

Déterminants environnementaux de la répartition et de l'incidence de la borréliose à tiques à *Borrelia crocidurae* en Afrique de l'Ouest et du Nord

Jean-François Trape¹, Georges Diatta¹, Céline Arnathau², Jean-Marc Duplantier³, Laurent Granjon³, Patrick Durand² & François Renaud²

¹ Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses Tropicales Emergentes (URMITE), Institut de Recherche pour le Développement, BP 1386, Dakar, Sénégal. E-mail : trape@ird.sn, diattag@ird.sn

² Laboratoire de Génétique et Évolution des Maladies Infectieuses (GEMI), UMR IRD-CNRS 2724, 911 avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier, France. E-mail : francois.renaud@ird.fr, patrick.durand@ird.fr

³ Centre de Biologie et de Gestion des Populations (CBGP), Institut de Recherche pour le Développement, BP 1386, Dakar, Sénégal. E-mail : duplantier@ird.sn, granjon@ird.sn

Introduction

La fièvre récurrente à tiques à *Borrelia crocidurae*, maladie méconnue, constitue après le paludisme la première cause de morbidité par maladie infectieuse dans plusieurs régions d'Afrique de l'Ouest (1-3). En zone rurale, de 5% à 25% de la population du Sénégal contracte chaque année cette maladie qui ne procure pas d'immunité protectrice durable (3). Elle est classiquement transmise par la piqûre de la tique *Ornithodoros sonrai*, espèce jadis limitée aux régions sahariennes et sahéliennes, mais qui présente depuis le début des années 1970 une forte extension géographique en zone de savane soudanienne du fait de la persistance de la sécheresse (2). Cette tique, qui vit habituellement dans les terriers des petits mammifères, réservoir animal de la borréliose, pique occasionnellement l'homme et lui transmet ainsi la maladie, notamment lorsque des terriers débouchent à l'intérieur des habitations ou dans les cours de concessions, ce qui est le cas dans la quasi-totalité des villages en savane africaine. La présence du vecteur ou de la maladie a été signalée dans

plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest et au Maghreb (4-9), mais peu de données sont disponibles sur la répartition géographique précise d'*O. sonrai*, les espèces animales réservoir de la maladie, la fréquence de l'infection chez le vecteur et le réservoir animal, l'incidence de la maladie chez l'homme ainsi que l'ensemble des paramètres environnementaux gouvernant la répartition et l'épidémiologie de la maladie.

L'objectif du projet était de cartographier la répartition des tiques ornithodores en Afrique de l'Ouest et au Maroc, de rechercher la présence de borrelies chez les tiques et les mammifères sauvages, de typer génétiquement les populations de vecteurs et de borrelies collectées et d'identifier les déterminants environnementaux de la distribution du vecteur et de l'infection.

Matériel et méthodes

Echantillonnage des tiques

Pour étudier la répartition géographique des tiques ornithodores, nous avons conduit trois séries d'enquêtes:

- 1) Une enquête en transect le long du 14^{ème} parallèle au Sénégal, Mali, Burkina Faso, Niger et Tchad, de 16°W (près de la côte atlantique au Sénégal) à 22°E (près de la frontière du Soudan au Tchad). L'échantillonnage était effectué tous les deux degrés de longitude, soit au point exact du croisement méridien/parallèle déterminé par GPS (16°W/14°N, 14°W/14°N, 12°W/14°N, etc...), soit dans un rayon de 10' autour de ce point (distance maximale : 20 km) en fonction de son accessibilité et de l'environnement local.
- 2) Trois transects Nord-Sud le long de trois méridiens : 12°W (au Maroc, Mauritanie, Sénégal, Guinée), 2°E (au Mali, Niger, Burkina Faso et Bénin), et 14°E (au Tchad et Cameroun). L'échantillonnage était effectué à chaque degré de latitude, respectivement de 10°N à 28°N, de 6°N à 19°N, et de 8°N à 14°N. Au Maroc, le transect a également été continué SW/NE jusqu'à 35°N/2°W sur la côte méditerranéenne et un échantillonnage complémentaire a été effectué dans les régions côtières de ce pays ainsi que dans quelques localités d'Algérie et de Tunisie.
- 3) A partir des résultats des recherches précédentes, de nouvelles enquêtes ont été effectuées au Sénégal, en Mauritanie, au Mali et au Niger afin de déterminer à l'échelle du demi ou du quart de degré carré les limites sud et est de la répartition du vecteur. Des enquêtes complémentaires ont également été effectuées dans plusieurs régions du Tchad, du Niger, de

Guinée, du Libéria et du Togo afin de confirmer ou d'infirmier des hypothèses de répartition du vecteur issues des résultats précédents.

Tous les sites d'échantillonnage ont été présélectionnés à partir de leur position géographique. Dans chaque site, de 30 à 60 terriers ont été étudiés (30 terriers si un ou plusieurs terriers étaient positifs pour la présence de tiques ornithodores et jusqu'à 60 lors des études en transect quand les terriers étaient négatifs). Les tiques étaient collectées en introduisant un tuyau flexible à l'intérieur des terriers et en aspirant leur contenu en utilisant un aspirateur portable à essence. Dès leur collecte, les tiques étaient immédiatement placées dans de l'éthanol absolu (un tube par terrier positif) jusqu'à leur détermination et l'extraction du DNA. En règle générale, trois ou quatre stations d'échantillonnage étaient sélectionnées dans chaque site, en incluant chaque fois un village (sauf dans la plupart des sites nord-sahéliens et sahariens qui étaient inhabités) où plusieurs concessions étaient enquêtées et où les tiques étaient recherchées à la fois dans les terriers et dans les fissures du sol et des murs des habitations. Les autres stations étaient sélectionnées dans des écosystèmes naturels et/ou anthropisés représentatifs de l'environnement local.

Echantillonnage des petits mammifères

Afin d'étudier le réservoir animal vertébré des *Borrelia*, nous avons capturé des rongeurs et insectivores au Sénégal, au Mali, au Burkina Faso, au Benin, au Niger, au Tchad, au Cameroun, en Mauritanie et au Maroc. Ces captures ont été faites le long des méridiens 12°W, 2°W et 14°W ainsi que dans différents sites complémentaires au Sénégal, dans l'ouest et le centre du Mali et dans le sud du Maroc. Les animaux étaient capturés avec des pièges appâtés au beurre d'arachide ou directement à la main ou au filet lors de prospections nocturnes. Après anesthésie au chloroforme, une goutte épaisse était effectuée et des échantillons de sang et de cerveau étaient prélevés pour la recherche d'une infection à *Borrelia* par inoculation à la souris blanche ou par PCR (10).

Patients

Pour une comparaison moléculaire des *Borrelia* chez le vecteur, les petits mammifères et l'homme, nous avons collecté des échantillons de sang chez des patients fébriles d'un village sénégalais (Dielmo, 13°43'N, 16°24'W) où un suivi longitudinal de l'incidence de la borréliose est en cours depuis 1990 (3).

Méthodes en biologie moléculaire

Les tiques morphologiquement déterminées comme *O. sonrai* et à *O. erraticus* ont été caractérisées génétiquement par séquençage partiel du gène mitochondrial 16S rDNA comme précédemment (11), après extraction/purification d'ADN des tiques avec le DNeasy Tissue Kit (Qiagen).

La recherche et l'identification d'une infection par *Borrelia* ont été effectuées par amplification spécifique des gènes de la flagelline (FLA) et de la séquence intergénique (IGS) dans les échantillons de toutes les stations où des ornithodores ont été trouvés.

Résultats

Répartition géographique des tiques ornithodores

Nous avons étudié la présence de tiques ornithodores dans 8699 terriers de 208 sites de 10 pays d'Afrique de l'Ouest (Mauritanie, Sénégal, Gambie, Mali, Burkina Faso, Niger, Bénin, Togo, Liberia, Guinée), 2 pays d'Afrique du Nord (Maroc et Algérie) et 2 pays d'Afrique centrale (Cameroun et Tchad).

Les tiques ornithodores morphologiquement attribuables à *O. sonrai* ou à *O. erraticus* ont été collectées au Maroc, en Algérie, en Mauritanie, au Sénégal, en Gambie et au Mali. En Afrique occidentale et centrale, tous les terriers situés à l'est de 01°E et au sud de 13°N étaient négatifs (Figure 1). Dans les pays où nous avons trouvés des ornithodores, leur distribution était généralement continue, avec rarement un site négatif entre deux sites positifs, et il a ainsi été possible d'établir sur le terrain la limite sud de répartition des ornithodores à l'échelle du quart de degré carré. Dans le centre et l'est du Mali, nous avons trouvé des tiques ornithodores uniquement dans les terriers situés à proximité immédiate du lit majeur du fleuve Niger. Dans les autres régions, la présence d'ornithodores dans les terriers était indépendante de tout réseau hydrographique actif ou fossile. Toutes les tiques ornithodores collectées dans des terriers étaient attribuables à *O. sonrai* (Sénégal, Gambie, Mali, Mauritanie, Maroc, Algérie) ou à *O. erraticus* (Maroc et Algérie). En particulier, nous n'avons jamais observé *O. moubata*, ceci ni dans les terriers, ni dans les fentes du sol et des murs des habitations ou des abris pour animaux.

Infections à Borrelia chez les petits mammifères

Un total de 1 411 rongeurs et insectivores appartenant à 51 espèces et 8 familles (Soricidae, Muridae, Gerbillidae, Dipodidae, Sciuridae, Cricetomyidae, Erinaceidae,

Ctenodactylidae) ont été collectés au Sénégal, en Mauritanie, au Mali, au Niger, au Bénin, au Tchad, au Cameroun et au Maroc. Tous ont été testés pour la présence de *Borrelia* par au moins une méthode. Une goutte épaisse a été effectuée chez 1254 spécimens et des échantillons de cerveau de 976 spécimens ont été testés par inoculation à la souris blanche (836 spécimens) ou par PCR (140 spécimens du Maroc). La présence de *Borrelia* a été mise en évidence chez 57 animaux (4,0%) appartenant à 14 espèces. Tous les rongeurs et insectivores trouvés infectés ont été collectés dans des sites ou régions où nous avons documenté la présence de tiques ornithodores. Dans ces régions, nous avons testé 798 animaux. La proportion de ceux trouvés infectés par goutte épaisse, inoculation de broyat de cerveau à la souris blanche et PCR sur cerveau était respectivement de 4,1% (27/651), 8,9% (21/236), et 8,6% (12/140).

Analyse moléculaire des tiques ornithodores et des infections à Borrelia

Un total de 1403 tiques ornithodores provenant de 81 sites distribués dans cinq pays (Mali, Sénégal, Gambie, Mauritanie, Maroc) ont été testées par des méthodes moléculaires pour leur détermination spécifique et la recherche d'infection à *Borrelia*. Nous avons obtenu chez les tiques 447 séquences du 16S rDNA. Nous avons observé la présence d'infection à *Borrelia* chez 297 tiques (21,2%) provenant de chacun des cinq pays étudiés et de la plupart des sites. Le nombre de séquences totales obtenues pour les gènes FLA et IGS de *Borrelia* étaient respectivement de 240 et 249.

L'étude moléculaire et phylogénétique des tiques morphologiquement attribuables à *O. sonrai* ou à *O. erraticus* a montré qu'elles appartenaient à un complexe de sept entités clairement différenciées génétiquement. En Afrique de l'Ouest, entités sont observées. Deux d'entre-elles ont une répartition limitée à la boucle du Niger (en amont et en aval du défilé de Tosaye), une est observée près de la côte atlantique depuis le nord du Sénégal jusqu'aux environs de Nouadhibou et une présente une large répartition dans l'ouest du Mali, au Sénégal, en Gambie, en Mauritanie, au Sahara occidental et dans les régions arides du Maghreb. Au Maroc, en plus de l'entité génétique précédente, trois autres entités sont observées: une entité est largement distribuée sur la côte atlantique, une deuxième est limitée à la côte méditerranéenne et la troisième est rencontrée entre Goulimine et Smara.

L'étude moléculaire des infections à *Borrelia* a montré la présence de trois espèces. La plus largement répartie est *B. crociduræ* que nous avons identifié chez quatre entités de tiques ornithodores au Mali, Sénégal, Gambie, Mauritanie et Maroc. Au Maroc, nous avons

également identifié deux autres espèces : *B. hispanica* et *B. merionesi*. Les dix infections étudiées chez l'homme au Sénégal étaient dues à *B. crocidurae*.

Discussion

Cette étude est la première à large échelle visant à préciser la répartition géographique de la borréliose à tiques dans le nord-ouest de l'Afrique et à en rechercher les déterminants environnementaux. Les points majeurs qui ressortent de cette étude sont les suivants :

- les tiques ornithodores de terriers de petits mammifères, qui constituent l'unique vecteur connu de la borréliose à tiques dans cette partie de l'Afrique, appartiennent à un complexe de sept entités jumelles. Outre *O. erraticus* et *O. sonrai*, qui ne diffèrent morphologiquement que par la taille moyenne des individus adultes (13), nous montrons l'existence de cinq autres entités précédemment confondues, dont quatre ont été trouvées naturellement infectées par une ou plusieurs espèces de *Borrelia* lors de notre étude. A l'exception de quelques sites pour lesquels peu de tiques ont pu être testées, nous avons trouvé une proportion importante de tiques infectées dans toute l'aire de répartition des ornithodores.

- En ajoutant aux espèces de rongeurs et d'insectivores déjà mentionnées dans la littérature (13) ou lors de nos travaux précédents au Sénégal (2,10,15) les 14 espèces que nous avons trouvé infectées par des *Borrelia* lors de cette étude, ce sont au moins 20 espèces de petits mammifères qui constituent le réservoir vertébré de la borréliose dans cette partie de l'Afrique. Alors que la distribution géographique de plusieurs espèces de rongeurs échantillonnés est bien plus large que celle des ornithodores, les spécimens infectés ont été collectés uniquement dans les régions où nous avons mis en évidence la présence des vecteurs.

- Sur les sept entités du complexe *O. erraticus* / *O. sonrai*, toutes ont une distribution géographique qui semble au moins partiellement déterminée par des conditions particulières d'humidité. Six entités à distribution limitée sont associées à la proximité de l'océan atlantique (2 espèces), de la Méditerranée (1 espèce) ou de la boucle du fleuve Niger (2 espèces). Une entité à large répartition géographique est indépendante de la proximité de l'océan et de tout réseau hydrographique actif ou fossile à l'exception de celui du delta central du Niger. La limite sud de ce vecteur au Sénégal, en Gambie et au Mali correspond approximativement à l'isohyète 750 mm actuel dont elle semble avoir suivi la progression

vers le sud en zone soudanienne consécutive à la poursuite de la sécheresse depuis le début des années 1970. Vers le nord, cet ornithodore présente une distribution continue jusqu'au Maghreb où il n'est absent que dans les plaines et reliefs côtiers les plus arrosés. Au sud du Sahara, sa limite vers l'est se situe aux environs de 7°W, mais il existe une population qui semble actuellement isolée dans le centre du Mali au niveau du delta central du Niger. Dans le Sahara central, la limite est de répartition de ce vecteur reste à préciser. Dans la partie nord du Sahara, les données préliminaires suggèrent une distribution continue de ce vecteur depuis l'est du Maroc jusqu'à la Tunisie.

- Près de 90% des villages de la moitié ouest de l'Afrique occidentale au nord de 13°30'N sont colonisés par des ornithodores infectés par *Borrelia crocidurae*. Dans les deux tiers de ces villages, les niveaux d'infestation des maisons sont même supérieurs à ceux observés à Dielmo (Sénégal) où nous avons montré que l'incidence annuelle moyenne de la maladie dans la population générale est de 11% (3). Il apparaît donc désormais certain que la borréliose représente une cause majeure mais méconnue de fièvre en zone rurale non seulement au Sénégal, mais aussi au Mali, en Gambie et en Mauritanie. Dans les pays du Maghreb, l'exposition des populations est probablement moindre en raison d'une meilleure qualité de l'habitat et d'une urbanisation plus importante, mais la borréliose à *B. crocidurae*, *B. hispanica* et *B. merionesi* y représente certainement aussi une cause fréquente de fièvre.

Références

1. Trape JF, Duplantier JM, Bouganali H, Rogier C, Legros F, Cornet JP, Camicas JL. Tick-Borne Borreliosis in West Africa. *Lancet* 1991; 337: 473-475.
2. Trape JF, Godeluck B, Diatta G, Rogier C, Legros F, Albergel J, Pépin Y, Duplantier JM. The spread of tick-borne borreliosis in West Africa and its relationship to sub-saharan drought. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 54: 289-93.
3. Vial L, Diatta G, Tall A, Ba EH, Bouganali H, Durand P, Sokhna C, Rogier C, Renaud F, Trape JF. Incidence of tick-borne relapsing fever in west Africa: longitudinal study. *Lancet* 2006; 368: 37-43.
4. Nicolle C, Anderson C. Présence au Maroc du spirochète de la fièvre récurrente d'Espagne. *Arch Inst Pasteur Tunis* 1928; 17: 83-107.
5. Mathis C, Durieux C. Identité, à Dakar, de *Spirochaeta duttoni* var. *crocidurae* et du spirochète infectant dans la nature *Ornithodoros erraticus*. *Bull Soc Path Exot* 1932; 21: 472-485.

6. Sergent A, Manceaux A, Balliste R. Premier cas de fièvre récurrente hispano-africaine observé en Algérie. *Bull Soc Path Exot* 1933; 26: 906-908.
7. Anderson C. Sur la présence d'*O. erraticus* infecté par *Sp. hispanicum* dans la banlieue de Tunis. *Arch Inst Pasteur Tunis* 1935; 22: 350-363.
8. Morel PC. *Les tiques d'Afrique et du Bassin Méditerranéen*. Maisons Alfort, IEMVT, 1963 & CD-ROM Cirad, Paris, 2003.
- 9 Rodhain F. *Borrelia* et fièvres récurrentes: aspects épidémiologiques actuels. *Bull Inst Pasteur* 1976; 74:173-218.
10. Diatta G, Trape JF, Legros F, Rogier C, Duplantier JM. A comparative study of three methods of detection of *Borrelia crocidurae* in wild rodents in Senegal. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; 88: 423-424.
11. Vial L, Durand P, Arnathaud C, Halos L, Diatta G, Trape JF, Renaud F. Molecular divergences of the *Ornithodoros sonrai* soft tick species, a vector of human relapsing fever in West Africa. *Microbes Infect* 2006, 8: 2605-2611.
12. Fukunaga M, Ushijima Y, Aoki Y, Talbert A. Detection of *Borrelia duttoni*, a tick-borne relapsing fever agent in Central Tanzania, within ticks by Flagellin gene-based nested polymerase chain reaction. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2001; 1: 331-8.
13. Chabaud AG. L'*Ornithodoros erraticus* (Lucas 1849); multiplicité de ses races. *Ann Parasit Hum Comp* 1954; 29: 89-130.
14. Boiron H. Considérations sur la fièvre récurrente à tiques au Sénégal. L'importance du rat comme réservoir de virus. *Bull Soc Path Ex* 1949; 42: 62-70.
15. Godeluck B, Duplantier J, Ba K, Trape JF. A longitudinal survey of *Borrelia crocidurae* prevalence in rodents and insectivores in Senegal. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 50: 165-8.

Publications issues du projet

Vial L, Diatta G, Tall A, Ba EH, Bouganali H, Durand P, Sokhna C, Rogier C, Renaud F, Trape JF. Incidence of tick-borne relapsing fever in west Africa: longitudinal study. *Lancet* 2006; 368: 37-43.

Vial L, Durand P, Arnathaud C, Halos L, Diatta G, Trape J F, Renaud F. Molecular divergences of the *Ornithodoros sonrai* soft tick species, a vector of human relapsing fever in West Africa. *Microbes Infect* 2006, 8: 2605-2611.

Diatta G, Mané Y, Souidi Y, Erralahi M, Mostafi J, Arnathau C, Chauvancy G, Durand P, Pépin Y, Albergel J, Camicas JL, Renaud F, Sarih M, Belghyti D, Trape JF. Enquête sur la borréliose à tiques au Maroc. Dakar, IRD, 2009.

Diatta G., Trape G. Enquêtes sur la borréliose à tiques en Afrique de l'Ouest. Dakar, IRD, 2009.

Trape JF *et al.* Tick-borne borreliosis in west and north Africa. En préparation.

Figure 1. Résultats des enquêtes sur la répartition des tiques du complexe *Ornithodoros sonrai* / *O. erraticus* en Afrique de l'ouest et du nord.

