of current knowledge. *Virus Res.* 2020 ; 287:198099.
50. Galindo I, Alonso C. African swine fever virus: A Review. *Viruses.* 2017 ; 9(5):E103.
51. Turčinavičienė J, Petrašiūnas A, Bernotienė R, Masiulis M, Jonušaitis V. The contribution of insects to African swine fever virus dispersal: data from domestic pig farms in Lithuania. *Med Vet Entomol.* 2021 ; 35(3):484-9.
52. Kleiboeker SB, Scoles GA, Burrage TG, Sur J. African swine fever virus replication in the midgut epithelium is required for infection of *Ornithodoros* ticks. *J Virol.* 1999 ; 73(10):8587-98.
53. Plowright W, Perry CT, Peirce MA, Parker J. Experimental infection of the argasid tick, *Ornithodoros moubata porcinus*, with African swine fever virus. *Arch Gesamte Virusforsch.* 1970 ; 31(1):33-50.
54. Hess WR, Endris RG, Lousa A, Caiado JM. Clearance of African swine fever virus from infected tick (*Acari*) colonies. *J Med Entomol.* 1989 ; 26(4):314-7.
55. Greig A. The localization of African swine fever virus in the tick *Ornithodoros moubata porcinus*. *Arch Gesamte Virusforsch.* 1972 ; 39(1):240-7.
56. Endris RG, Hess WR. Attempted transovarial and venereal transmission of African swine fever virus by the Iberian soft tick *Ornithodoros (Pavlovskyella) maroccanus (Acari: Ixodoidea: Argasidae)*. *J Med Entomol.* 1994 ; 31(3):373-81.
57. Plowright W, Perry CT, Greig A. Sexual transmission of African swine fever virus in the tick, *Ornithodoros moubata porcinus*, Walton. *Res Vet Sci.* 1974 ; 17(1):106-13.
58. Rennie L, Wilkinson PJ, Mellor PS. Transovarial transmission of African swine fever virus in the argasid tick *Ornithodoros moubata*. *Med Vet Entomol.* 2001 ; 15(2):140-6.
59. Burgdorfer W, Varma MG. Trans-stadial and transovarial development of disease agents in arthropods. *Annu Rev Entomol.* 1967 ; 12:347-76.
60. Pereira De Oliveira R, Hutet E, Duhayon M, Paboeuf F, Le Potier M-F, Vial L. No experimental evidence of co-feeding transmission of African swine fever virus between *Ornithodoros* soft ticks. *Pathog Basel Switz.* 2020 ; 9(3):E168.
61. Rennie L. The persistence of African swine fever virus in the argasid tick *Ornithodoros moubata*. [Ph.D.] *University of Herfordshire.* 1998.
62. Rebaudet S, Parola P. Epidemiology of relapsing fever borreliosis in Europe. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006 ; 48(1):11-5.

63. Cutler SJ, Abdissa A, Trape J-F. New concepts for the old challenge of African relapsing fever borreliosis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2009 ; 15(5):400-6.
64. Spach DH, Liles WC, Campbell GL, Quick RE, Anderson DE, Fritsche TR. Tick-borne diseases in the United States. *N Engl J Med*. 1993 ; 329(13):936-47.
65. Schwan TG, Piesman J. Vector interactions and molecular adaptations of lyme disease and relapsing fever spirochetes associated with transmission by ticks. *Emerg Infect Dis*. 2002 ; 8(2):115-21.
66. Talagrand-Reboul E, Boyer PH, Bergström S, Vial L, Boulanger N. Relapsing fevers: neglected tick-borne diseases. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018 ; 8:98.
67. Teglas MB, Drazenovich NL, Stott J, Foley JE. The geographic distribution of the putative agent of epizootic bovine abortion in the tick vector, *Ornithodoros coriaceus*. *Vet Parasitol*. 2006 ; 140(3-4):327-33.
68. Duron O, Sidi-Boumedine K, Rousset E, Moutailler S, Jourdain E. The importance of ticks in Q fever transmission: what has (and has not) been demonstrated? *Trends Parasitol*. 2015 ; 31(11):536-52.
69. Whitman L, Aitken TH. Potentiality of *Ornithodoros moubata* Murray (Acarina, Argasidae) as a reservoir vector of West Nile Virus. *Ann Trop Med Parasitol*. 1960 ; 54:192-204.
70. Lawrie CH, Uzcátegui NY, Gould EA, Nuttall PA. Ixodid and Argasid Tick Species and West Nile Virus. *Emerg Infect Dis*. 2004 ; 10(4):653-7.
71. Chastel C, Main AJ, Guiguen C, le Lay G, Quillien MC, Monnat JY, et al. The isolation of Meaban virus, a new *Flavivirus* from the seabird tick *Ornithodoros (Alectorobius) maritimus* in France. *Arch Virol*. 1985 ; 83(3-4):129-40.
72. Keirans JE, Yunker CE, Clifford CM, Thomas LA, Walton GA, Kelly TC. Isolation of a Soldado-like virus (Hughes group) from *Ornithodoros maritimus* ticks in Ireland. *Experientia*. 1976 ; 32(4):453-4.
73. Battsetseg B, Matsuo T, Xuan X, Boldbaatar D, Chee SH, Umemiya R, et al. *Babesia* parasites develop and are transmitted by the non-vector soft tick *Ornithodoros moubata* (Acari: Argasidae). *Parasitology*. 2007 ; 134(Pt 1):1-8.
74. Zhao L, Wang J, Ding Y, Li K, He B, Li F, et al. *Theileria ovis* (Piroplasmida: Theileriidae) detected in *Melophagus ovinus* (Diptera: Hippoboscoidea) and *Ornithodoros lahorensis* (Ixodida: Argasidae) removed from sheep in Xinjiang, China. *J Med Entomol*. 2020 ; 57(2):631-5.
75. Bonnet SI, Pollet T. Update on the intricate tango between tick microbiomes and tick-borne pathogens. *Parasite Immunol*. 2021 ; 43(5):e12813.
76. Romero S, Nastasa A, Chapman A, Kwong WK, Foster LJ. The honey bee gut microbiota: strategies for study and characterization. *Insect Mol Biol*. 2019 ; 28(4):455-72.
77. Ye YH, Seleznev A, Flores HA, Woolfit M, McGraw EA. Gut microbiota in *Drosophila melanogaster* interacts with *Wolbachia* but does not contribute to *Wolbachia*-mediated antiviral protection. *J Invertebr Pathol*. 2017 ; 143:18-25.

78. Wiegmann BM, Trautwein MD, Winkler IS, Barr NB, Kim J-W, Lambkin C, *et al.* Episodic radiations in the fly tree of life. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 ; 108(14):5690-5.
79. Gendrin M, Rodgers FH, Yerbanga RS, Ouédraogo JB, Basáñez M-G, Cohuet A, *et al.* Antibiotics in ingested human blood affect the mosquito microbiota and capacity to transmit malaria. *Nat Commun.* 2015 ; 6:5921.
80. Wang X, Liu T, Wu Y, Zhong D, Zhou G, Su X, *et al.* Bacterial microbiota assemblage in *Aedes albopictus* mosquitoes and its impacts on larval development. *Mol Ecol.* 2018 ; 27(14):2972-85.
81. Pennington MJ, Prager SM, Walton WE, Trumble JT. *Culex quinquefasciatus* larval microbiomes vary with instar and exposure to common wastewater contaminants. *Sci Rep.* 2016 ; 6:21969.
82. Coon KL, Brown MR, Strand MR. Mosquitoes host communities of bacteria that are essential for development but vary greatly between local habitats. *Mol Ecol.* 2016 ; 25(22):5806-26.
83. Raymann K, Shaffer Z, Moran NA. Antibiotic exposure perturbs the gut microbiota and elevates mortality in honeybees. *PLoS Biol.* 2017 ; 15(3):e2001861.
84. Guégan M, Minard G, Tran F-H, Tran Van V, Dubost A, Valiente Moro C. Short-term impacts of anthropogenic stressors on *Aedes albopictus* mosquito vector microbiota. *FEMS Microbiol Ecol.* 2018 ; 94(12).
85. Hughes GL, Dodson BL, Johnson RM, Murdock CC, Tsujimoto H, Suzuki Y, *et al.* Native microbiome impedes vertical transmission of *Wolbachia* in *Anopheles* mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 ; 111(34):12498-503.
86. Rossi P, Ricci I, Cappelli A, Damiani C, Ulissi U, Mancini MV, *et al.* Mutual exclusion of *Asaia* and *Wolbachia* in the reproductive organs of mosquito vectors. *Parasit Vectors.* 2015 ; 8:278.
87. Dong Y, Manfredini F, Dimopoulos G. Implication of the mosquito midgut microbiota in the defense against malaria parasites. *PLoS Pathog.* 2009 ; 5(5).
88. Kalappa DM, Subramani PA, Basavanna SK, Ghosh SK, Sundaramurthy V, Uragayala S, *et al.* Influence of midgut microbiota in *Anopheles stephensi* on *Plasmodium berghei* infections. *Malar J.* 2018 ; 17(1):385.
89. Boissière A, Tchioffo MT, Bachar D, Abate L, Marie A, Nsango SE, *et al.* Midgut microbiota of the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae* and interactions with *Plasmodium falciparum* infection. *PLoS Pathog.* 2012 ; 8(5):e1002742.
90. Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, Lu G, Pyke AT, Hedges LM, *et al.* A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, Chikungunya, and *Plasmodium*. *Cell.* 2009 ; 139(7):1268-78.
91. Dutra HLC, Rocha MN, Dias FBS, Mansur SB, Caragata EP, Moreira LA. *Wolbachia* blocks currently circulating Zika virus isolates in Brazilian *Aedes aegypti* mosquitoes. *Cell Host Microbe.* 2016 ; 19(6):771-4.
92. Wu P, Sun P, Nie K, Zhu Y, Shi M, Xiao C, *et al.* A gut commensal bacterium promotes mosquito permissiveness to arboviruses. *Cell Host Microbe.* 2019 ; 25(1):101-112.e5.



93. Louradour I, Monteiro CC, Inbar E, Ghosh K, Merkhofer R, Lawyer P, *et al.* The midgut microbiota plays an essential role in sand fly vector competence for *Leishmania major*. *Cell Microbiol.* 2017 ; 19(10).
94. Kelly PH, Bahr SM, Serafim TD, Ajami NJ, Petrosino JF, Meneses C, *et al.* The gut microbiome of the vector *Lutzomyia longipalpis* is essential for survival of *Leishmania infantum*. *mBio.* 2017 ; 8(1).
95. Dey R, Joshi AB, Oliveira F, Pereira L, Guimarães-Costa AB, Serafim TD, *et al.* Gut microbes egested during bites of infected sand flies augment severity of leishmaniasis via inflammasome-derived IL-1 $\beta$ . *Cell Host Microbe.* 2018 ; 23(1):134-143.e6.
96. Husnik F. Host-symbiont-pathogen interactions in blood-feeding parasites: nutrition, immune cross-talk and gene exchange. *Parasitology.* 2018 ; 145(10):1294-303.
97. Kurlovs AH, Li J, Cheng D, Zhong J. *Ixodes pacificus* ticks maintain embryogenesis and egg hatching after antibiotic treatment of *Rickettsia* endosymbiont. *PLoS ONE.* 2014 ; 9(8).
98. Kwan JY, Griggs R, Chicana B, Miller C, Swei A. Vertical vs. horizontal transmission of the microbiome in a key disease vector, *Ixodes pacificus*. *Mol Ecol.* 2017 ; 26(23):6578-89.
99. Scolari F, Attardo GM, Aksoy E, Weiss B, Savini G, Takac P, *et al.* Symbiotic microbes affect the expression of male reproductive genes in *Glossina m. morsitans*. *BMC Microbiol.* 2018 ; 18(Suppl 1):169.
100. Engl T, Michalkova V, Weiss BL, Uzel GD, Takac P, Miller WJ, *et al.* Effect of antibiotic treatment and gamma-irradiation on cuticular hydrocarbon profiles and mate choice in tsetse flies (*Glossina m. morsitans*). *BMC Microbiol.* 2018 ; 18(Suppl 1):145.
101. Narasimhan S, Rajeevan N, Liu L, Zhao YO, Heisig J, Pan J, *et al.* Gut microbiota of the tick vector *Ixodes scapularis* modulate colonization of the Lyme disease spirochete. *Cell Host Microbe.* 2014 ; 15(1):58-71.
102. Gall CA, Reif KE, Scoles GA, Mason KL, Mousel M, Noh SM, *et al.* The bacterial microbiome of *Dermacentor andersoni* ticks influences pathogen susceptibility. *ISME J.* 2016 ; 10(8):1846-55.
103. Mansfield KL, Jizhou L, Phipps LP, Johnson N. Emerging tick-borne viruses in the twenty-first century. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017 ; 7:298.
104. Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet Lond Engl.* 2008 ; 371(9627):1861-71.
105. Bonnet S, Liu X. Laboratory artificial infection of hard ticks: a tool for the analysis of tick-borne pathogen transmission. *Acarologia.* 2012 ; 52(4):453-64.
106. Schinaman JM, Rana A, Ja WW, Clark RI, Walker DW. Rapamycin modulates tissue aging and lifespan independently of the gut microbiota in *Drosophila*. *Sci Rep.* 2019 ; 9(1):7824.
107. Ninio C, Plantard O, Serra V, Pollera C, Ferrari N, Cafiso A, *et al.* Antibiotic treatment of the hard tick *Ixodes ricinus*: Influence on *Mitochondria* load following blood meal. *Ticks Tick-Borne Dis.* 2015 ; 6(5):653-7.

108. Clayton KA, Gall CA, Mason KL, Scoles GA, Brayton KA. The characterization and manipulation of the bacterial microbiome of the Rocky Mountain wood tick, *Dermacentor andersoni*. *Parasit Vectors*. 2015 ; 8:632.
109. Team R. A language and environment for statistical computing. *Computing*. 2006 ; 1.
110. Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw*. 2015 ; 67(1):1-48.
111. Greay TL, Gofton AW, Papparini A, Ryan UM, Oskam CL, Irwin PJ. Recent insights into the tick microbiome gained through next-generation sequencing. *Parasit Vectors*. 2018 ; 11(1):12.
112. Vanrompay D, Nguyen TLA, Cutler SJ, Butaye P. Antimicrobial resistance in *Chlamydiales*, *Rickettsia*, *Coxiella*, and other intracellular pathogens. *Microbiol Spectr*. 2018 ; 6(2).
113. Daveu R, Laurence C, Bouju-Albert A, Sassera D, Plantard O. Symbiont dynamics during the blood meal of *Ixodes ricinus* nymphs differ according to their sex. *Ticks Tick-Borne Dis*. 2021 ; 12(4):101707.
114. Sassera D, Lo N, Bouman EAP, Epis S, Mortarino M, Bandi C. « *Candidatus Midichloria* » endosymbionts bloom after the blood meal of the host, the hard tick *Ixodes ricinus*. *Appl Environ Microbiol*. 2008 ; 74(19):6138-40.
115. Ankrah NYD, Chouaia B, Douglas AE. The cost of metabolic interactions in symbioses between insects and bacteria with reduced genomes. *mBio*. 2018 ; 9(5).
116. Horigane M, Shinoda T, Honda H, Taylor D. Characterization of a vitellogenin gene reveals two phase regulation of vitellogenesis by engorgement and mating in the soft tick *Ornithodoros moubata* (Acari: Argasidae). *Insect Mol Biol*. 2010 ; 19(4):501-15.



## Annexes

<i>O. acinus</i>	<i>O. darwini</i>	<i>O. kohlsi</i>	<i>O. rennellensis</i>
<i>O. alactagalis</i>	<i>O. delanoei</i>	<i>O. lahorensis</i>	<i>O. rioplatensis</i>
<i>O. amblus</i>	<i>O. denmarki</i>	<i>O. macmillani</i>	<i>O. rondoniensis</i>
<i>O. antiquus</i>	<i>O. dugesi</i>	<i>O. madagascariensis</i>	<i>O. rossi</i>
<i>O. apertus</i>	<i>O. dusbabeki</i>	<i>O. marinkellei</i>	<i>O. rostratus</i>
<i>O. aragaoi</i>	<i>O. dyeri</i>	<i>O. maritimus</i>	<i>O. rudis</i>
<i>O. arenicolous</i>	<i>O. eboris</i>	<i>O. marmosae</i>	<i>O. salahii</i>
<i>O. asperus</i>	<i>O. echimys</i>	<i>O. marocanus</i>	<i>O. savignyi</i>
<i>O. azteci</i>	<i>O. elongatus</i>	<i>O. mimon</i>	<i>O. sawaii</i>
<i>O. batuensis</i>	<i>O. eptesicus</i>	<i>O. mormoops</i>	<i>O. setosus</i>
<i>O. brasiliensis</i>	<i>O. eremicus</i>	<i>O. moubata</i>	<i>O. solomonis</i>
<i>O. brodyi</i>	<i>O. erraticus</i>	<i>O. muesebecki</i>	<i>O. sonrai</i>
<i>O. camicasi</i>	<i>O. faini</i>	<i>O. multisetosus</i>	<i>O. sparnus</i>
<i>O. canestrinii</i>	<i>O. foleyi</i>	<i>O. natalinus</i>	<i>O. spheniscus</i>
<i>O. capensis</i>	<i>O. fonsecai</i>	<i>O. nattereri</i>	<i>O. stageri</i>
<i>O. casebeerii</i>	<i>O. furcosus</i>	<i>O. nicollei</i>	<i>O. tadaridae</i>
<i>O. cheikhi</i>	<i>O. galapagensis</i>	<i>O. normandi</i>	<i>O. talaje</i>
<i>O. chironectes</i>	<i>O. graingeri</i>	<i>O. papuensis</i>	<i>O. tartakovskiyi</i>
<i>O. chiropterphila</i>	<i>O. grenieri</i>	<i>O. papillipes</i>	<i>O. tholozani</i>
<i>O. cholodkovskiyi</i>	<i>O. gurneyi</i>	<i>O. parkeri</i>	<i>O. tiptoni</i>
<i>O. clarki</i>	<i>O. hadiae</i>	<i>O. peringueyi</i>	<i>O. turicata</i>
<i>O. collocaliae</i>	<i>O. hasei</i>	<i>O. peroptyx</i>	<i>O. tuttlei</i>
<i>O. compactus</i>	<i>O. hermsi</i>	<i>O. peruvianus</i>	<i>O. vansomeri</i>
<i>O. concanensis</i>	<i>O. indica</i>	<i>O. peusi</i>	<i>O. verrucosus</i>
<i>O. coniceps</i>	<i>O. jerseyi</i>	<i>O. piriformis</i>	<i>O. viguerasi</i>
<i>O. cooleyi</i>	<i>O. jul</i>	<i>O. porcinus</i>	<i>O. yumatensis</i>
<i>O. coriaceus</i>	<i>O. kelleyi</i>	<i>O. procaviae</i>	<i>O. yunkerii</i>
<i>O. cyclurae</i>	<i>O. knoxjonesi</i>	<i>O. puertoricensis</i>	<i>O. zumpti</i>

**ANNEXE 1 : Liste des espèces du genre *Ornithodoros* selon la liste établie par Guglielmone et al. en 2010 (20)**





# ETUDE DE L'INFLUENCE DU MICROBIOTE SUR LES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE CHEZ LES ARTHROPODES HEMATOPHAGES : EXEMPLE DE LA FONCTION DE REPRODUCTION CHEZ LA TIQUE *ORNITHODOROS MOUBATA*.

---

## Auteur

---

Taraveau Florian

## Résumé

---

Les tiques molles du genre *Ornithodoros* sont des arthropodes hématophages et, pour un certain nombre d'espèces, des vecteurs. Elles sont capables de transmettre, entre autres, le virus de la peste porcine africaine, maladie gravissime chez les suidés domestiques. En plus des agents pathogènes qu'elles peuvent transmettre, les *Ornithodoros* hébergent également un microbiote riche et complexe. Comme chez d'autres espèces, ce microbiote interagit avec la tique, modifiant ses traits d'histoire de vie et ses interactions avec l'environnement. Ainsi, la compétence vectorielle de la tique, son métabolisme ou son écologie peuvent être modifiés par le microbiote.

Dans cette étude, le rôle du microbiote de la tique *Ornithodoros moubata* a été évalué en utilisant des traitements antibiotiques pour créer une dysbiose. Les principaux endosymbiotes primaires de la tique, *Francisella*-like endosymbiont et *Rickettsia*, ont été ciblés afin d'estimer leur rôle lors de la période de reproduction et de ponte des œufs. Ce manuscrit présente les résultats obtenus lors de cette étude et fait un bilan des connaissances de la littérature concernant les tiques du genre *Ornithodoros*.

## Mots-clés

---

*Ornithodoros*, Tique, Arthropode, Hématophage, Microbiote

## Jury

---

Président du jury	:	<b>Pr</b>	<b>MION François</b>
Directeur de thèse	:	<b>Dr</b>	<b>JOURDAN Hélène</b>
1 <sup>er</sup> assesseur	:	<b>Pr</b>	<b>ZENNER Lionel</b>
2 <sup>nd</sup> assesseur	:	<b>Dr</b>	<b>RENE-MARTELLET Magalie</b>
Membre invité	:	<b>Dr</b>	<b>POLLET Thomas</b>