

Le microbiome des tiques de l'identification à l'outil de lutte anti-vectorielle



Thomas Pollet
Chargé de Recherche, INRAE, UMR ASTRE
thomas.pollet@inrae.fr



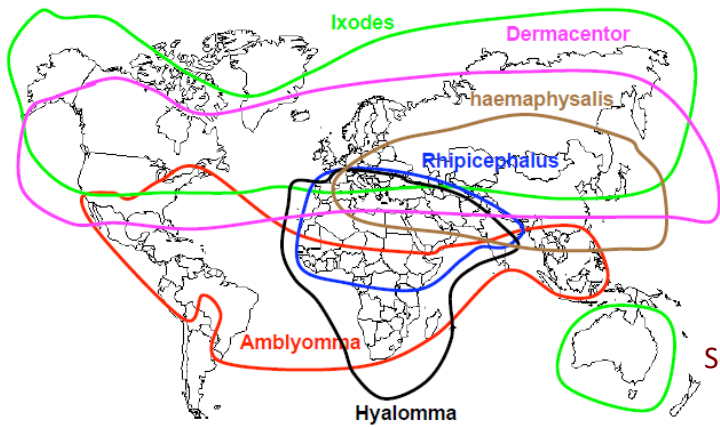
❖ Les tiques



Arthropodes hématophages stricts

900 espèces, répartition mondiale

3 stades: larves, nymphes, adultes



Source: Sarah Bonnet,
UMR BIPAR

Capable d'infester et se nourrir sur toutes
les classes de vertébrés terrestres



Mammifères

Reptiles



Oiseaux



Amphibiens



❖ Les tiques en France



Ixodes ricinus



Dermacentor reticulatus / marginatus



Hyalomma marginatum



Rhipicephalus sanguineus / bursa



Ornithodoros maritimus / Argas reflexus



Amblyomma variegatum

❖ Les tiques et les agents pathogènes

Bactéries

Borrelia burgdorferi sl.

Maladie de Lyme

Tiques du genre Ixodes



Ehrlichia ruminantium

Cowdriose

Tiques du genre Amblyomma



Virus

CCHF

Fièvres hémorragiques

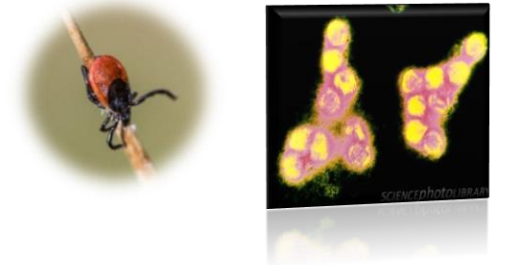
Tiques du genre Hyalomma



TBEV

Méningo encéphalite à tiques

Tiques du genre Ixodes



Parasites

Babesia cabalii / *Theileria equi*

Piroplasmose equine

Tiques du genre Dermacentor /
Rhipicephalus / Hyalomma



Tiques = grand intérêt en terme de santé publique et santé animale

❖ Les moyens de lutte contre tiques et maladies à tiques

Lutte écologique

Entretien des pâtures, jardins, espaces verts

Diminuer le gibier (réservoir pour les tiques et agents pathogènes)

Prévention, application smartphone (signalement tique, Ci-Tique)

Lutte chimique

Acaricides sur animaux domestiques / répulsifs

Néfastes pour la santé et l'environnement

Pallier à l'utilisation de ces composés chimiques et répondre à la demande sociétale et l'exigence environnementale
Identifier et développer de nouveaux outils de lutttes contre les tiques et les agents pathogènes qu'elles transmettent

Lutte par vaccins anti-tiques

Vaccin contre *Rhipicephalus microplus* (Cuba)

Cher et très spécifique

Identifier et caractériser candidats vaccins

Lutte biologique

Seulement par prédation naturelle ou
parasites

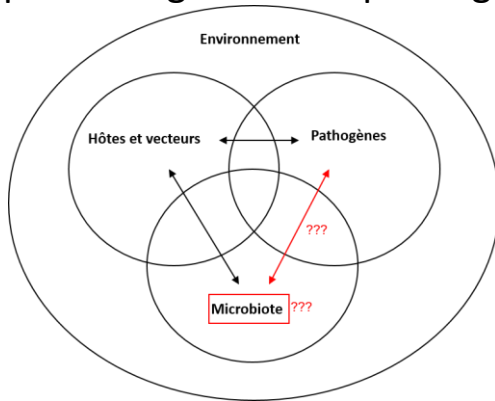


Le microbiote???

❖ Le microbiote des tiques

Outre les agents pathogènes, les tiques sont porteuses de nombreux autres micro-organismes composant le microbiote qui peuvent d'une part apporter de nombreux bénéfices à leurs hôtes (nutrition, immunité et reproduction) et d'autre part jouer un rôle dans l'acquisition et la transmission des agents pathogènes.

Avant: vision très pathogène centrée
puis changement de paradigme



Pathobiome des tiques

Pathogènes dans leur
env. microbien

(Vayssier-Taussat et al 2014, 2015)

Nutrition

Synthèse de vitamines B

Gottlieb et al 2015
Duron et al., 2018
Duron and Gottlieb 2020

Reproduction

Coxiella LE serait essentielle à survie et reproduction de la tique

Amblyomma americanum

Zhong et al 2007

Acquisition / transmission des agents pathogènes

Dysbiose du microbiote / certains symbiotes interactions avec agents pathogènes

Steiner et al 2008
Gall et al 2016, Budachetri et al 2018,
Lejal et al 2020

Défense / Résistance au stress

Stress biotiques (parasitoïdes, pathogènes...)

Stress abiotiques (température...)

Thapa et al., 2019

Utilisation du microbiote et en particulier de symbiotes comme outil de lutte bien connu chez les moustiques (*Wolbachia/aedes*)
Quid de son utilisation chez les tiques?

Prérequis et objectifs

Identifier les membres du microbiote, leur rôle

Comprendre les interactions qu'ils pourraient avoir avec les tiques et les agents pathogènes qu'elles transmettent

❖ Identification du microbiote et dynamique

> Les progrès technologiques en biologie moléculaire (NGS) ont permis d'accéder à une **diversité et une richesse de communautés bactériennes** encore insoupçonnées chez les tiques.

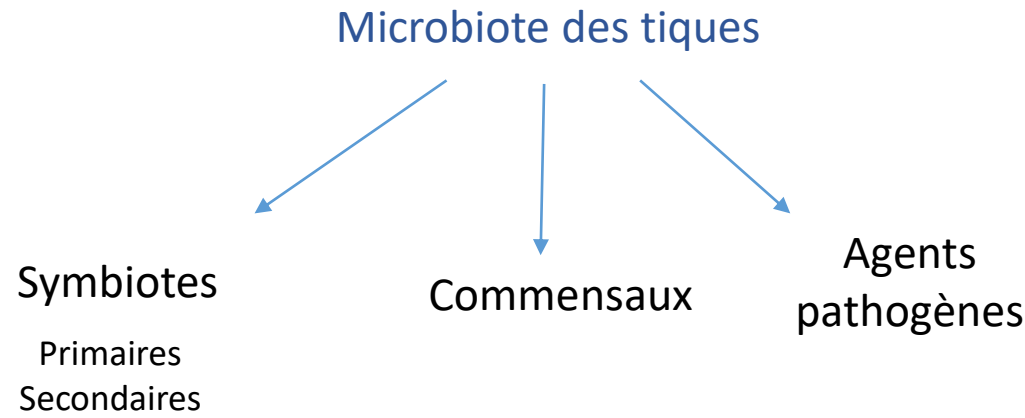


Table 1 List of the ten maternally inherited bacteria found in ticks and illustrative (nonexhaustive) references

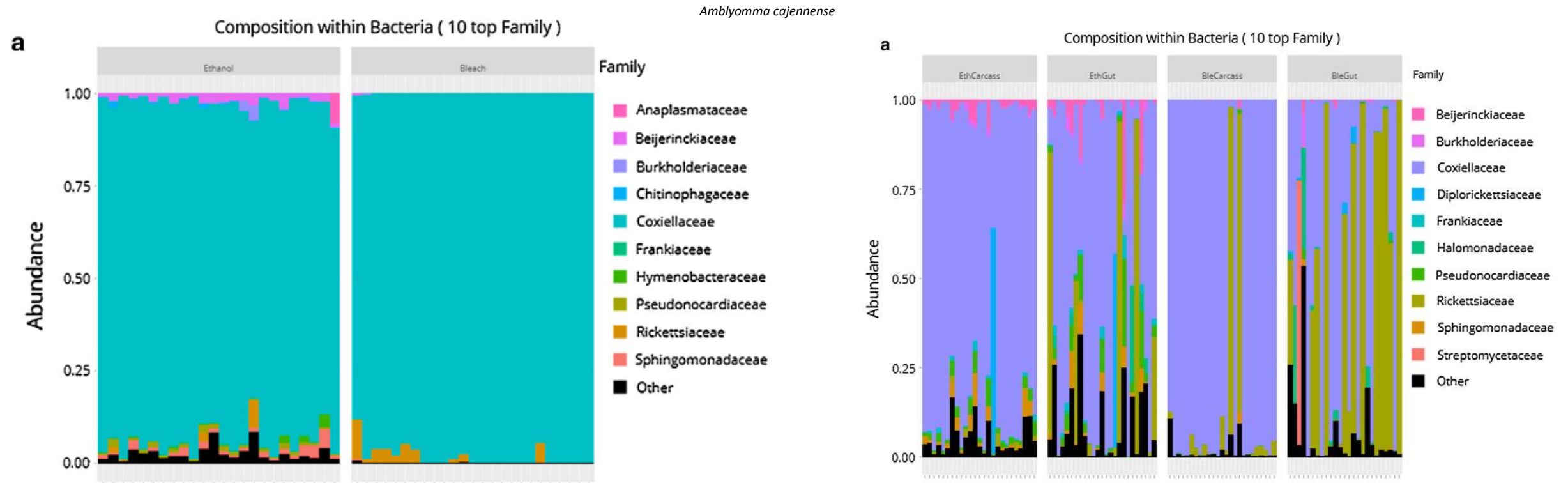
Maternally inherited bacteria	Distribution in arthropods	Major properties
Gamma-Proteobacteria		
1 – <i>Coxiella</i> -LE	Very common in ticks, not found in other arthropods (Jasinskas <i>et al.</i> 2007; Clay <i>et al.</i> 2008; Carpi <i>et al.</i> 2011; Machado-Ferreira <i>et al.</i> 2011; Almeida <i>et al.</i> 2012; Lalzar <i>et al.</i> 2012; Duron <i>et al.</i> 2014a, 2015a)	Obligate symbiont in most tick species (Zhong <i>et al.</i> 2007; Gottlieb <i>et al.</i> 2015; Smith <i>et al.</i> 2015b). Closely related to the agent of Q fever, <i>Coxiella burnetii</i> (Duron <i>et al.</i> 2015a)
2 – <i>Rickettsiella</i>	Scattered distribution in arthropods (Tsuchida <i>et al.</i> 2010; Bouchon <i>et al.</i> 2012; Iasur-Kruh <i>et al.</i> 2013), common in ticks (Kurtti <i>et al.</i> 2002; Vilcins <i>et al.</i> 2009; Anstead & Chilton 2014; Duron <i>et al.</i> 2015a, 2016)	Unknown effect in ticks. Facultative mutualist in aphids (Tsuchida <i>et al.</i> 2010, 2014; Lukasik <i>et al.</i> 2013a) and likely in other insects (Iasur-Kruh <i>et al.</i> 2013). Some strains are entomopathogenic (Cordaux <i>et al.</i> 2007; Leclerque <i>et al.</i> 2011)
3 – <i>Arsenophonus</i>	Common in arthropods (Duron <i>et al.</i> 2008a; Novakova <i>et al.</i> 2009), present in ticks (Clay <i>et al.</i> 2008; Dergousoff & Chilton 2010; Clayton <i>et al.</i> 2015)	Male killer in parasitoid wasps (Werren <i>et al.</i> 1986; Duron <i>et al.</i> 2010), putative obligate symbionts in bat flies and louse flies (Duron <i>et al.</i> 2014b), facultative symbionts in other insects (Novakova <i>et al.</i> 2009; Jousset <i>et al.</i> 2013)
4 – <i>Francisella</i> -LE	Rare in ticks, not found in other arthropods (Niebylski <i>et al.</i> 1997a; Scoles 2004; Goethert & Telford 2005; Clayton <i>et al.</i> 2015; Gerhart <i>et al.</i> 2016)	Unknown effect in most cases but alternative obligate symbiont in at least one tick species (Gerhart <i>et al.</i> 2016); closely related to the agent of tularaemia (<i>Francisella tularensis</i>) (Sjodin <i>et al.</i> 2012)
Alpha-Proteobacteria		
5 – <i>Wolbachia</i>	Very common in arthropods (Duron <i>et al.</i> 2008a; Hilgenboecker <i>et al.</i> 2008; Zug & Hammerstein 2012), present in ticks (Andreotti <i>et al.</i> 2011; Carpi <i>et al.</i> 2011; Subramanian <i>et al.</i> 2012)	Unknown effect in ticks. Reproductive manipulation in many arthropods (Engelstadter & Hurst 2009), facultative mutualist (defensive symbiosis) in others as mosquitoes (Brownlie & Johnson 2009; Hamilton & Perlman 2013), obligate symbiont in bed bugs (Nikoh <i>et al.</i> 2014). At least in the case of the sheep tick, <i>Ixodes ricinus</i> , it has been demonstrated that the detection of <i>Wolbachia</i> was due to a contamination by a hymenopteran parasitoid (Plantard <i>et al.</i> 2012).
6 – <i>Rickettsia</i>	Common in arthropods (Perlman <i>et al.</i> 2006; Weinert <i>et al.</i> 2009), present in ticks (Niebylski <i>et al.</i> 1997b; Clayton <i>et al.</i> 2015; Kurtti <i>et al.</i> 2015)	Unknown effect in ticks. Reproductive manipulator in diverse insect species (Engelstadter & Hurst 2009) and defensive symbiont in other insects (Lukasik <i>et al.</i> 2013b); closely related to pathogenic strains, often tick-borne, infecting vertebrates (Perlman <i>et al.</i> 2006; Weinert <i>et al.</i> 2009; Kurtti <i>et al.</i> 2015)
7 – <i>Midichloria</i>	Present in ticks, not found in other arthropods (Lo <i>et al.</i> 2006; Epis <i>et al.</i> 2008; Venzal <i>et al.</i> 2008; Dergousoff & Chilton 2011; Najm <i>et al.</i> 2012; Subramanian <i>et al.</i> 2012; Williams-Newkirk <i>et al.</i> 2012; Qiu <i>et al.</i> 2014; Cafiso <i>et al.</i> in press)	Unknown effect; inhabit tick mitochondria (Epis <i>et al.</i> 2014)
8 – <i>Lariskella</i>	Rare and with a scattered distribution in arthropods (Matsuura <i>et al.</i> 2012; Toju <i>et al.</i> 2013), reported once in ticks (Qiu <i>et al.</i> 2014)	Unknown effect
Mollicutes		
9 – <i>Spiroplasma</i>	Common in arthropods (Weinert <i>et al.</i> 2007; Duron <i>et al.</i> 2008a), present in ticks (Tully <i>et al.</i> 1981, 1995; Henning <i>et al.</i> 2006)	Unknown effect in ticks. Male killer in diverse insect species (Engelstadter & Hurst 2009)
Bacteroidetes		
10 – <i>Cardinium</i>	Common in arthropods (Zchori-Fein & Perlman 2004; Duron <i>et al.</i> 2008a,b), present in ticks (Kurtti <i>et al.</i> 1996; Benson <i>et al.</i> 2004)	Unknown effect in ticks. Reproductive manipulator in diverse insect species (Engelstadter & Hurst 2009)

Méthodologie

Ethanol vs Eau de javel

Binetruy et al., 2019

Lavage ----- rinçage ----- broyage ----- extraction ----- amplification ----- NGS



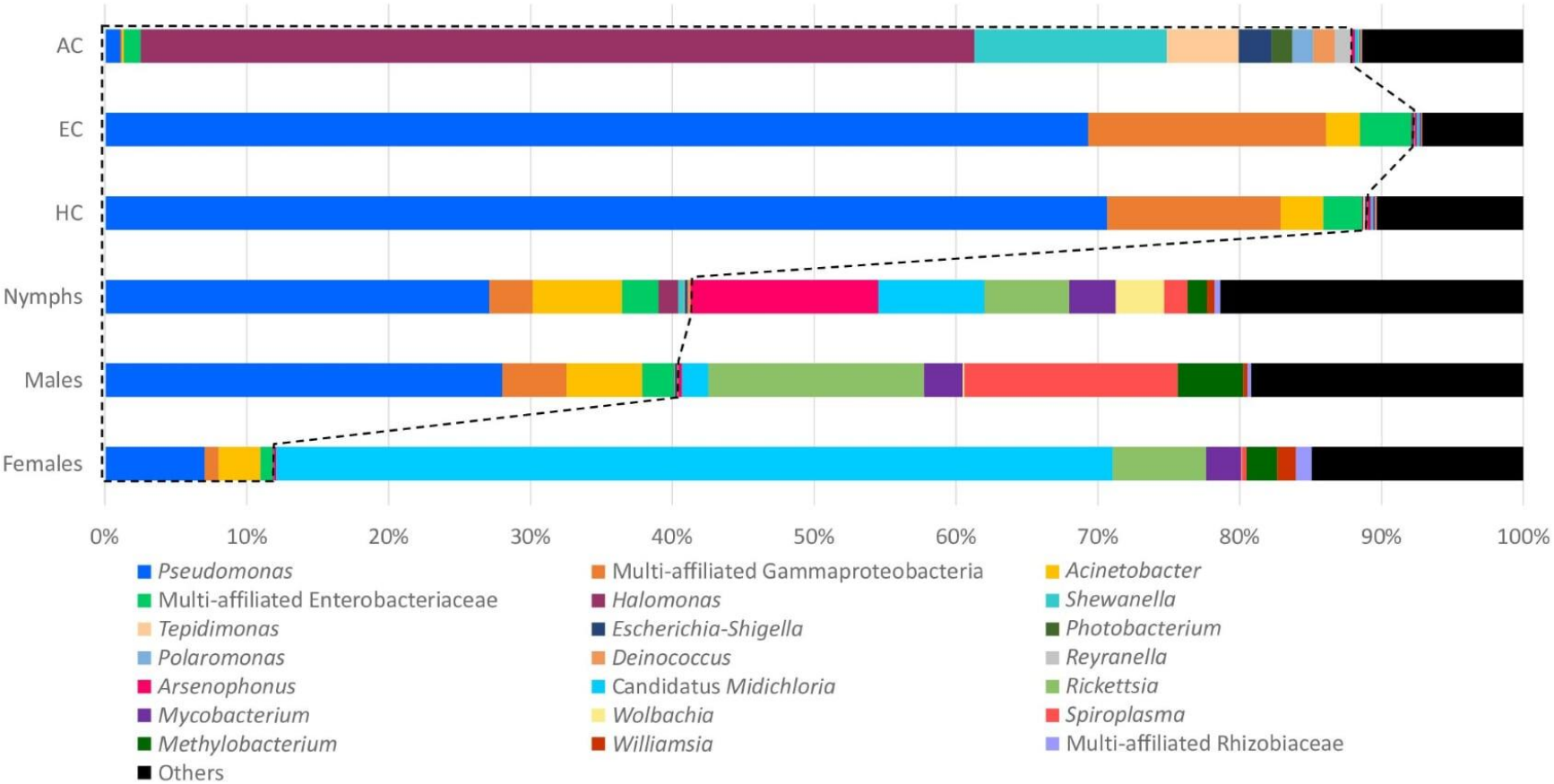
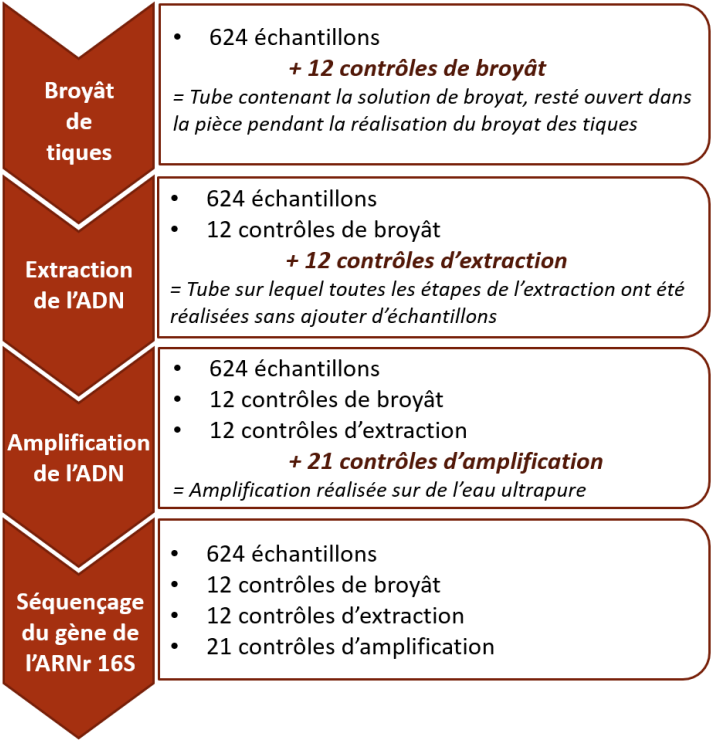
Pour étudier le microbiote interne des tiques et éliminer le microbiote cuticulaire... **nettoyage des tiques à l'eau de javel.**

Méthodologie

Le “kitome”

Lejal et al., 2020

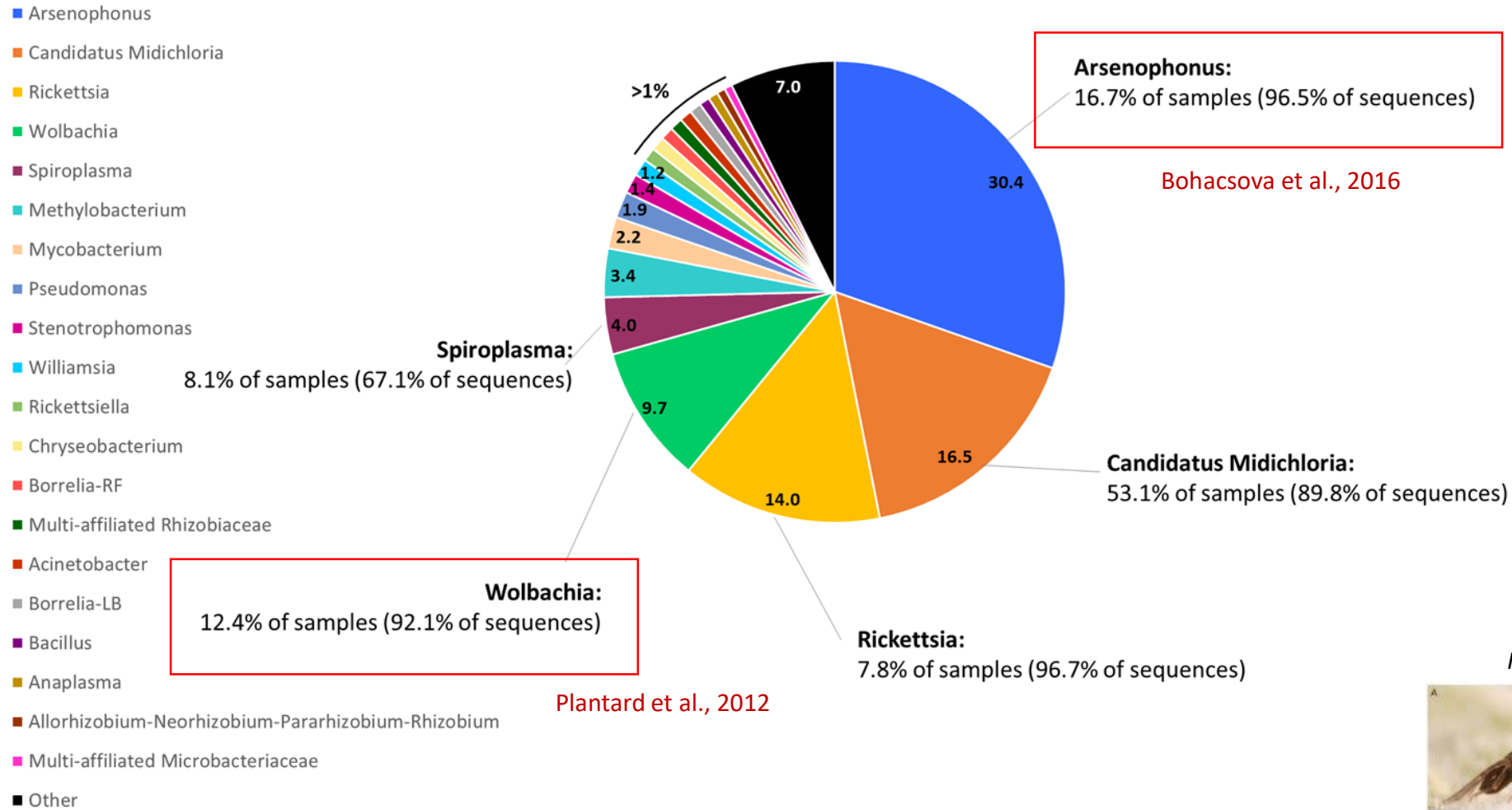
Lavage ----- rinçage ----- **broyage** ----- **extraction** ----- **amplification** ----- NGS



Dans le cas d'échantillons de faibles biomasses, crucial de **réaliser des contrôles à chaque étape de l'expérience** (broyat, extraction, amplification), de les séquencer et de retirer les contaminants du jeu de données lors de l'analyse

Nymphs *Ixodes ricinus*

Lejal et al., 2020



Bohacsova et al., 2016

Plantard et al., 2012

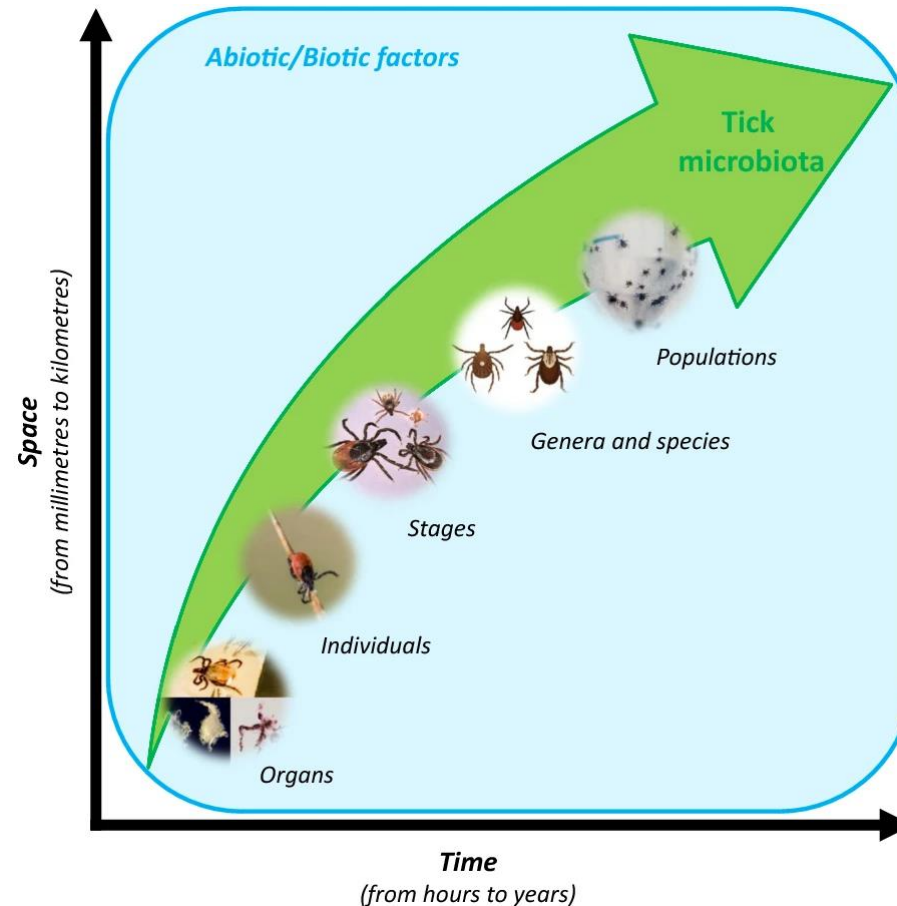
Ixodiphagus hookeri



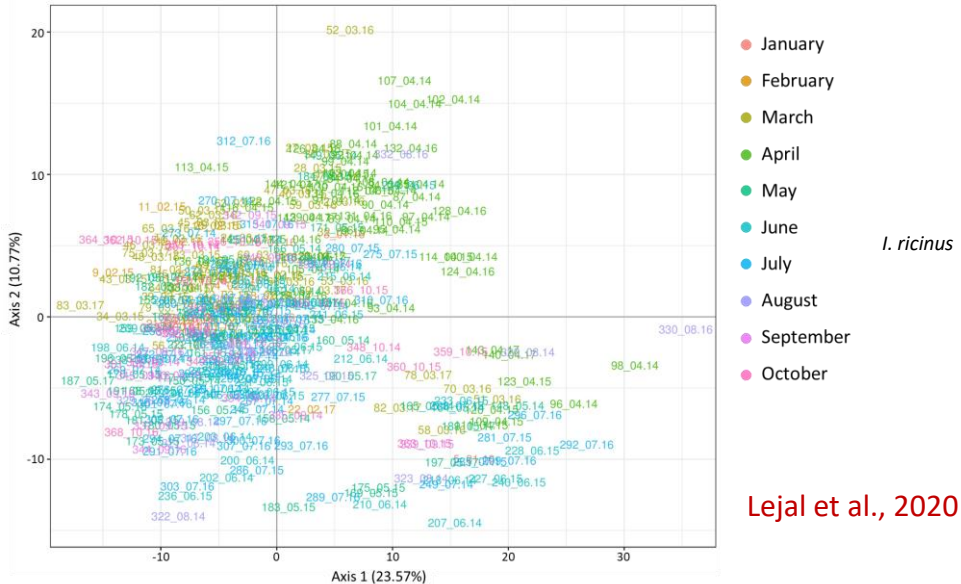
Plantard et al., 2012

Notion d'échelle

L'échelle a une profonde influence sur la façon dont nous allons conduire une étude, interpréter les résultats et comprendre les processus qui en découlent. Des patterns apparent à une certaine échelle peuvent disparaître lorsqu'ils sont vus à partir d'une autre échelle, indiquant que la perception et la compréhension des processus sont échelle dépendante.

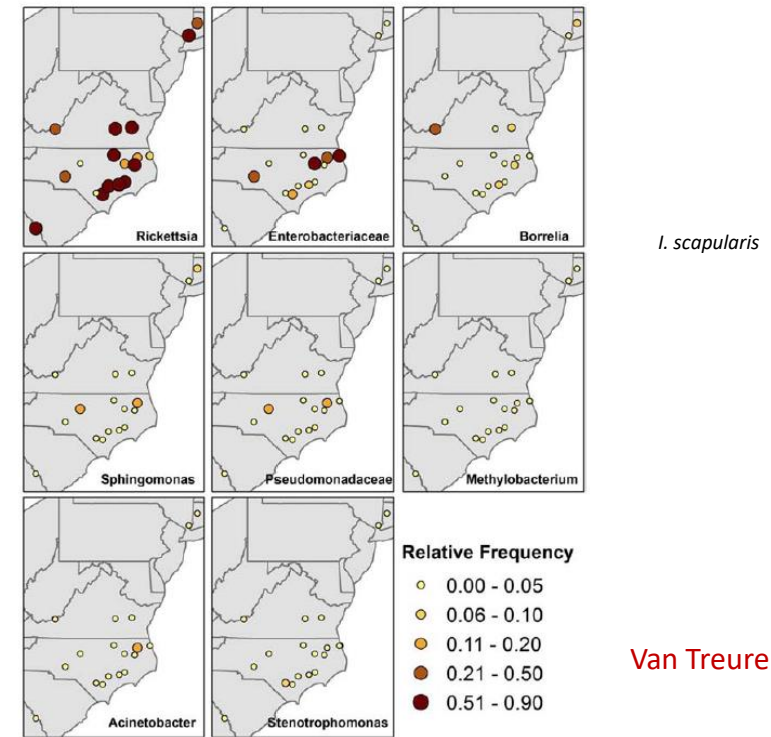


Variable dans le temps



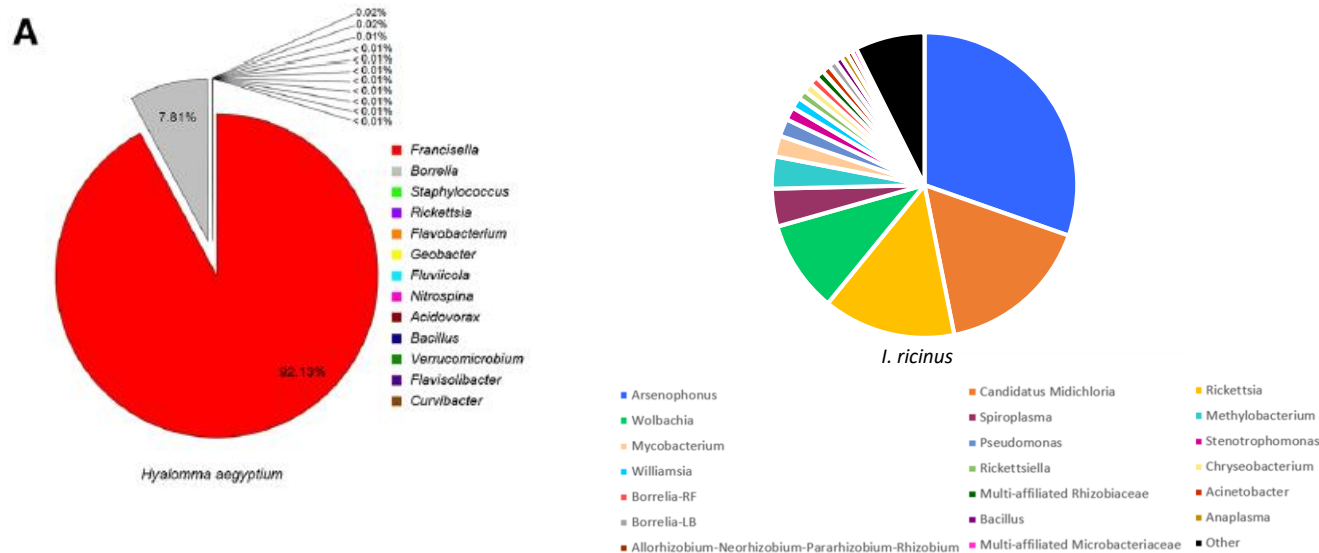
Lejal et al., 2020

Variable dans l'espace



Van Treuren et al., 2015.

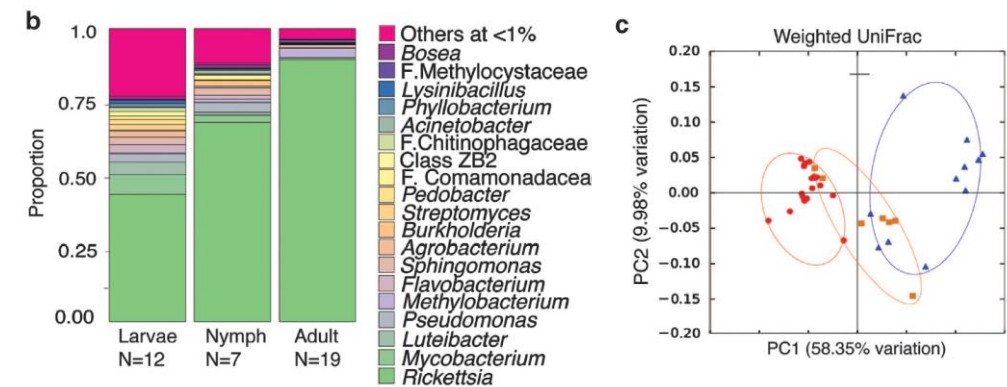
Variations selon les genres / espèces de tiques



Keskin et al., 2017

Lejal et al., 2020

Variable selon les stades étudiés



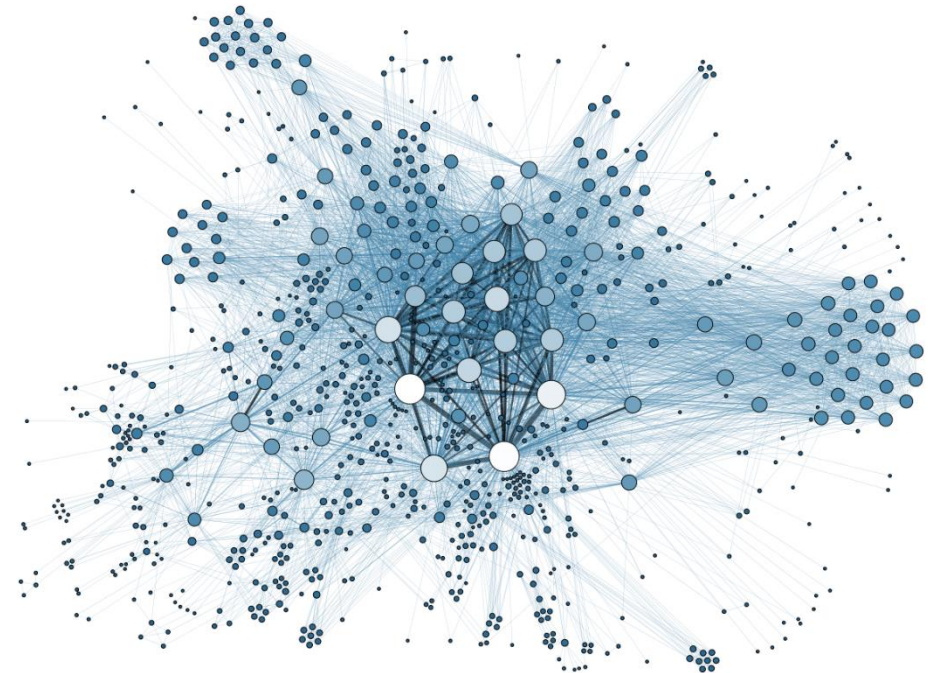
I. pacificus

Swei and Kwan., 2016

❖ Vers utilisation comme outil de lutte?... rôle du microbiote et Interactions microbiennes

Essayer d'identifier des candidats du microbiote qui seraient susceptibles d'avoir un impact sur la biologie de la tumeur ou une influence sur la présence/absence d'agents pathogènes

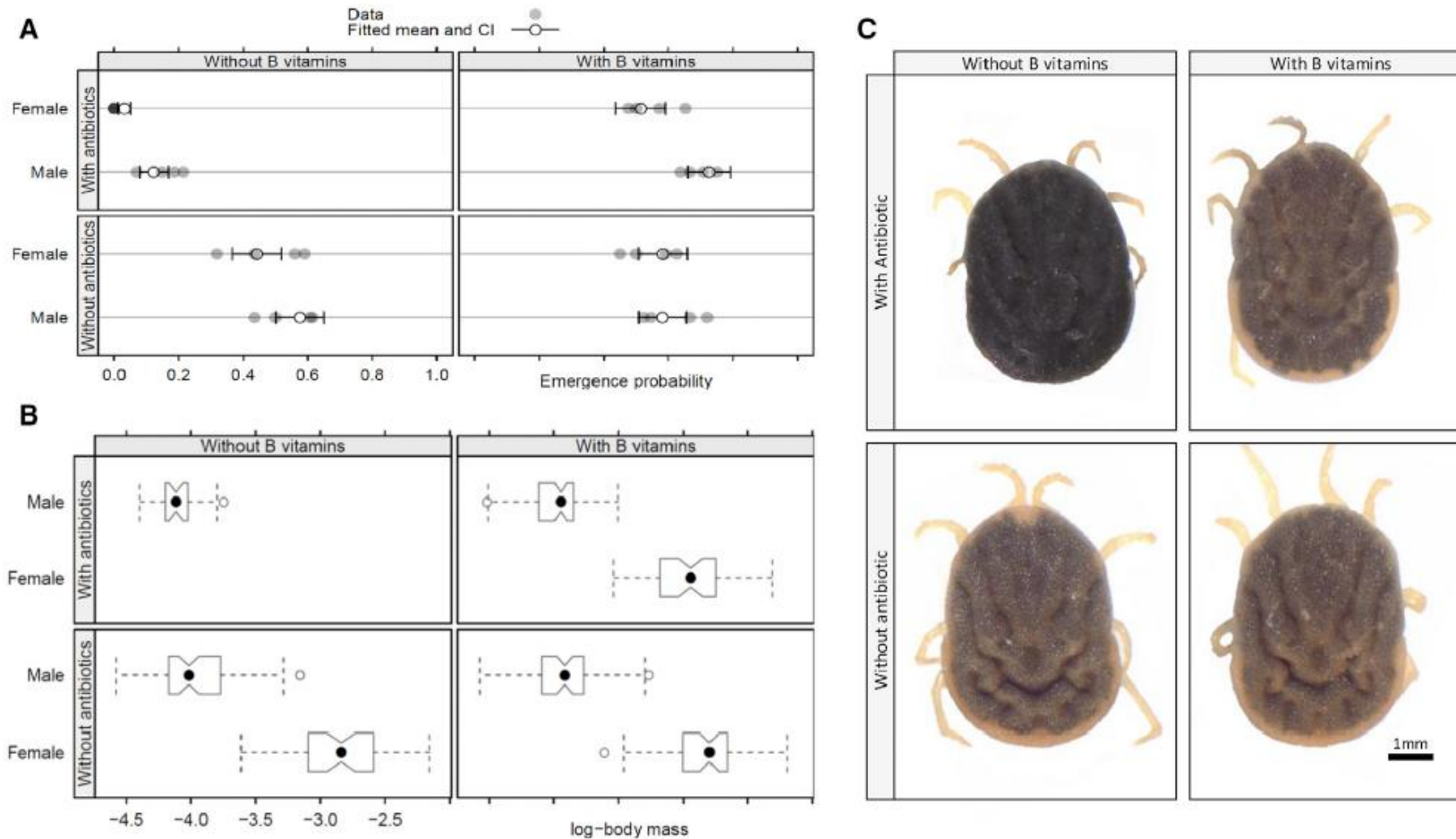
- Symbiotes obligatoires: i.e. nutrition, reproduction
- Approches expérimentales: influence d'un agent pathogène sur le microbiote et vice versa
- Utilisation d'outils statistiques pour notamment évaluer les co-occurrences entre certains membres du microbiote: corrélations, analyses de réseaux



Rôle du microbiote dans la nutrition: ex Francisella like endosymbiote (FLE)

Duron et al., 2018

Tique = *Ornithodoros moubata*



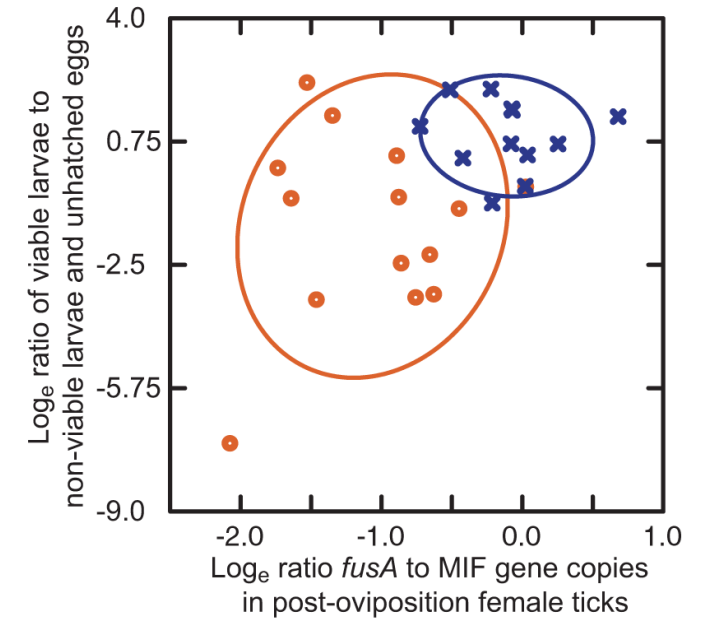
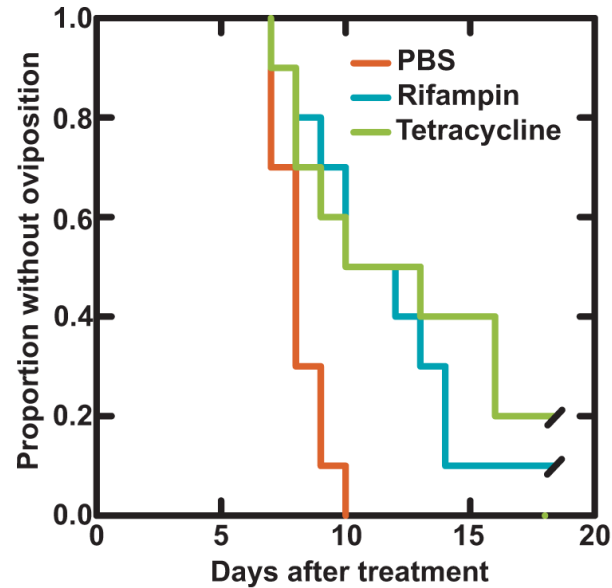
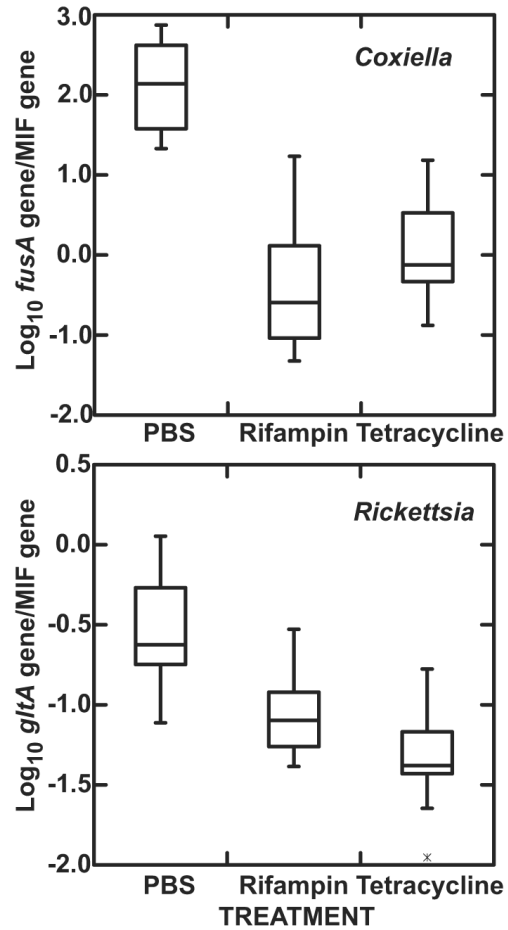
Genome de FLE: gènes impliqués dans la synthèse de biotine (B7), riboflavine (B2), acide folique (B9)

Rôle essentiel de Francisella like endosymbiote dans la synthèse de vitamines B

Rôle du microbiote dans la reproduction: ex *Coxiella* like endosymbiote (CLE) et *Rickettsia*

Zhong et al., 2007

Tique = *Amblyomma americanum*



Quand dysbiose du microbiote:

Poids adultes plus faible

Augmentation du temps de début de ponte

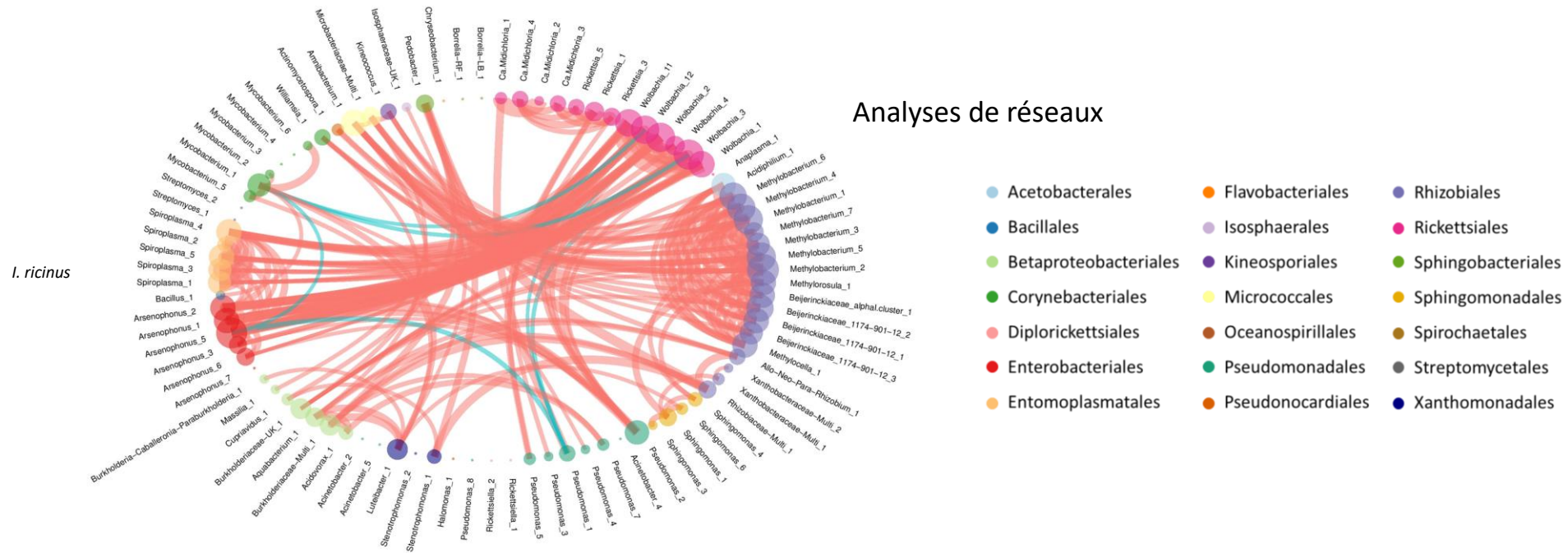
Nombre plus faible d'éclosions

Nombre plus faible de larves viables

Interactions microbiennes

Lejal et al., 2020

Analyses de réseaux



Wolbachia – Arsenophonus – Spiroplasma



Almazán et al. In prep.

Arsenophonus / Wolbachia → *Ixodiphagus hookeri* (Plantard et al., 2012; Bohacsova et al., 2016)

Spiroplasma = Endosymbionte présentes chez de nombreux arthropodes (tiques)

→ Effet « male killing » chez de nombreux arthropodes : Tiques (Binetruy et al., 2019)

→ *Drosophila melanogaster*: Effet protecteur contre guêpe parasitoïde (Xie et al., 2014)

→ **Spiroplasma** = Mécanisme de défense d'*I. ricinus* contre *I. hookeri* ?

Rickettsia – Ca. Midichloria

Rickettsia → Souvent impliquée dans corrélations négatives

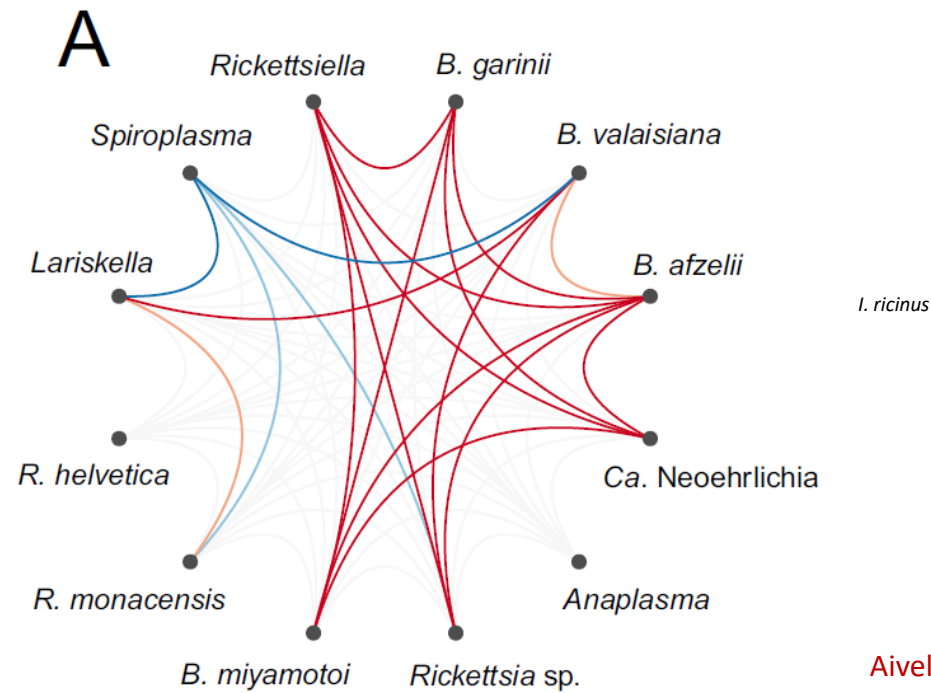
(Burgdorfer et al., 1981; Burgdorfer, 1988; Macaluso et al., 2002; Steiner et al., 2008; Sam R. Telford, 2009; Williams-Newkirk et al., 2014; Gall et al., 2016; René-Martellet et al., 2017)

Budachetri et al., 2018 : → *Amblyomma maculatum*

→ Corrélation positive : *Ca. Midichloria* / *Rickettsia parkeri*

Hypothèse :

Ca. Midichloria → Rôle facilitateur dans la colonisation d'*I. ricinus* par *Rickettsia*



Aivelo et al., 2019

➤ **Dysbiose du microbiote** (Narasimhan et al., 2014)

- Altération matrice péritrophique
- Blocage de l'installation de *Borrelia burgdorferi*

➤ ***Anaplasma phagocytophilum*** (Abraham et al., 2017)

- Anti-freeze glycoprotein
- Altération biofilm protégeant la matrice péritrophique
- Facilite son passage par *A. phagocytophilum*

➤ **Endosymbiote *Rickettsia***

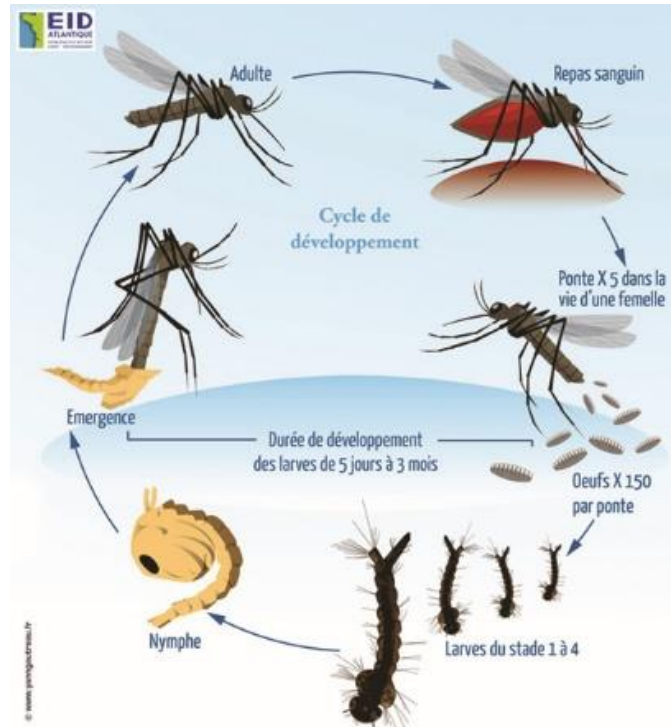
- Blocage transmission transovarienne: autre *Rickettsia* (Burgdorfer et al., 1981; Burgdorfer et al., 1988; Macaluso et al., 2002; Telford et al., 2009)
- Co-occurrence négative: *B. burgdorferi* (Steiner et al., 2008)
- Corrélation négative: *A. marginale* (Gall et al., 2016)

➤ ***Candidatus Midichloria mitochondrii***

- Corrélation positive *Ca. Midichloria* et *Rickettsia parkeri* chez *Amblyomma maculatum*
- La présence de cet endosymbiote favoriserait la réplication de *R. parkeri* (Budachetri et al., 2018)
- Supprimer ce symbiote pourrait diminuer l'infection à *R. parkeri*

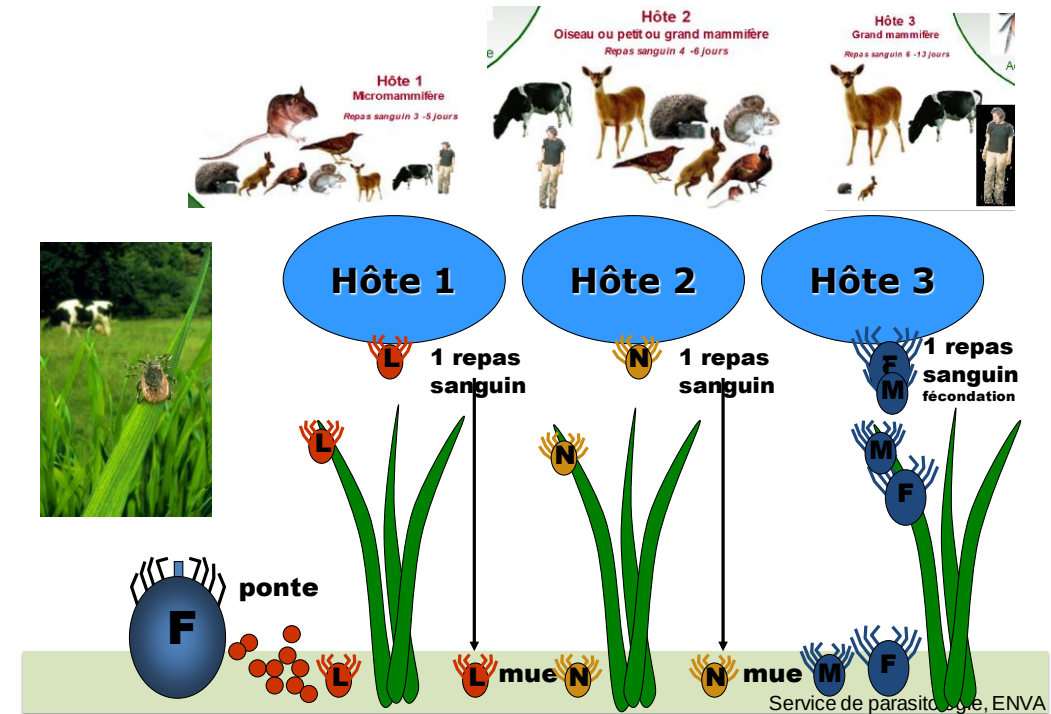
❖ Limites?

Résultats prometteurs dans le cadre d'une future possible utilisation du microbiote pour lutter contre les tiques et les maladies à tiques



1 cycle = quelques semaines, mois
1 femelle = plusieurs pontes

Large dispersion géographique en un temps court



1 cycle = de 1 à 3 ans,
1 femelle = 1 ponte

+ faible dispersion géographique en un temps + long

❖ A retenir

> **Richesse des communautés bactériennes** chez les tiques.

> **Attention aux contaminants**

> La structure du microbiote des tiques semble **varier à la fois dans l'espace et dans le temps mais aussi en fonction des stades** (importance de la notion d'échelle). Toutefois, la dynamique des communautés microbiennes et **leurs fonctions** chez les tiques restent encore un terrain vaste à explorer.

> Membres du microbiote des tiques **impliqués dans la nutrition et la reproduction** mais aussi des liens forts avec la **dynamique des agents pathogènes**

> Les **avancées récentes sont prometteuses** mais doivent être encore largement approfondies avant d'envisager de nouveaux moyens de lutte antivectorielle basés sur l'utilisation des bactéries du microbiote... notamment à cause des limites liées au cycle de vie des tiques

❖ Remerciements



Vectopole Sud

UMR BIPAR
Equipe VECTOTIQ
Emilie Lejal
Muriel Vayssier-Taussat
Jean-François Cosson
Sara Moutailler
Sarah Bonnet

UMR ASTRE
Collectifs vecteur / Microbiologie

Réseau TMT

DIM Malinf
INRAE, dept SA
Métaprogramme: MEM, ACCAF

Karine Chalvet-Monfray
Maud Marsot
Agustin Estrada-Peña
Hein Sprong
Aleksandra Krawczyk
Julien Chiquet
Julie Aubert
Stéphane Robin
Béatrice Laroche
Simon Labarthe
Xavier Bailly
Arnaud Cougoul
Patrick Gasqui
Plateforme Migale

