

Foyers de Borréliose de Lyme en PACA: le cas Maralpin

Docteur Jacques SEVESTRE

Centre de Référence des Maladies Vectorielles à Tiques du Sud
Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée-Infection



Journées Nationales

des Centres de Référence
de Maladies Vectorielles à Tiques

Lundi 4 avril
à la BNU de Strasbourg



CRMVT
Centres de Référence des Maladies
Vectorielles liées aux Tiques

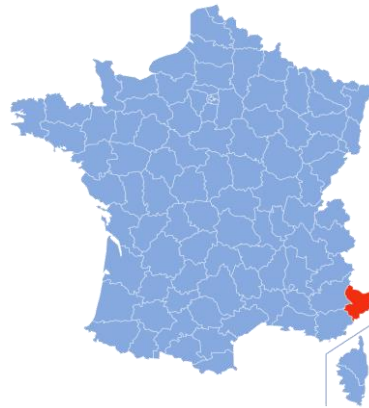


Déclaration d'intérêts

- Aucun lien avec l'industrie

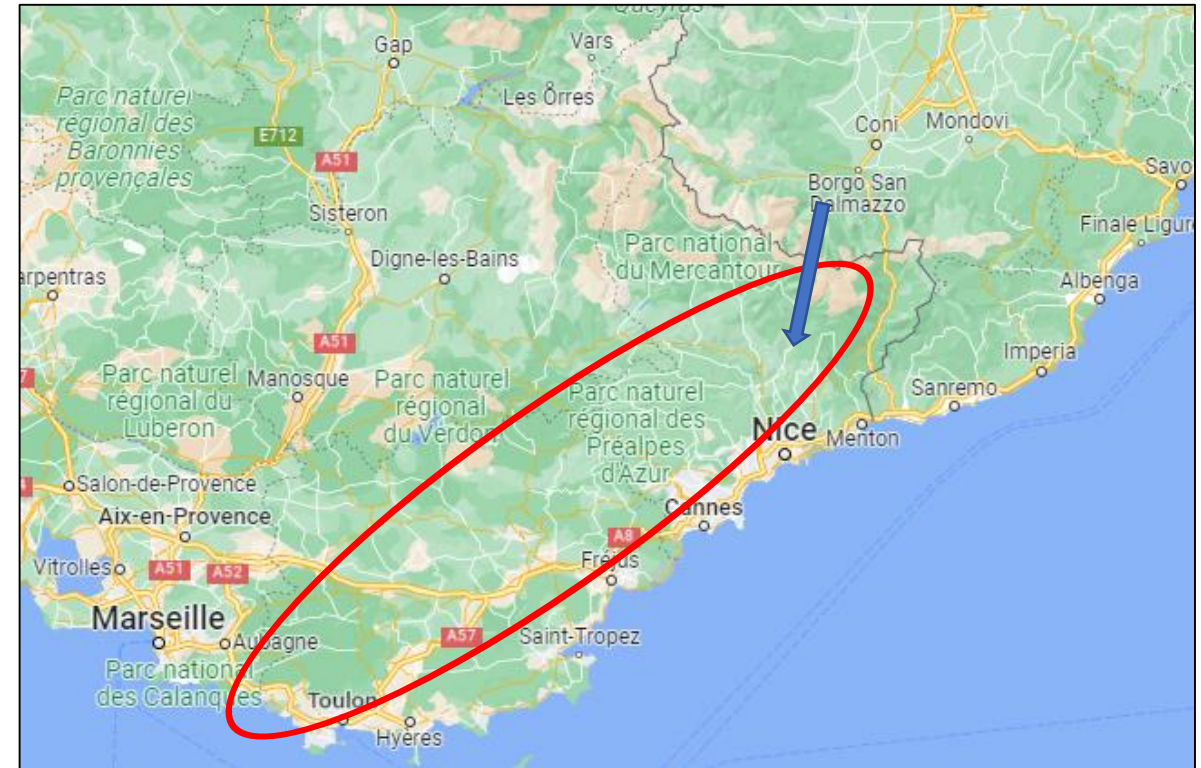
Alpes-Maritimes

- Département à l'extrême sud-est de l'hexagone, de topographie fort **contrastée** (altitudes 0 – 3143m)
- **Plaines côtières:** très urbanisées (Cannes-Nice-Monaco-Menton)
- **Moyen-pays:**
Est (N-S) et Ouest (E-W)
- **Haut-Pays**



Et *Ixodes ricinus* ?

- Tique télotrope hygrophile
- Souvent décrite comme absente / très peu présente dans le pourtour méditerranéen (trop sec)
- **GILOT B:** Aucun spécimen collecté au drapeau entre la Sainte Baume et les forêts des Alpes-Maritimes (1975)



- Gilot B. et al. Première contribution à l'étude écologique d'*Ixodes ricinus* (Linné, 1758) (Acarina, Ixodoidea) dans le Sud-Est de la France. Acta Trop. 1975.

- PEREZ-EID Les Tiques : Identification, biologie, Importance Médicale et Vétérinaire, 2007. Lavoisier.

- Figoni, J et al. 2019. Lyme borreliosis and other tick-borne diseases. guidelines from the French scientific societies (I): prevention, epidemiology, diagnosis. Med. Mal. Infect. 49, 212-221.

Borréliose de Lyme dans les AM?

- Dogme initial (et jusque 2016 !) : **absence d'endémicité** dans le département
- PACA plus basse incidence: cas importés ?
- Jusqu'en 2016 : **EM chez patient forestier**

→ **Modification zone à risque ?**

Case Reports > Presse Med. 1993 Jan 30;22(3):133.

[High-degree atrioventricular block revealing the first case of Lyme's disease in the Alpes-Maritimes department]

[Article in French]

E Ferrari, M Dupré-Minet, C Laffond, J Amselem, M Baudouy, P Morand

PMID: 8493222

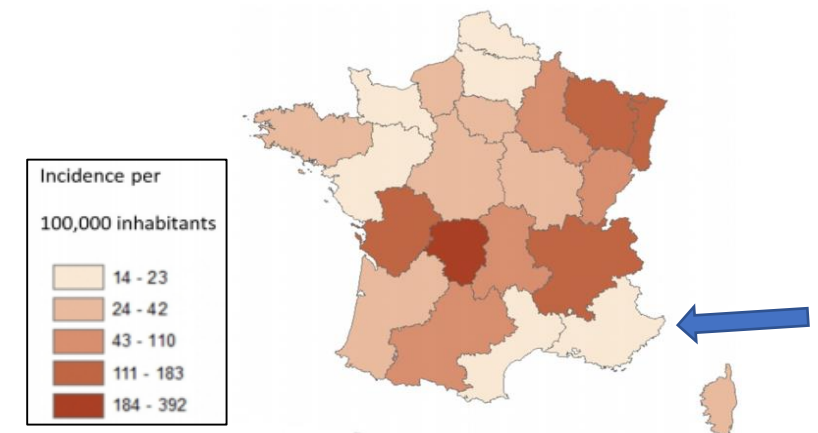
Une maladie de Lyme azurienne - 26/05/16

Doi : 10.1016/j.revmed.2016.04.197

D. Chirio ¹, V. Queyrel ¹, G. Gonfrier ², J.G. Fuzibet ¹

¹ Médecine interne, CHU L'Archet 1, Nice, France

² Virologie, CHU L'Archet 2, Nice, France



Guidelines from the French Scientific Societies (I): prevention, epidemiology, diagnosis. Med Mal Infect (2019)

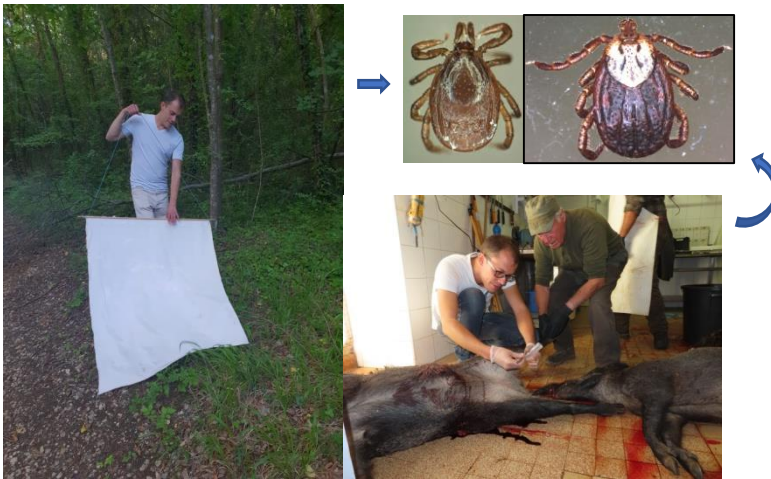
Investigation Entomologique

- Déterminer la présence d'*Ixodes ricinus* dans les Alpes-Maritimes ainsi que l'infection par des bactéries zoonotiques
- Etude épidémiologique des populations de tiques des AM et détection des bactéries zoonotiques associées

Matériel

- **Tiques (nymphe & adulte)**
- Alpes-Maritimes & Var (2017-2020)

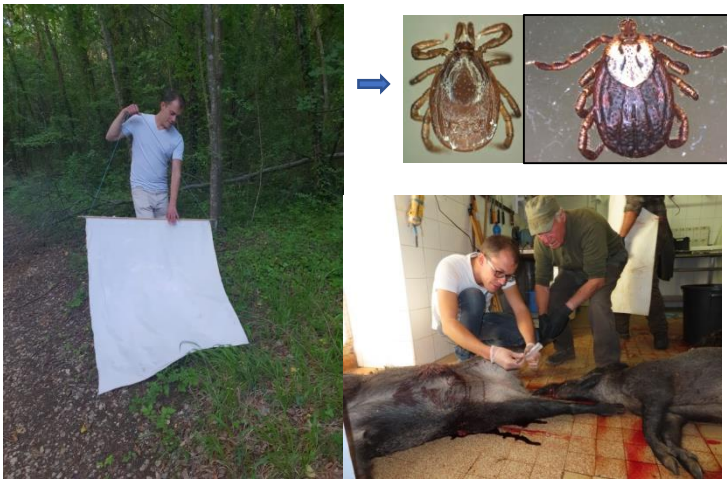
- **Drapeau**
- Patients
- Animaux (gibier)



Matériel

- **Tiques (nymphe & adultes)**
- Alpes-Maritimes & Var (2017-2020)

- **Drapeau**
- Patients
- Animaux (gibier)



Méthodes

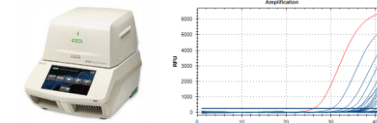
Identification au niveau de l'espèce (ID) :

- Morphologie
- MALDI-TOF MS ID
- (+/- Séquençage)



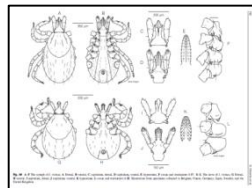
Détection + Identification de bactéries

- Extraction ADN
- Détection (qPCR)
- qPCR spécifiques
- Séquençage



Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: an emerging tool for studying the vectors of human infectious diseases

① Morphologie

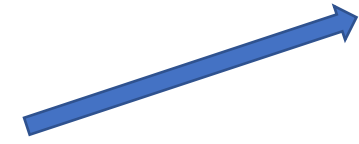
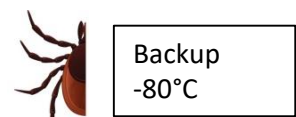


Ticks of Europe and North Africa
A Guide to Species Identification

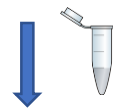
Agustín Estrada-Peña
Andrei Daniel Mihalca
Trevor N. Petney Editors



Workflow



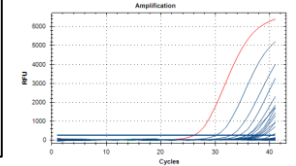
③ DNA extraction



④ Détection qPCR

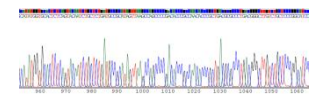


ITS4 (*Borrelia* sp.)
gltA (*Rickettsia* sp.)
ITS2 (*Bartonella* sp.)
23S (Anaplasmataceae)
IS30A (*Coxiella burnetii*)



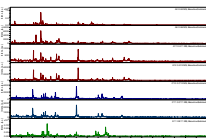
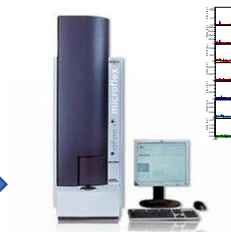
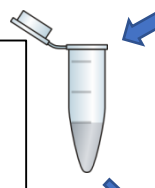
⑤ IDentification

- Séquençage
- qPCR spécifique



② MALDI-TOF MS

Acide Formique
ACN
Billes verre

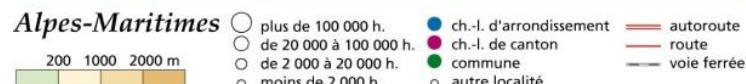
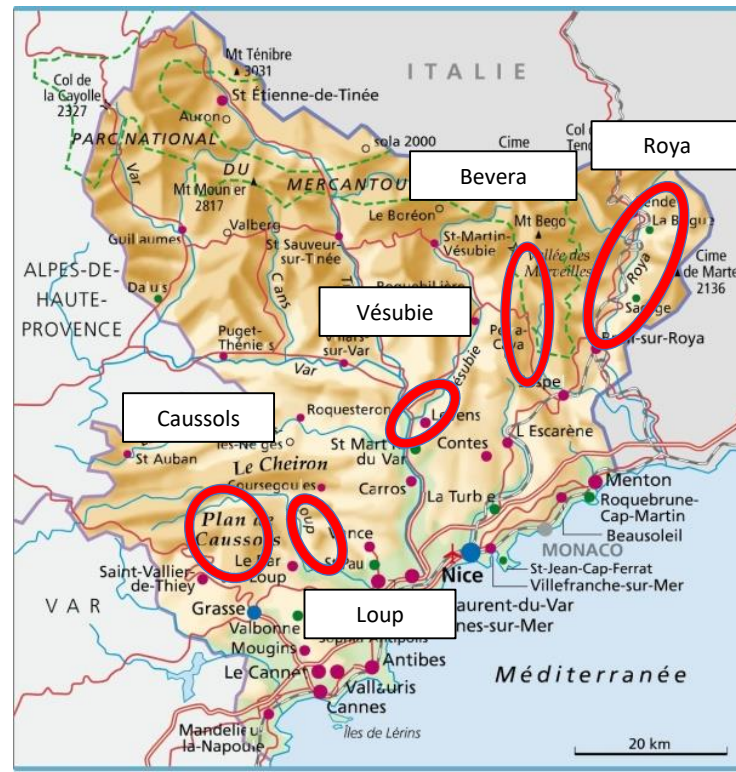


Incongruence morphologie + MALDI-TOF ID
Impossibilité morphologie et/ou MALDI-TOF ID

Séquençage

Résultats : Tiques

Collecte	Drapeau	Patients	Animaux	Total
Nombre de spécimens	1069	107	56	1232



Résultats : Morphologie

Morphologie (1232/1232)

→ *Ixodes ricinus* (863)

Rhipicephalus bursa (142)

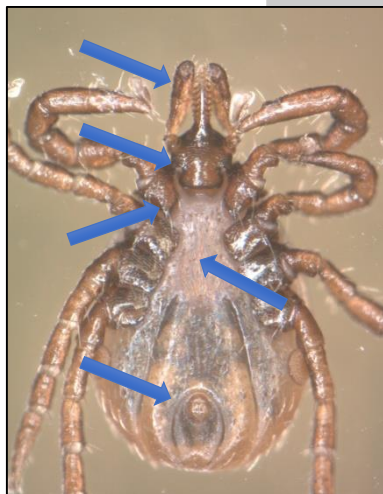
Haemaphysalis punctata (139)

Dermacentor marginatus (55)

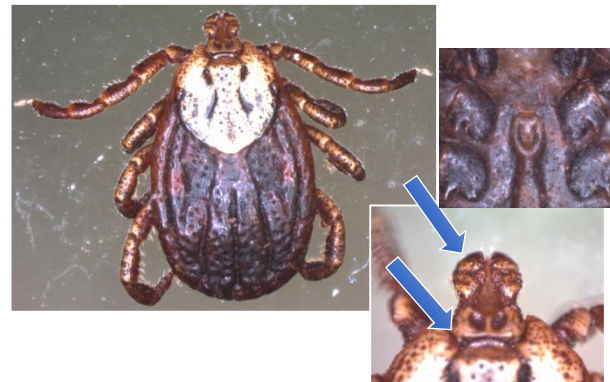
Rhipicephalus sanguineus (13)

Ixodes acuminatus (14)

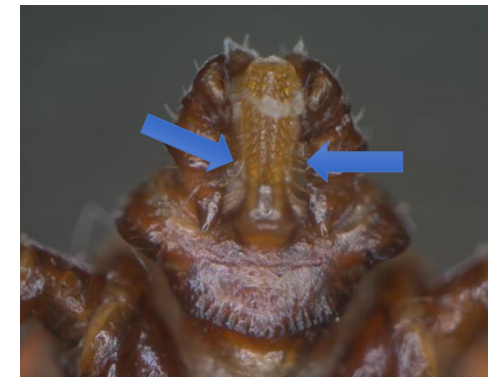
Impossible (6)



Ixodes ricinus nymph



Dermacentor marginatus Femelle



Rhipicephalus bursa Femelle

Résultats : Morphologie

Espèce	Femelle	Mâle	Nymphe	Total
Impossible	-	-	2	2
<i>Ixodes</i> sp.	1	-	-	1
<i>Rhipicephalus</i> sp.	2	1	-	3
<i>Dermacentor marginatus</i>	28	27	-	55
<i>Haemaphysalis punctata</i>	8	7	124	139
<i>Ixodes acuminatus</i>	4	0	10	14
<i>Ixodes ricinus</i>	47	29	787	863
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	8	4	1	13
<i>Rhipicephalus bursa</i>	74	68	-	142
Total	172	136	924	1232

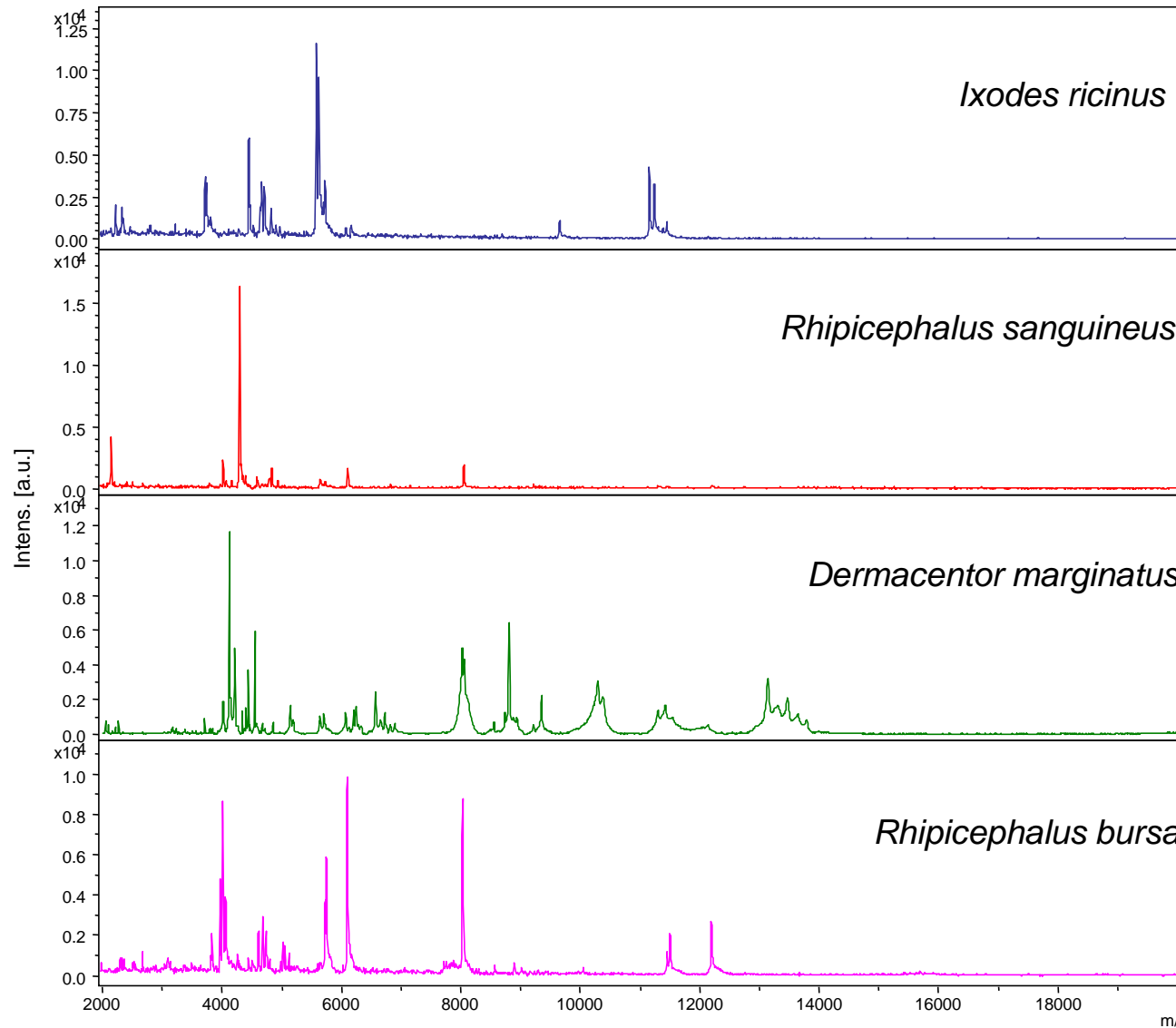
Résultats : MALDI-TOF MS

Morphologie (1232/1232)	MALDI-TOF MS (1211/1232)	Spectres de qualité (1171/1211)	% de concordance d'identification LSV>1,7
<i>I. ricinus</i> (863)	852	831	806/831 = 96,99%
<i>R. bursa</i> (142)	142	142	142/142 = 100%
<i>H. punctata</i> (139)	139	137	137/137 = 100%
<i>D. marginatus</i> (55)	55	41	41/41 = 100%
<i>R.sanguineus</i> (13)	12	9	9/9 = 100%
<i>I. frontalis</i> (14)	11	11	11/11 = 100%
Impossible (6)	-	-	-

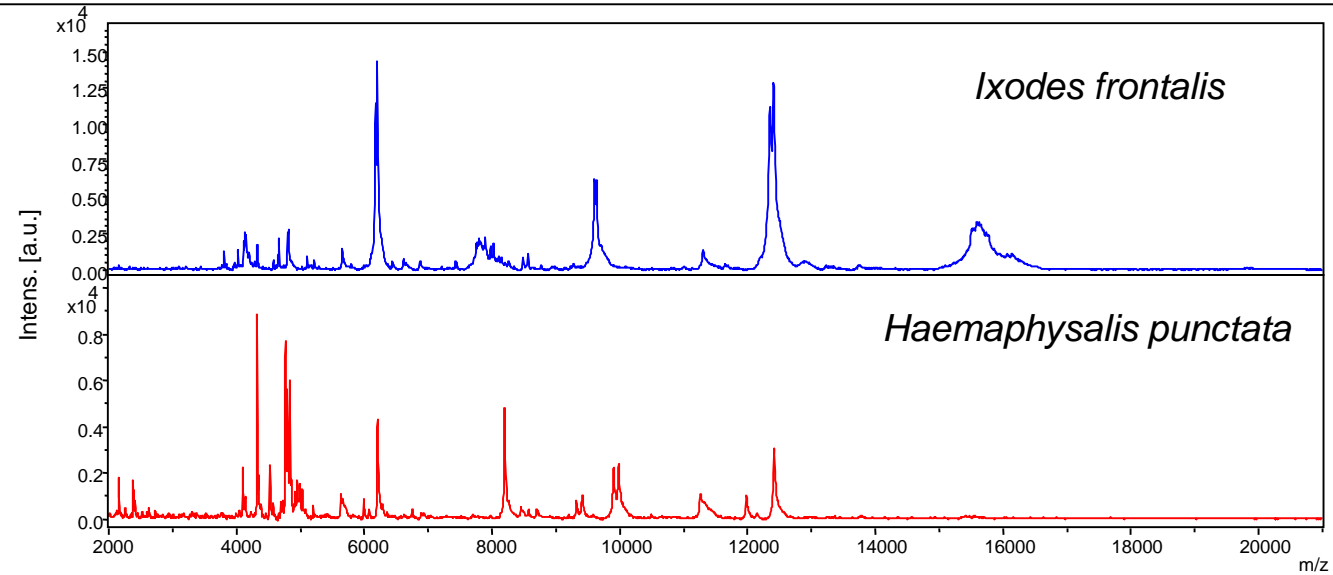
1146/1171 = 97,86%

Sans LSV>/= 1,7 → 1166/1171 (99,57%) d'identification correcte au niveau de l'espèce

Résultats : MALDI-TOF MS



Résultats : MALDI-TOF MS



Ixodes frontalis



Haemaphysalis punctata

Résultats: Détection et identification bactérienne

Bacteria (qPCR)
<i>Borrelia</i> sp.
<i>Rickettsia</i> sp.
Anaplasmataceae
<i>Bartonella</i> sp.
<i>Coxiella burnetti</i>



Table 4: Recapitulative of the number of ticks specimens positive for bacterial detection and identification. For each bacteria detected, corresponding tick species are numbered. When bacterial molecular identification was possible, the number of identified bacteria per tick species is provided. The collecting method for all the infected ticks is provided to the right. The 18 positive *D. marginatus* picked on animals originated from boars slain in Canjuers, Var, France.

☐

Résultats : 16S Analyse phylogénétique

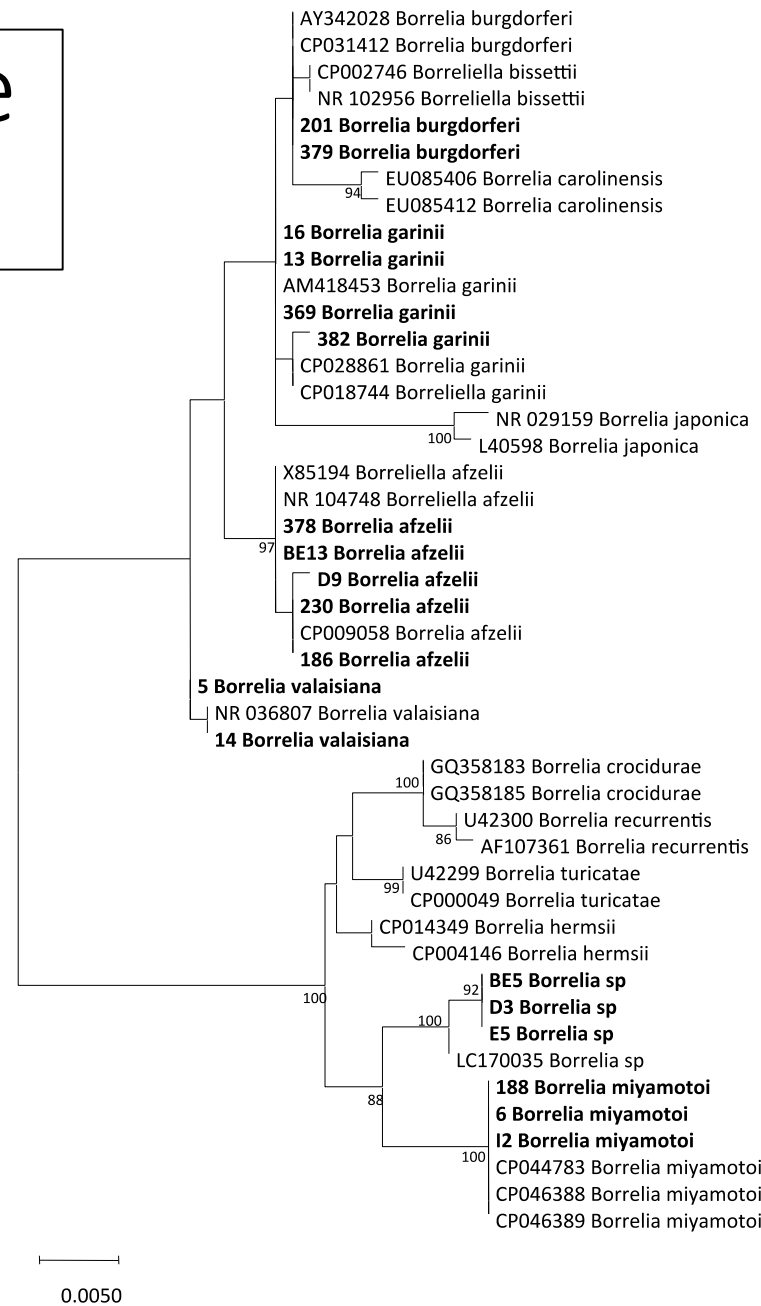


Figure 5. Phylogenetic tree showing the position of *Borrelia* 16S gene amplified from *I. ricinus* and *H. punctata* in this study (in bold) compared to other isolates of the same species and different species.

Résultats : *flaB* Analyse phylogénétique

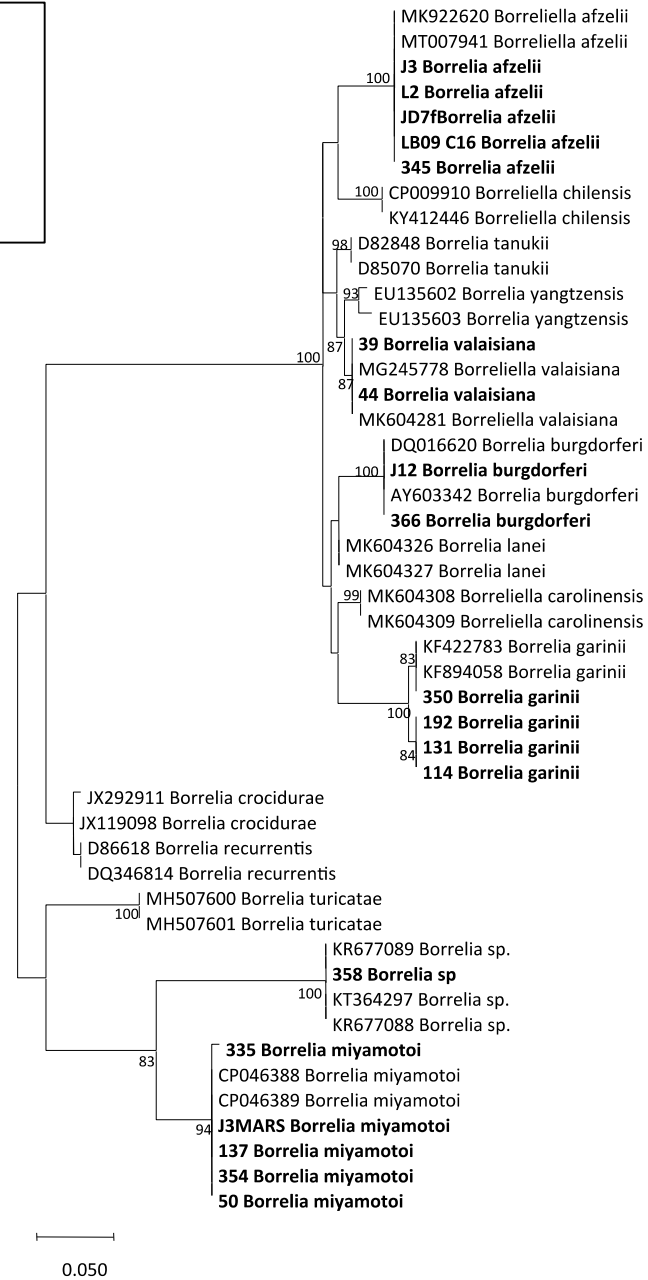
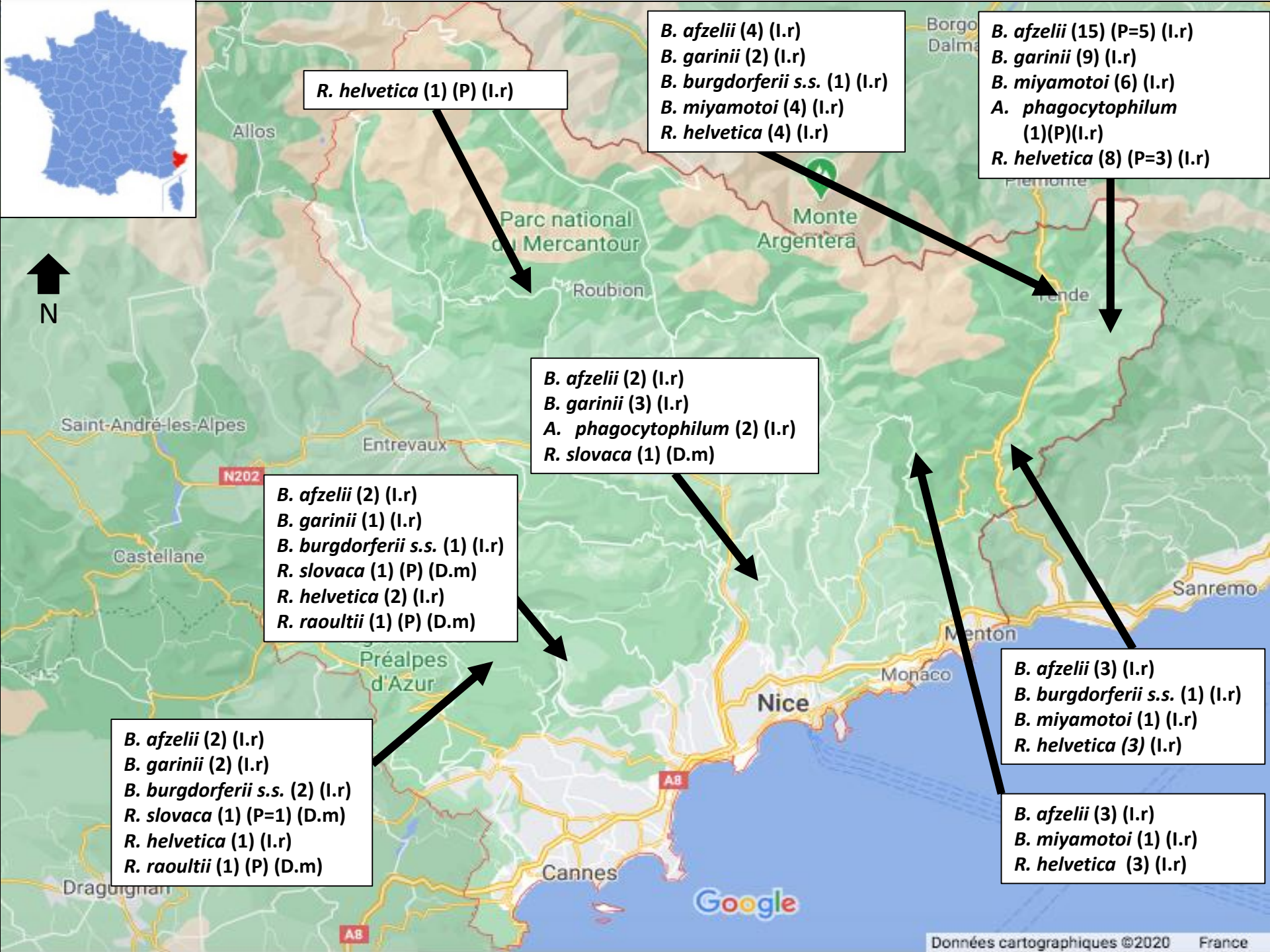


Figure 6. Phylogenetic tree showing the position of *Borrelia flaB* gene amplified from *I. ricinus* and *H. punctata* in this study (in bold) compared to other isolates of the same species and different species.



La maladie de Lyme menace dans le département

Un jeune interne en médecine niçois a découvert que des tiques, vecteurs de la maladie de Lyme, étaient bien présentes dans les Alpes-Maritimes, entre 400 et 1 200 m d'altitude.

Des cas ponctuels de borréliose de Lyme sont régulièrement enregistrés dans les Alpes-Maritimes. Mais se référant à des recherches conduites dans les années soixante-dix et ayant conclu à l'absence de la tique vectrice de cette infection dans le département, il est systématiquement signifié à ces malades qu'ils ont été probablement mordus à l'occasion d'un déplacement dans une autre région.

En 2016, un cas ébranlait ce dogme : une maladie de Lyme était, en effet, diagnostiquée chez un forestier vivant dans l'arrière-pays niçois et qui, preuves à l'appui, se défendait d'avoir quitté le département depuis plus de dix ans. Mais ce cas avéré de Lyme non importé ne parvenait pas à mettre fin au dogme. Et en septembre 2020, le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies⁽¹⁾, dans son dernier rapport, continuait de conclure à l'absence d'*Ixodes ricinus*, l'espèce de tiques principales vectrices de la maladie de Lyme, dans les Alpes-Maritimes.

Plus de 1000 tiques prélevées dans tout le moyen pays

Comment expliquer le phénomène, alors que ces tiques sont présentes sur la quasi-totalité du territoire ? Principale hypothèse avancée : un climat très sec, défavorable à son développement. Réponse insuffisante pour Jacques Sevestre, un jeune interne en biologie médicale « passionné par les petites bêtes et les maladies qu'elles



La tique [en incrustation] a besoin de beaucoup d'humidité pour vivre ce qui explique qu'il est très peu probable de se faire mordre sur le littoral. Jacques Sevestre [ci-dessus] a récolté les tiques entre 400 et 1 200 m d'altitude. (DR)

transmettent ». Dans le cadre de son master en sciences, le futur médecin décide d'aller vérifier lui-même, sur le terrain ce qu'il en est réellement⁽²⁾ : « Je souhaitais évaluer en vie réelle le risque d'attraper certaines maladies transmises par les tiques et en particulier la borréliose de Lyme. » C'est ainsi que pendant plus de deux ans (de

mai 2018 à septembre 2020), le jeune homme va arpenter les sentiers de randonnée et de chasse du moyen pays, armé de... drapeaux. « La méthode du drapeau (dragging method) permet de prélever les tiques à l'affût en simulant le passage d'un hôte. Ce leurre mécanique est réalisé à partir d'une pièce de tissu, appelée drapeau, qu'on

attache à un bâton ; les tiques, à l'affût en haut des brins d'herbe s'accrochent aux tissus en pensant qu'il s'agit d'un hôte. » Accompagné parfois d'autres étudiants, l'interne en médecine couvrira un large territoire : « La Roya, le Mercantour, l'arrière-pays grassois, le plateau de Caussols... » Une chasse très fructueuse, puisqu'elle lui permettra de prélever plus de 1 000 tiques dont un certain nombre sur... lui ! « Si on les retire très vite, dans les douze heures qui suivent leur fixation, le risque d'être infecté par la morsure est quasiment nul », tempère l'interne.

10 % des tiques infectées par des Borrelia du groupe Lyme

Cette « banque de tiques » issue du terrain va être enrichie d'une centaine de tiques retirées sur des patients reçus en consultation à l'hôpital à la suite de morsures, et d'une cinquantaine d'autres fournies par des chasseurs les ayant prélevées sur des animaux abattus.

Riche de ces 1 232 tiques, conservées dans des pots stériles, et identifiées en fonction de critères morphologiques, Jacques Sevestre peut alors conduire la seconde partie de son projet : étudier, en utilisant des techniques très innovantes, le portage par ces tiques, d'agents potentiellement pathogènes pour l'homme, et notamment la bactérie *Borrelia*. « Nous avons identifié six espèces différentes sur le territoire (il existe une quarantaine d'espèces en

France) ; mais c'est *Ixodes ricinus*, l'affût en haut des brins d'herbe s'accrochent aux tissus en pensant qu'il s'agit d'un hôte. » Et 10 % d'entre elles étaient infectées par des *Borrelia* du groupe Lyme. Soit une proportion assez similaire à ce qui est observé dans d'autres régions. »

Des résultats clairs, aussitôt publiés dans une revue scientifique et qui revêtent un intérêt majeur pour les autorités de santé régionales, les médecins, et tous les pratiquants de loisirs en zone verte. Jacques Sevestre rappelle, pour conclure, que « lorsque l'on est mordu par une tique, on ne sent rien. C'est quelques jours plus tard qu'apparaît, en cas d'infection, une cocarde rouge qui s'étend. Généralement, un traitement antibiotique, en cas d'infection permet de se rétablir. C'est plus ennuyeux lorsque la tique mord dans des zones difficiles à repérer : plis, aisselles, etc. Mais il faut savoir que, même en cas de morsure par une tique contaminée, le risque de transmission de la maladie de Lyme reste faible, évalué à moins de 10 %. Et que le système immunitaire est généralement capable d'éliminer la bactérie pathogène. »

NANCY CATTAN
ncattan@nicematin.fr

1. L'ECDC est une agence de UE qui a été créée en 2005 pour aider l'Europe à mieux se défendre contre les maladies infectieuses telles que la grippe, les maladies d'origine alimentaire et hydrique, et le VIH/sida.

2. Ces recherches ont été encadrées par le service de parasitologie du CHU de Nice et l'IHU Méditerranée Infection de Marseille.

Endémicité

- Cas documenté à *B. afzelii* sur biopsie d'EM (PCR)
- Série rétrospective niçoise de patients référés pour suspicion de BL : 18% de BL actives *a priori* autochtones



Ann Dermatol Venereol. 2022 Feb 17;S0151-9638(22)00003-5. doi: 10.1016/j.annder.2021.12.003. Online ahead of print.

First case of documented Lyme borreliosis in the Alpes-Maritimes department of South-Eastern France: Erythema chronicum migrans associated with *Borrelia afzelii*

P Del Giudice ¹, M Reverte ², E Giraudon ³, J Durant ⁴, S Ahmed Abdoulah ², B Jaulhac ⁵, J-P Poirier ⁶

Sevestre J, Benichou A, Rio V, Delaunay P, Gonfrier G, Martaresche C, Carlo V, Nakam S, Mondain V, Carles M, Jeandel PY and Durant J (2022) Emergence of Lyme Disease on the French Riviera, a Retrospective Survey. Front. Med. 9:737854. doi: 10.3389/fmed.2022.737854

Conclusion & Perspectives



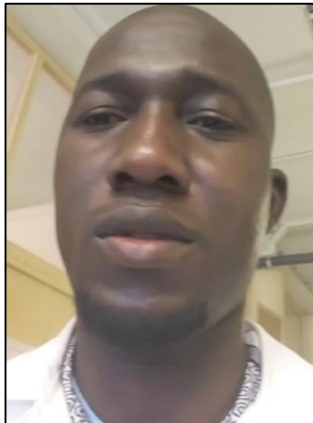
- Confirmation de la **présence d'*Ixodes ricinus*** dans les **Alpes-Maritimes**
 - Preuve d'endémicité pour **Lyme-group *Borrelia*** et d'autres pathogènes bactériens
 - MALDI-TOF MS applicable aux études épidémiologiques de terrain en France
- **Information** à visée des locaux, voyageurs, activités de loisir extérieurs et cliniciens (région touristique)
 - Investigation à la recherche d'autres pathogènes (parasites? arbovirus? *Borrelia* sp.?)
 - Reste du Sud-Est de la France

Detection of emerging tick-borne disease agents in the Alpes-Maritimes region, southeastern France

Jacques Sevestre^{a,b,c}, Adama Zan Diarra^{b,c}, Halilou Almou Oumarou^a, Jacques Durant^d, Pascal Delaunay^{a,e,1}, Philippe Parola^{b,c,1,*}

Remerciements

- **Financement:** IHU Méditerranée-Infection, REDPIT, DRCI CHU NICE, PACA Région, ARS PACA, Agence Nationale pour la Recherche, FEDER-PRIMI
- **Services de Parasitologie, Virologie, Infectiologie du CHU de Nice**
- **CNR Borrelia, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg**
- **Equipe 1, « Entomologie Médicale – Zoonoses et Microbiologie » VITROME, IHU Méditerranée-Infection, Marseille**



AZ DIARRA, PhD



HA OUMAROU



J DURANT, MD



P DELAUNAY,
PharmD, PhD



Prof. P PAROLA,
MD, PhD

Merci de votre attention !

