

ETUDE DES HÉMOPARASITES TRANSMIS PAR LES TIQUES À LA RÉSERVE ZOOLOGIQUE DE LA HAUTE TOUCHE, MNHN

Katia ortiz, Barbara Blanc, Alice Brunet, Héloïse Duchêne, Suzanne Bastian, Nathalie de la cote, Maggy Jouglin, Laurence Malandrin

HISTORIQUE

- Plusieurs cas identiques de cerfs récemment introduits au sein de la Réserve
- Même tableau clinique: léthargie, anorexie, hyperthermie +/- muqueuses hyperhémiques
- Hypothèse: maladie transmise par les tiques (« les nouveaux cerfs ne tiennent jamais »)

EXEMPLES DE CAS CLINIQUES

2005: Cerf du père David (*Elaphurus davidianus*) âgé de 3 ans

- Retrouvé en septembre, soit 4 mois après son arrivée agonisant avec les muqueuses sales
- Autopsie: RAS
- Sérologie positive à *Anaplasma phagocytophilum* (IFI), signifiant un contact avec le parasite au cours des 4 mois précédents
- Peut-être une piste...



Mars 2009: wapiti (*Cervus elaphus canadensis*) âgé de 2 ans

- Arrivé en aout 2008
 - Tête basse, titube, anorexie, apathie
 - AG: hyperthermie ++, muqueuses sales
 - Traitement instauré: Perfusion, **carbesia**, **oxytétracycline LA**, flunixinine méglumine
- } Même tableau clinique
- Problème de qualité de prélèvements (envoi problématique)
 - L'animal est encore mou le lendemain puis reprend son état normal ensuite



2009: Cerf de Bactriane (*Cervus elaphus bactrianus*) âgé de 4 ans

- Arrivé 3 ans auparavant et présentant un amaigrissement chronique important
- Coprologie positive avec trichures
- AG suite à léthargie et anorexie en février
- Quelques tiques présentes sur l'animal (*I. ricinus*)
- Muqueuses sales, hyperthermie
- Traitement instauré: Perfusion, Carbesia (2,5 ml/100 kg), ivermectine
- Frottis négatif, **sérologie positive à *A. phagocytophilum* (IFI)**
- L'animal reprend doucement du poids et de l'état



A. PHAGOCYTOPHILUM

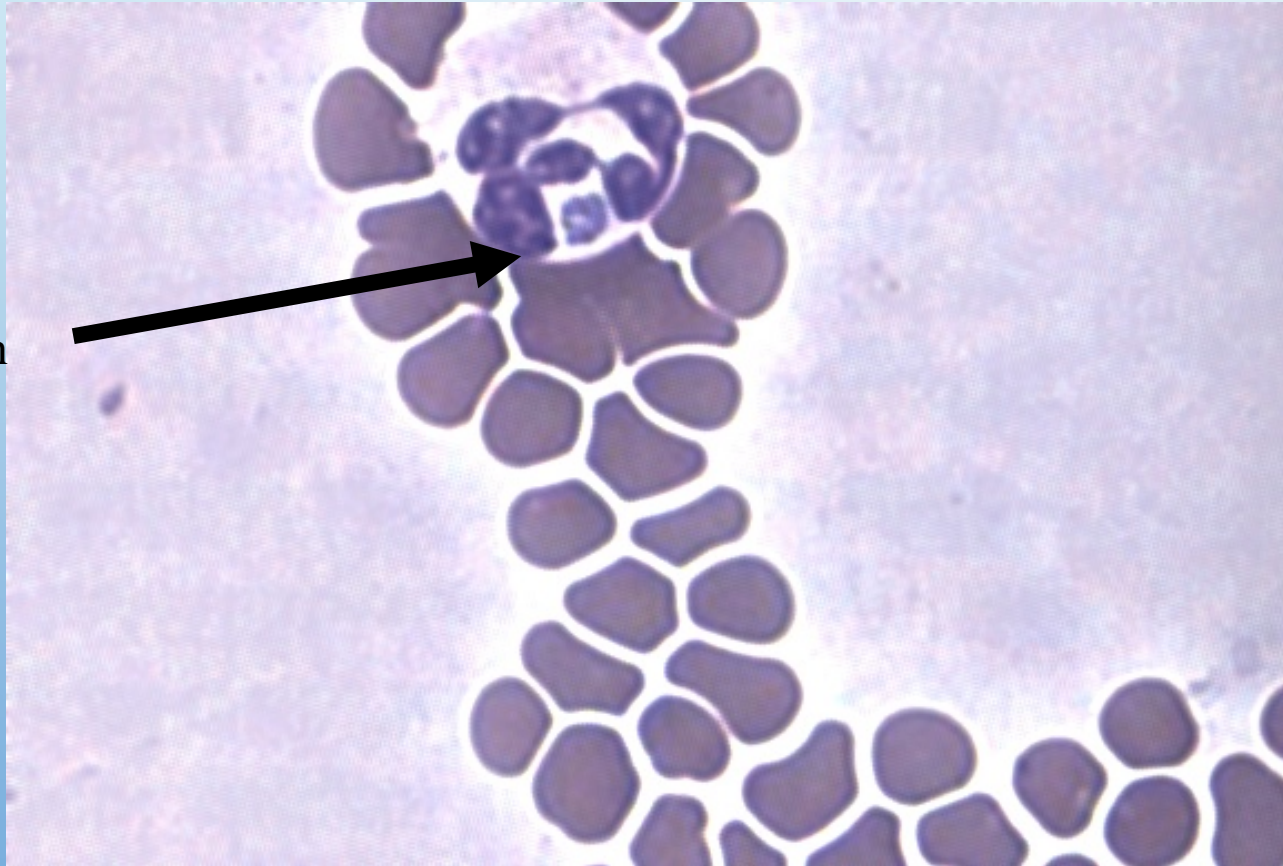
Bactérie cellulaire obligatoire présente dans le cytoplasme des cellules sanguines, notamment les neutrophiles, transmise par les tiques

3 espèces en Europe:

A. phagocytophilum

A. marginale

A. ovis



Morula dans un polynucléaire neutrophile



I. ricinus

A. PHAGOCYTOPHYLUM

- Agent de la « tick-borne fever » chez les ruminants
- Peut infecter un grand nombre d'hôtes
- Mammifère = réservoir principal
- Prévalence élevée chez les cervidés:
 - ✓ Chevreuils jusqu'à 98,9% (*Overzier et al. 2013*)
 - ✓ Cerfs élaphe 87% (*Stuen et al. 2013*)
 - ✓ Daims 72% (*Eani et al. 2011*)
 - ✓ Sikas 50% (*Robinson et al. 2009*)

PHASE AIGUË (BOVINS)

- **Hyperthermie brutale** : 41-42°C au début
- Baisse brutale de la production laitière (> 50%)
 - souvent seul signe clinique d'alerte
- Syndrome grippal :
 - toux sèche au départ puis grasse très productive
 - polypnée, essoufflement
- **Asthénie** et troubles de la locomotion
- Œdème et empâtement des paturons
= maladie des gros paturons (inconstant mais très significatif)
- Avortements possibles (précoces ou tardifs)

PHASES SUB-AIGUE ET CHRONIQUE (BOVINS)

- **Phase sub-aiguë**

Lente remontée de la lignée leucocytaire

Période de grande fragilité aux autres pathogènes: pneumonies, mammites, babésiose, anaplasmose à *A. marginale*

- **Phase chronique**

Portage chronique asymptomatique

Réservoir pour les tiques

CONSEQUENCES POUR LA GESTION

- « Prévention » avec de l'oxytétracycline (avant le départ, puis 2 fois à 3 j d'intervalle (forme LA))
- Sensibilisation des soigneurs
- Traitement des crises : oxyTC et flunixinine méglumine +/- carbesia
- Succès pour les nouveaux cas (plus aucun signe clinique évocateur ensuite)

HYPOTHESES

- Les cerfs déjà présents sur le parc s'immunisent dans leur jeunesse et un équilibre s'instaure
- Les cerfs non natifs sont confrontés plus ou moins rapidement à des tiques vectrices d'*A. phagocytophilum*. L'animal présente alors un tableau clinique évocateur. S'il est traité à temps, une immunité protectrice se met en place

Pourquoi les ruminants situés dans la même zone géographique ne sont-ils pas concernés?

FEVRIER 2009: ARRIVEE DES 1^{ERS} RENNES

- Origine: parc citadin
- Anorexie intermittente, mangent peu le granulé proposé
- Le 1^{er} mâle est euthanasié en mars après une phase d'anorexie et de léthargie sur plusieurs jours persistant malgré les soins
- Avril : décès d'une des femelles
- Une hémoparasitose n'est pas écartée malgré les résultats décevants des analyses (PCR inhibée..)
- Mai: décision de renvoyer les 2 survivantes dans leur parc d'origine



- 01/10/2009: arrivée d'un couple provenant d'un parc boisé
- 14/10:: le mâle est apathique, hyperhémique. Il reçoit Estocelan, carbesia et oxyTC. **Frottis négatif**
- 25/10: hématurie → carbesia
- 28/10: transfert de parc moins boisé puis 2 mois ok
- 15/01/10: Faiblesse, hyperthermie, muqueuses très foncées. Reçoit **carbesia**, **oxyTC**, perfusion, flunixinine méglumine, fercobsang + spasmoglucinol car difficultés à uriner
- 16/01: décès (péritonite)

→ Nouveaux éléments: plusieurs épisodes fébriles, hématurie

- 02/02/10: AG de la femelle (Sidonie). Hyperthermie ++, reçoit perfusion, **oxyTC et carbesia**

→ A. phagocytophilum est trouvé sur frottis sanguin

- 25/02: 2nd épisode fébrile avec hématurie → idem + fercobsang
- 02/03: transfert dans un enclos type pré pour diminuer la pression parasitaire
- Plus de souci, l'animal est en bonne forme
- 11/05/10: retrouvée agonisante

→ Frottis positif à Babesia

BABESIA SPP.

Protozoaire hémoparasite présent uniquement dans les GR, transmis par les tiques

Babésiose dite « mal de mai ou pissement de sang »

Symptômes différents selon l'hôte infecté

Portage asymptomatique très fréquent

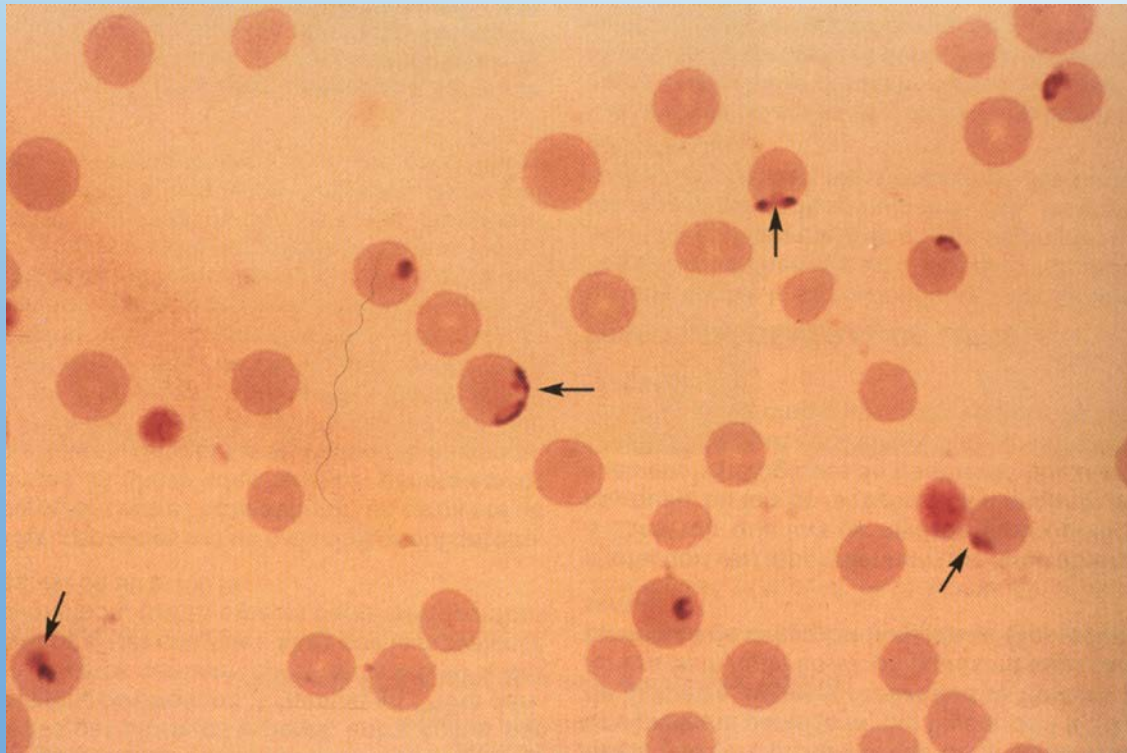
4 espèces présentes en Europe sur Cervidés et/ou Bovidés:

B. divergens

B. capreoli

B. venatorum

B. pecorum



I. Ricinus (sauf pecorum)

Transmission trans-ovarienne possible

QUESTIONS SOULEVÉES

- Les rennes présentent-ils une sensibilité particulière aux hémoparasites? (plusieurs épisodes hyperthermiques, mortalité malgré traitement)
- Est-ce que l'anaplasmose est restée présente à bas bruit et a favorisé la sensibilité à *Babesia*, voire à d'autres pathogènes? (cas du mâle avec symptômes digestifs, femelle avec *Babesia*)
- Comment diminuer ce phénomène ? (lutte contre les vecteurs, prévention?)


+ problématique des tests proposés...



2015

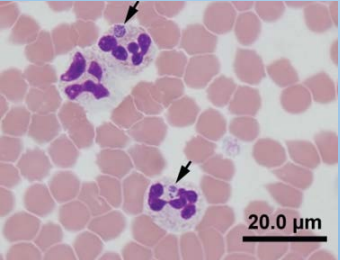

**Mise en place d'une collaboration de recherche
avec l'UMR BioEpAR (Laurence Malandrin)**

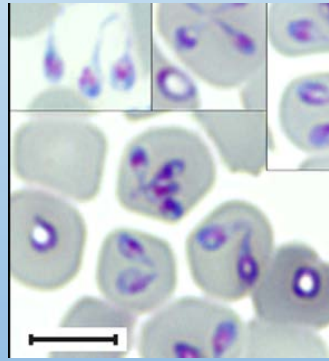
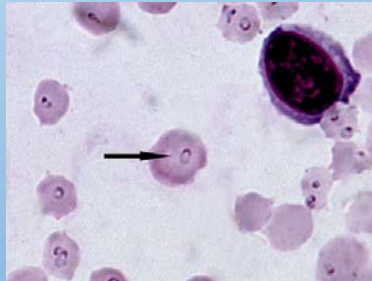
Objectifs

- 2015 : caractérisation des différentes espèces de protozoaires sanguins circulant chez les ongulés du parc
 - 2016 : élargissement des recherches à *Anaplasma* et *Bartonella*
 - 2017 : études des tiques vectrices présentes sur le parc
- 

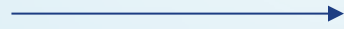
1er volet de l'étude

Les bactéries et protozoaires sanguins recherchés sur les animaux du parc

Bactéries	
<i>Anaplasma</i> spp.	<i>Bartonella</i> spp.
<p><i>A. phagocytophilum</i> :</p> <p><i>A. marginale</i></p> <p><i>A. ovis</i></p> <p><u>Cellules parasitées:</u> Globules blancs, macrophages, hématies, cellules endothéliales (Rikihisa, 1991)</p>  <p>A light micrograph showing several purple-stained, kidney-shaped organisms (Anaplasma spp.) attached to the surface of red blood cells. Two black arrows point to specific organisms. A scale bar in the bottom right corner indicates 20.0 μm.</p>	<p><i>B. bovis</i></p> <p><i>B. capreoli</i></p> <p><i>B. chomelii</i>.</p> <p><u>Cellules parasitées:</u> Hématies, macrophages et cellules endothéliales (Regier et al., 2016)</p>  <p>A light micrograph showing a pink, rod-shaped bacterium (Bartonella spp.) with long, thin, hair-like flagella extending from one end. The background is dark brown.</p>

Protozoaires	
<i>Babesia</i> spp.	<i>Theileria</i> spp.
<p><i>B. divergens</i></p> <p><i>B. capreoli</i></p> <p><i>B. venatorum</i></p> <p><i>B. pecorum</i></p> <p><u>Cellules parasitées:</u> Hématies (Schnittger et al., 2012)</p>  <p>A light micrograph showing several purple-stained, pear-shaped organisms (Babesia spp.) with two flagella, attached to the surface of red blood cells. A white scale bar is located in the bottom left corner.</p>	<p><i>T. annulata</i></p> <p><i>T. capreoli</i></p> <p><i>T. ovis</i></p> <p><u>Cellules parasitées:</u> Lymphocytes, macrophages, hématies (Mans et al., 2014)</p>  <p>A light micrograph showing a large, dark, oval-shaped organism (Theileria spp.) with a prominent nucleus, surrounded by other cells. A black arrow points to a smaller, purple-stained organism. A white scale bar is located in the bottom left corner.</p>

PRÉPARATION ET ANALYSE DES ECHANTILLONS DE SANG



- **Extraction ADN**
- **Culture in vitro des parasites (+ frottis)**
- **Amplification moléculaire (PCR nichée)**
- **Typage par séquençage**

**Avril 2015 - juin 2017 :
392 prélèvements**

39 espèces et sous-espèces
5 familles différentes

RÉSULTATS

Prévalence des hémoparasites:

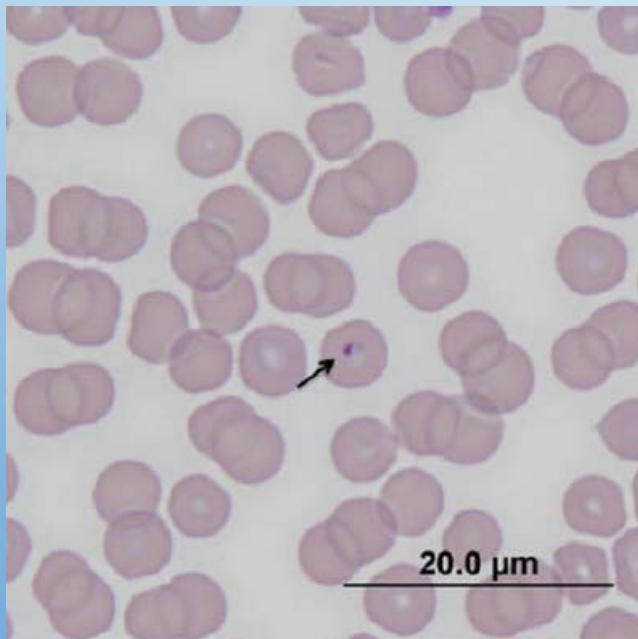
- *Theileria spp.* 35,9 % (60 positifs sur 167 testés)
 - *Bartonella spp.* 15,2 % (41 +/- 269)
 - *Anaplasma phagocytophilum* 13 % (28 +/-215)
- (*Babesia* 7,2 % → contamination possible?)

THEILERIA

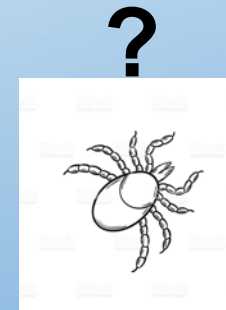
Protozoaire hémoparasite
Responsable de la theilériose tropicale (*T. annulata*) ou Mediterranean Coast Fever
Large éventail d'hôtes
Pathogénie??

En Europe:
T. annulata (bovins)
T. ovis (ovins, caprins, chamois)
T. capreoli et proches (chevreuil, cerf élaphe, muntjac, suidés?)

Groupe taxonomique mal défini



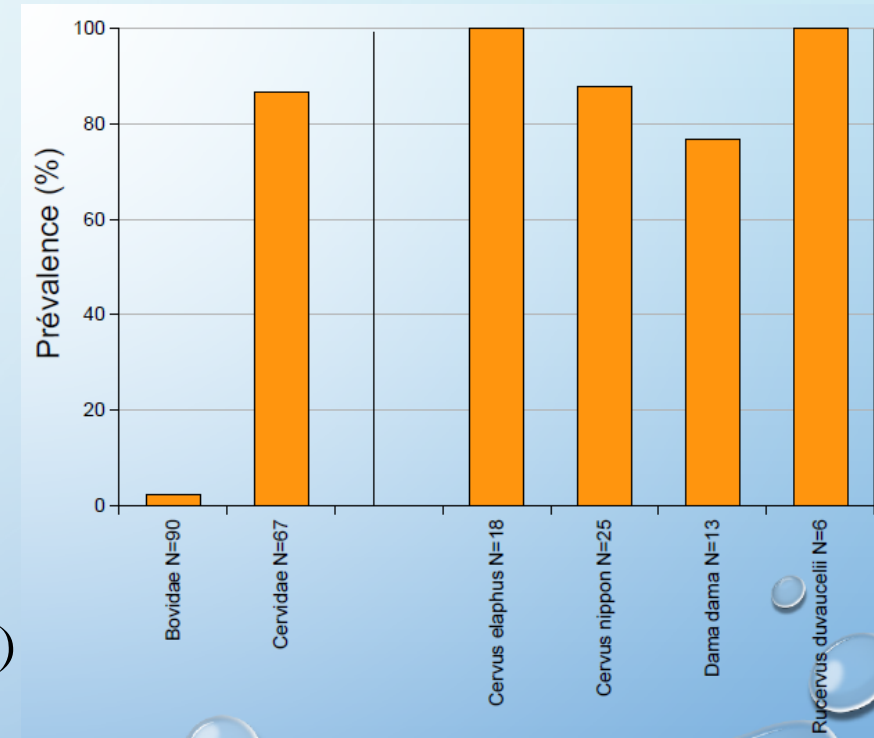
Rhipicephalus spp.

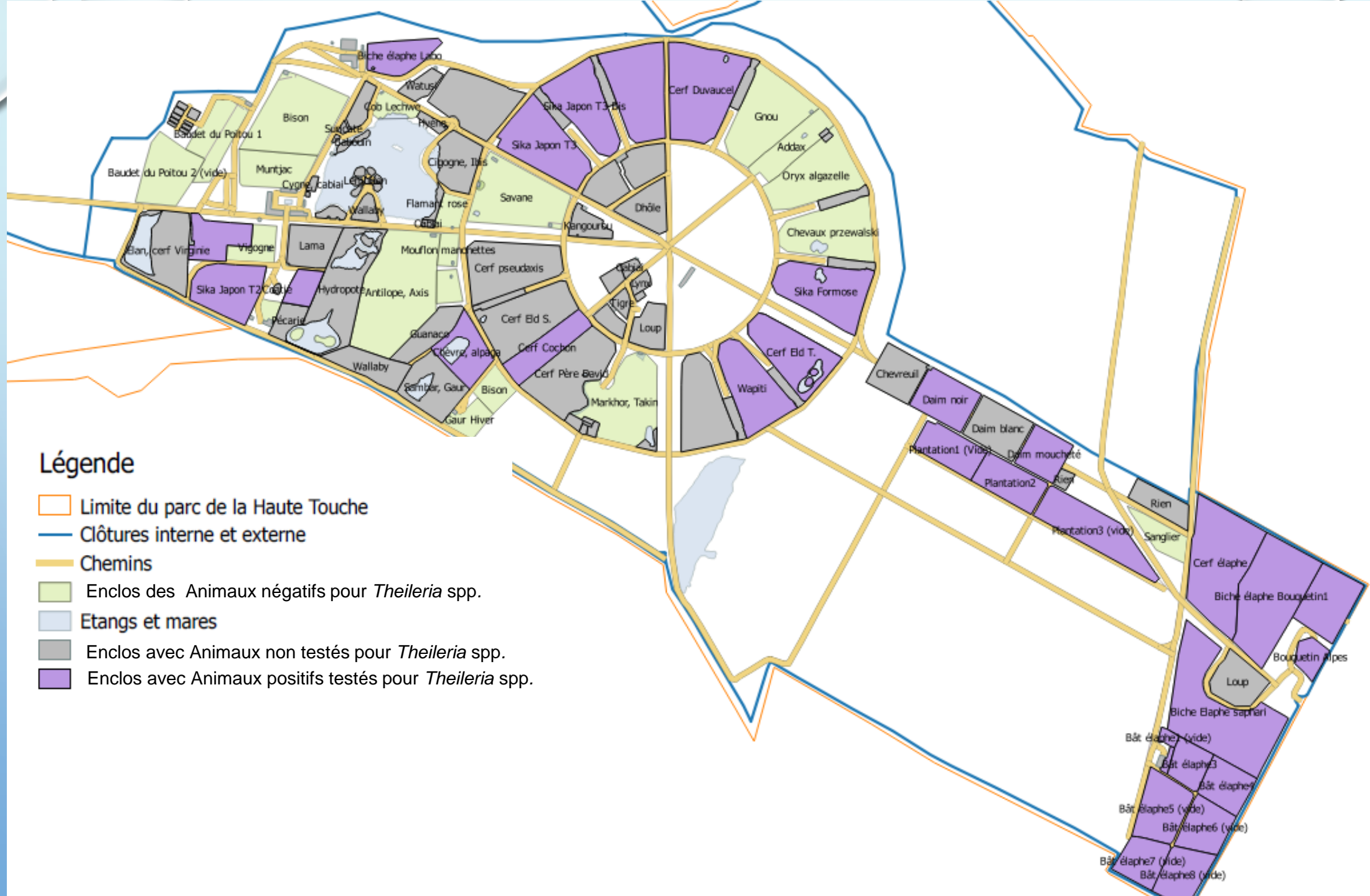


H. asiaticum

THEILERIA PRESENTES SUR LE PARC

- Détection uniquement du groupe *T. capreoli* et proches
- Aucun camélidé, suidé et équidé ne semble infecté, bovidés faiblement (P 2,2%)
- Cervidés presque tous infectés (P 86,6%) sans différence significative entre genre et espèces.
- La prévalence sur *C. elaphus* (ici 88%) est plus élevée que celle trouvée dans une étude sur des cerfs sauvages au Portugal (43,8%) (*Pereira et al.*, 2016)
- Pour le daim, prévalence similaire à une population sauvage de forte densité en Italie (*Galuppi et al*, 2010)
- Pas de sika positif pour *T. capreoli*, tout comme dans une étude en Chine (*Li et al.* 2014)





Légende

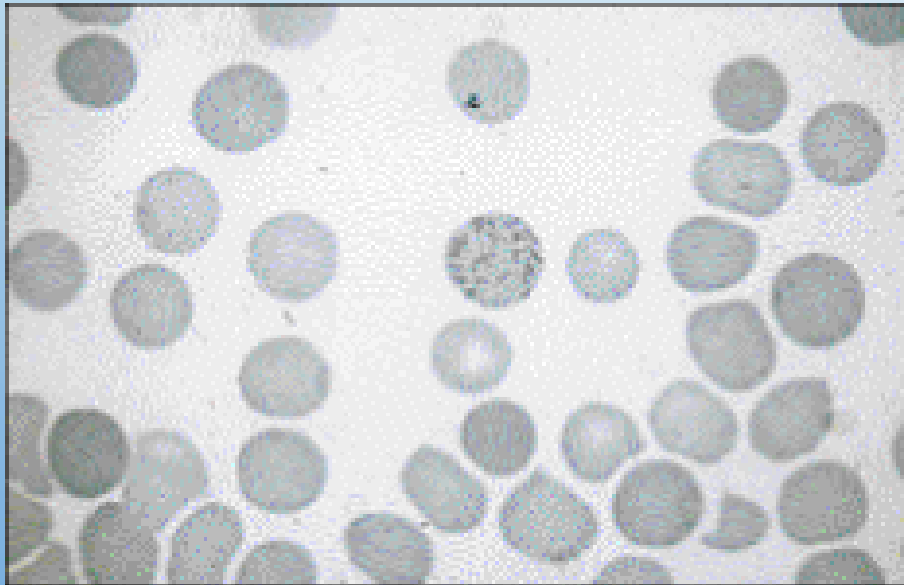
- Limite du parc de la Haute Touche
- Clôtures interne et externe
- Chemins
- Enclos des Animaux négatifs pour *Theileria* spp.
- Etangs et mares
- Enclos avec Animaux non testés pour *Theileria* spp.
- Enclos avec Animaux positifs testés pour *Theileria* spp.

BARTONELLA

Parasite des GR, cellules endothéliales et
macrophages

Agent de la Bartonellose

Endocardites fréquentes



Bartonella intra-érythrocytaires chez un petit rongeur observées après coloration de May-Grünwald Giemsa. www.jle.com

En Europe:

B. bovis (chevreuil élaphe Adamska 2008)

B. capreoli (chevreuils, élans Canada)

B. chomelii, *melophagi*, *schoenbuchensis*
(P 80% chevreuils, vaches, élahe)

B. henselae



Lipoptena cervi



Stomoxys



Haematobia

BARTONELLA

- 269 individus testés- 41 positifs
 - *B. bovis*, *B. chomelii*, *B. schoenbuchensis*, *B. schoenbuchii*.
 - Prévalence pour *Bartonella* spp.
 - ✓ Bovidae (N = 132): 2,3%
 - ✓ Cervidae (N = 112): 33,9%
 - ✓ Suidés: 10%
- résultats similaires dans une étude en Pologne (Malgorzata, 2008)

ANAPLASMA

- 215 individus testés - 28 positifs
 - 1 *Anaplasma marginale*
 - *A. phagocytophilum*
 - Prévalence pour *A. phagocytophilum*
 - ✓ Bovidae (N = 120) : 1,7%
 - ✓ Cervidae (N = 85) : 29,4%
- C. Elaphus* 43,3% (litt moy 39,1) , *C. nippon* 36,4% (38,6), *Dama dama* 11,1% (18,4)
- confirmé par la synthèse biblio faite par *Stuen et al* en 2013

CO-INFECTIONS

- Presque toutes les combinaisons d'agents pathogènes ont été trouvées
- Co-infections seulement chez les cervidés
 - ✓ 32,8% avec 2 agents pathogènes (élaphe, sika, duvaucel, daims, chevreuils et wapitis)
 - ✓ 8,6% avec 3 agents pathogènes (élaphe, sika, daims de Mésopotamie)
 - ✓ 1,7% avec 4 agents pathogènes (wapiti)

ILLUSTRATION: CAS DES FEMELLES WAPITI

- 2 femelles arrivées du Bouy le avril 2015, passif inconnu (IDRC nég, brucella nég, vermifugées à l'arrivée) + 1 femelle née chez nous en 1991
- Boucle mauve: 3 épisodes fébriles en mai, septembre et finit par mourir en janvier
→ *Theileria sp* + *T. capreoli* + *A. phagocytophilum* + *B. shoenbuchensi*
- Boucle jaune: 3 épisodes fébriles en septembre, mars et avril
→ *B. shoenbuchensi* (*A. phago* négative et pas testé pour le reste)
- Mamie: épisode fébrile fin novembre (TR 40,6° Dyspnée, souffle cardiaque, urée/créat augmentées)
→ *Theileria sp* + *A. phagocytophilum*

NOUVEAUX CAS... NOUVELLES QUESTIONS

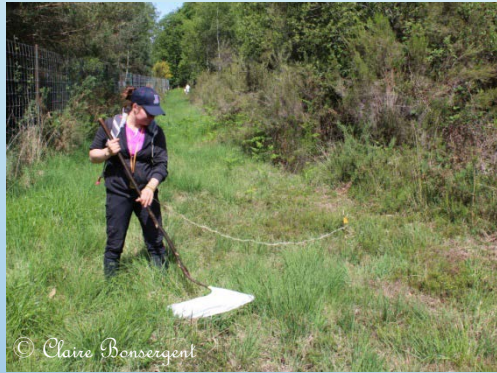
- Atteinte de cerfs natifs de la RZHT (mamie wapiti, mâle wapiti)
- Mortinatalité de cerfs de Duvaucel (*Rucervus duvaucelli*). Autopsie: vessie pleine avec urines sombres (lait dans la caillette). Hypothèse hémoparasitaire
- Décès de jeunes chevreuils de 4 mois couverts de tiques, cachectiques
- Poursuite de l'étude...



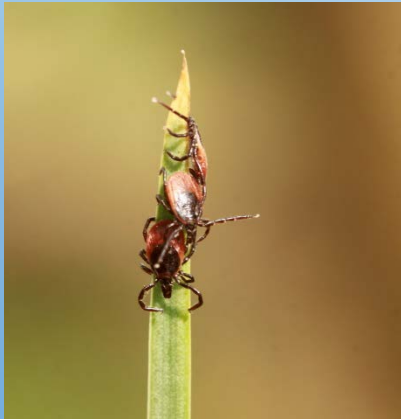
2^e volet de l'étude

Les tiques présentes dans le parc

101 points de collecte au drapeau, 4 zones collectées à vue



Collecte au drapeau des tiques sur le cercle d'un rayon de 3 m



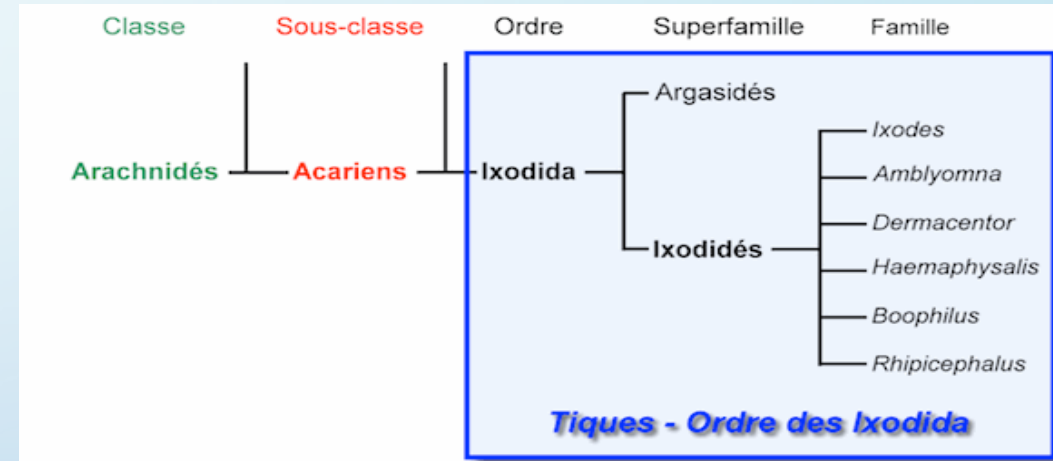
Collecte des tiques adultes sur la végétation

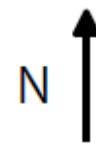


RESULTATS

Diversité des espèces de tiques

- 7 espèces identifiées
 - *D. marginatus* et *D. reticulatus*
 - *H. concinna* et *H. inermis*
 - *H. acuminatus*, *I. frontalis* et *I. ricinus*
- 3 espèces dominantes





7,9 tiques/points

Moyenne : 66 tiques/100 m²

De 0 à 1306 tiques/100 m²

18,3 tiques/points

87,6 tiques/points

18,5 tiques/points

Légende

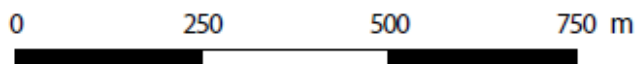
- Limite de la réserve zoologique de la Haute Touche
- Clôtures externe et interne du parc
- Chemins
- Endos des animaux
- Etangs et mares
- Bâtiments

Nombre de tiques (adultes et nymphes) collecté par point (cumul des 2 prélèvements)

- 0.0 - 10.0 tiques
- 10.0 - 20.0 tiques
- 20.0 - 60.0 tiques
- 60.0 - 100.0 tiques
- 100.0 - 200.0 tiques
- 200.0 - 400.0 tiques
- 400.0 - 520.0 tiques

Zones définies pour étudier l'abondance relative

- Ext. N. Parc 67 tiques/100m²
- Cervidés sauvages 322 tiques/100m²
- Biches élevages 68 tiques/100m²
- Int. Parc O. 29 tiques/100m²



Produit par Duchêne Héloïse en 2017.
Sources: (O) IGN-BD ORTHO 50cm (R)-IGN-2014
référentiel géographique RGF93 Lambert 93

CONCLUSIONS DE L'ÉTUDE

- 8 agents pathogènes sanguins circulants sur le parc
- Prévalence supérieure chez les cervidés due à une sensibilité plus grande que les bovidés
- Portage asymptomatique sauf exceptions (rencontre des pathogènes pour la 1^e fois, renne, immunité mal acquise chez le jeune ou pluri-portage)
- Co-infection de 1 à 4 parasites: association de malfaiteurs - clinique?
- 3 tiques dominantes: *I. ricinus*, *H. concinna* et *H. inermis* avec forte hétérogénéité spatiale

CONSEQUENCES SUR LA GESTION

- Prévention:
 - ✓ Environnement: asphodèles, délimitation de zones très infestées par les tiques sur le parc
 - ✓ Acclimatation des nouveaux arrivants hors zones à risque et hors période à risques (Avril à Juin et Septembre)
 - ✓ Traitements antiparasitaires, bien que difficiles à mettre en place. Intérêt de la TC?
 - ✓ Prévention du personnel
- Pendant la crise:
 - ✓ Analyses systématiques (NB 5,8% frottis positifs dans l'étude)
 - ✓ Traitement ad hoc :Carbesia ? (Babesia>Anapl>Theileria) (butaline?? Non trouvable en France), anti-parasitaire, oxyTC, AINS

PERSPECTIVES

- Poursuite de l'étude avec PS avant l'arrivée des animaux ou régulièrement pendant leur vie
- Prévalence des agents chez les tiques
- Dissection et analyse des glandes salivaires des tiques adultes gardées vivantes : renseigne sur la compétence vectorielle des tiques
- Analyse/cartographie spatiale des risques
- Recherche d'autres agents infectieux : *borrelia*, *rickttesia*, virus...

CONTACT

- Si une étude vous intéresse:
- Laurence Malandrin, UMR bioepar : unité mixte de recherche en biologie épidémiologie et analyse de risque en santé animale (Nantes)
- **laurence.malandrin@oniris-nantes.fr**

MERCI DE VOTRE ATTENTION

