

RISQUE DE CONTAMINATION PAR *BORRELIA BURGDORFERI S. LATO* EN MILIEU FORESTIER

Suivi pendant 13 mois de l'abondance de la tique *Ixodes ricinus* et de son niveau d'infestation par l'agent de la borreliose de Lyme en Bretagne

Par J. M. DOBY (1), G. BIGAIGNON (2) & M. DOBY-DUBOIS (3)

Contamination risk for humans by *Borrelia burgdorferi S. lato* in forests. Survey during 13 consecutive months of frequency of *Ixodes ricinus* tick and of its infestation level by the Lyme borreliosis agent in Brittany.

Summary: The authors, in a forest in Brittany previously studied for several years, caught by flagging, each month from April 1992 to May 1993, nymphs of *I. ricinus* tick, and looked by indirect immunofluorescence, for *B. burgdorferi* infestation. An amount of 1 506 ticks was thus studied. Infestation frequency was varying from 0 per cent in January and February to 14,4 per cent in August. Standardizing of tick collecting method allowed to establish, for each month, a tick « availability » index, and, according to the spirochete infestation frequency, to do estimation of the risk level, for human visiting the concerned forest, of being infected by *B. burgdorferi*. Obtained results show that this risk is the highest in August, and quite non-existent in January and February.

Résumé : Les auteurs, dans un massif forestier breton déjà étudié pendant plusieurs années, ont récolté au drapeau, chaque mois, d'avril 1992 à mai 1993, des nymphes de *Ixodes ricinus* et recherché chez elles la présence de *B. burgdorferi* par immunofluorescence indirecte. Un total de 1 506 tiques a été ainsi étudié. La fréquence de l'infestation par la borrelie a varié de 0 % en janvier et février à un maximum de 14,4 % en août. La standardisation de la technique de récolte des tiques a permis d'établir, chaque mois, un indice de « disponibilité agressive » de celles-ci et, en tenant compte de leur niveau d'infestation, d'estimer, pour l'homme fréquentant la zone forestière étudiée, le niveau du risque de contracter la borreliose. Les résultats obtenus révèlent que ce risque est maximal en août, et pratiquement nul en janvier et février.

Dans un précédent travail (3), nous avons déjà insisté sur l'intérêt qu'il y aurait à pouvoir évaluer, pour l'homme fréquentant un massif forestier donné, le risque de contracter une borreliose de Lyme, cette estimation étant faite en fonction de la période de l'année à laquelle a eu lieu cette fréquentation, en tenant compte, d'une part, de l'abondance des tiques alors en activité, d'autre part du niveau de l'infestation de celles-ci par *B. burgdorferi*, à la période considérée. Une telle estimation ne présente que peu d'intérêt pour ceux qui séjournent à longueur d'année en milieu forestier, pour raisons professionnelles géné-

ralement (*) et qui doivent être considérés comme population à risque maximal.

Par contre, elle peut être de première importance pour l'information de ceux qui fréquentent la forêt d'une façon occasionnelle, pour raison de loisir notamment, tels ceux qui pratiquent la course d'orientation, souvent infectés (1), les ramasseurs de champignons, les chasseurs, leur information faisant partie des mesures de prophylaxie.

La connaissance du niveau de risque en fonction de la période de l'année est également importante pour le corps médical. Trop souvent, au cours de

(1) Professeur émérite de Parasitologie, Faculté de Médecine, Rennes.

(2) Laboratoire de Microbiologie, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles.

(3) Manuscrit n° 1457. Tribune libre acceptée le 9 mars 1995.

(*) Rappelons que c'est à la suite d'une de nos enquêtes chez les professionnels de la forêt que nous avons pu faire inscrire la borreliose de Lyme au tableau des maladies professionnelles (6).

notre activité hospitalière, nous avons vu des patients traités inutilement, en raison de manifestations cliniques susceptibles d'être rattachées à une borréliose de Lyme et d'un séjour en milieu forestier, sans que soit prise en compte la période de l'année où avait eu lieu ce séjour, et, parfois, sans même qu'une notion de piqûre de tique puisse avoir été établie.

Par une approche différente de la nôtre, des chercheurs américains ont récemment tenté d'établir le risque précité, le niveau de celui-ci devant intervenir dans la décision thérapeutique du médecin devant son patient (7).

BUT DU TRAVAIL

Celui-ci a été d'établir, par un suivi effectué chaque mois au long d'une année, un indice de risque mensuel, et de définir la période de celle-ci où ce risque est maximal et cela dans une zone forestière connue pour être particulièrement riche en tiques, celles-ci y présentant régulièrement un niveau élevé d'infestation par *B. burgdorferi*.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Pour cette étude, nous avons choisi une zone de la forêt de Paimpont en Bretagne (part de la légendaire forêt de Brocéliande...), que nous connaissons bien pour y avoir effectué, depuis 1989, plusieurs recherches sur l'épidémiologie de la borréliose de Lyme dans l'Ouest de la France. Dans un précédent travail (5), nous avons pu y relever le niveau d'infestation des tiques par *B. burgdorferi* le plus élevé de tous ceux observés dans plus de 25 massifs forestiers dans 9 départements de l'Ouest, ce niveau y atteignant de l'ordre de 15 % chez les nymphes.

Par la suite, nous avons suivi cette fréquence, d'année en année jusqu'en 1991. Pendant les quatre premières années de notre suivi, nous avons pu observer une remarquable stabilité de celle-ci (3).

Nous avons sélectionné dans la forêt précitée une surface de 400 m environ de côté, particulièrement homogène quant à sa flore, avec, comme arbres, essentiellement des feuillus (hêtres, chênes et châtaigniers, parmi lesquels quelques conifères (pins), au sol, un revêtement de graminées, d'abondants myrtiliers et fougères éparses.

Chaque mois, des prélèvements de tiques ont été effectués dans la surface précitée, au drapeau traîné sur le sol et la végétation basse (technique dite du « traîneau », appelée aussi par certains « drague »). Nous nous sommes efforcés de réaliser nos récoltes au milieu de chaque mois. Cela n'a malheureusement pas toujours été possible, en raison des conditions climatiques, notamment du début de l'année 1993, au cours de laquelle la pluviosité a été particulièrement élevée. Or, la présence de gouttelettes résiduelles

sur les herbes, après une pluie, non seulement mouille les drapeaux et les rend très vite inefficaces, mais fait également que peu de tiques prennent l'affût au sommet de la végétation basse. Nous avons donc attendu systématiquement au moins deux jours après une période de pluie pour réaliser nos récoltes. Ainsi, le mois d'avril 1993 ayant vu des pluies très fréquentes, ce n'est que le 30 de ce mois que nous avons pu opérer.

Chaque fois, les récoltes ont été réalisées dans des conditions aussi identiques que possible, pour que l'estimation faite du nombre de tiques « disponibles » puisse être valablement comparée d'un mois sur l'autre.

Ces récoltes ont toujours eu lieu aux mêmes heures de la journée, en l'occurrence à partir de 14 h 30. Deux personnes, chaque fois les mêmes, ont opéré en parallèle, marchant à la même vitesse et relevant les drapeaux pour y récolter les tiques dans les mêmes délais. Seules les nymphes ont été retenues, les larves n'ayant que peu d'importance dans la transmission de la maladie et les adultes étant trop peu nombreux pour que le nombre de ceux récoltés puisse être valablement statistiquement utilisé (un adulte en moyenne pour 20 à 30 nymphes dans nos captures). D'ailleurs, c'est aux nymphes qu'est reconnu le rôle majeur dans la transmission de la borréliose (9).

Le nombre de nymphes récoltées par heure de chasse a été établi sur la moyenne des captures réalisées par les deux collecteurs.

La température au sol a été relevée, à l'ombre et au niveau des zones ensoleillées des sous-bois. En hiver, des différences de température pouvant atteindre jusqu'à 12° C selon l'ensoleillement, conditionnant ainsi la réactivité plus ou moins grande des tiques au contact des drapeaux. Ce fait nous a amenés à équilibrer dans la mesure du possible le passage de ceux-ci sur zones ensoleillées et non ensoleillées.

D'avril à octobre, les jours de capture, la température au sol, même à l'ombre, a toujours été supérieure à 15° C, ce qui constitue un niveau thermique très favorable à l'activité des tiques. En novembre et décembre, la température a été de 14 et 12° C, ce qui est, selon notre expérience, un niveau limite pour l'activité précitée. En janvier, février et mars, la température a varié de 8 à 11° C, température trop basse pour celle-ci, mais au soleil, 18° C a été atteint en janvier et février, et même 22° C en mars.

Nous sommes conscients de ce que notre méthode pour estimer la fréquence des tiques, aussi standardisée que nous ayons voulu qu'elle soit, n'est pas exempte de critiques, mais nous pensons qu'il est difficile d'en avoir une moins subjective, à moins de disposer de moyens en personnel et en matériel hors de proportions avec l'importance des résultats à obtenir.

Précisons qu'elle ne prétend pas permettre d'estimer l'importance des populations de tiques dans un

endroit donné, mais seulement celle des tiques en « activité agressive », en fonction des conditions extérieures.

Les tiques récoltées, ramenées au laboratoire en tubes de survie, ont été disséquées sous loupe binoculaire dans les 48 heures suivant leur capture, et les caecums de chacune dilacérés dans du tampon PBS pH 7,35 sur un des 18 spots de lames à immunofluorescence classiquement utilisées en diagnostic de routine. Pour des raisons techniques, nous avons travaillé sur des lames dont la totalité des spots était occupée, ce qui explique que les nombres de tiques examinées figurant dans nos résultats sont toujours des multiples de 18.

Les lames, après dessiccation, furent placées en congélateur dans l'attente de leur coloration et de leur lecture en immunofluorescence, selon les modalités données déjà lors de nos précédentes publications sur le sujet. Ces modalités ne nous permettent malheureusement pas de préciser à quelle(s) espèce(s) du complexe *B. burgdorferi* nous avons eu affaire ici.

Pour établir l'indice mensuel d'activité des tiques, c'est-à-dire de celles qui, à l'affût sur la végétation (ou simplement sur feuilles mortes, dans des zones sans aucune végétation basse), réagissent au contact des drapeaux, nous avons pris, comme nombre de référence, un niveau horaire de capture de 75, qui est celui le plus élevé que nous ayons jamais observé dans l'ouest de la France avec notre méthode. Ce chiffre de 75 nous a servi d'indice de base 10.

Le risque pour un sujet séjournant dans une zone forestière de se voir inoculer *B. burgdorferi* dépend non seulement du nombre des tiques susceptibles de passer sur lui à l'occasion de ses contacts avec la végétation support de ces arthropodes, mais aussi, au sein de celles-ci, de la fréquence de leur infesta-

tion par l'agent de la borréliose. Plusieurs autres données mériteraient sans doute d'être prises en compte dans l'établissement de cet indice. Elles sont malheureusement difficilement quantifiables.

Nous avons donc établi un indice B de risque, correspondant au produit de l'indice précédent (indice d'activité A) multiplié par le pourcentage des tiques infectées.

Cet indice n'a rien d'original; c'est celui qui a été adopté par plusieurs auteurs (11), par exemple pour apprécier la diminution du risque de contamination humaine par *B. burgdorferi* en zones suburbaines après traitement de celles-ci par PTC (permethrin-treated-cotton) (8).

RÉSULTATS (tableau I)

C'est en août que le nombre de tiques en activité et la fréquence de leur infestation par *B. burgdorferi* sont en même temps les plus élevés. Inversement, c'est en janvier et février que ces deux fréquences sont les plus basses, ce qui amène l'indice de risque pratiquement à 0 pendant ces deux mois de l'année. Si, dans l'ensemble, cet indice augmente graduellement à partir de mars pour atteindre son maximum en août, il apparaît deux petites variations négatives respectivement en juillet et septembre, variations pour lesquelles nous ne voyons pas d'explication et qui, d'ailleurs, ne sont peut-être pas significatives statistiquement.

Si l'augmentation de l'abondance des tiques en activité avec celle de la température est logique, nous ne voyons pas, là non plus, d'explication au fait que le niveau d'infestation par *B. burgdorferi* suive la même évolution.

Tab. I. — Variations mensuelles de l'indice de risque en 1992-1993 dans un massif forestier en Bretagne.

Mois	Nbre examiné	Nbre positif	%	Interv. conf.	Nbre / hor.	A	B
avril	156	13	8,3	4 - 12,6	35	4,6	38,2
mai	144	14	9,7	4,9 - 14,5	74	9,8	95,1
juin	126	16	12,7	6,9 - 18,5	70	9,3	118,1
juillet	90	9	10,0	3,8 - 16,2	65	8,6	86,0
août	180	26	14,4	9,3 - 19,5	75	10,0	144,0
septembre	162	14	8,6	4,3 - 13,3	71	9,4	81,2
octobre	180	21	11,6	7,0 - 16,3	60	8,0	93,3
novembre	108	6	5,5	1,2 - 9,8	42	5,6	30,8
décembre	36	2	5,5	0 - 13,1	10	1,3	7,1
janvier	18	0	0,0	0 - 1,5	4	0,5	# 0
février	18	0	0,0	0 - 1,5	7	0,9	# 0
mars	72	8	11,1	3,9 - 18,3	17	2,2	24,4
avril-mai	216	15	6,9	3,6 - 10,2	60	8,0	55,2
Total	1506	144	9,56				

A : indice d'"activité" des tiques (établi en fonction du nombre moyen de nymphes d'*Ixodes ricinus* récoltées au drapeau à l'heure).

B : indice de "risque" (indice d'activité X% d'infection)

Précisons cependant que nous avons retrouvé ce niveau d'infestation des nymphes, ici particulièrement bas, dans le matériel récolté à cette même période de l'année fixé sur les grands mammifères sauvages. Les nymphes d'*I. ricinus*, à divers degrés de réplétion, n'étaient alors en moyenne infestées qu'à 3,7 % seulement (14 × 378) (4).

COMMENTAIRES

Nous avons pensé faire intervenir également, dans l'établissement de l'indice de risque, la richesse en spirochètes des tiques infectées. La logique voudrait en effet que la transmission soit d'autant plus facile que le nombre d'agents infectants est plus élevé dans une tique. Or, à la lecture des lames en fluorescence, de très grandes différences d'une tique infectée à une autre ont pu être observées. Sur certains spots de nos lames, les borrelies apparaissent innombrables, alors que, sur d'autres, seule une recherche prolongée a permis d'en observer quelques très rares.

Nous n'avons pas donné suite à notre idée, car on sait qu'intervient, certes, dans la transmission le nombre des spirochètes présents dans la tique infectée, mais aussi leur localisation chez celle-ci : ou bien dans la lumière du tube digestif et dans le cytoplasme des cellules de la paroi de celui-ci, ce qui les rend peut-être aptes à être inoculés par phénomène de régurgitation, ou dans la cavité générale, avec passage dans glandes salivaires, puis salive, dont l'injection est un autre moyen d'inoculation envisagé (10, 13), ou enfin dans le système reproducteur, parfois seule localisation observée, ce qui rendrait alors impossible la transmission par piqûre.

Or, sur les spots des lames, la localisation dans la tique des germes observés ne peut être précisée car, lors de la dilacération pour extraction des caecums, une partie du contenu de la cavité générale passe sur les dits spots.

Notre indice, s'il est valablement établi dans les zones forestières les plus habituellement fréquentées, peut aider le médecin placé devant un patient susceptible d'avoir contracté une borreliose de Lyme dans sa décision thérapeutique, à condition qu'il fasse également intervenir une troisième donnée, au moins aussi importante que les deux ici étudiées, à savoir le délai écoulé entre la fixation de la tique et son extirpation. On sait en effet que la transmission par une tique infectée sera d'autant plus effective que le délai précité aura été long (12).

Enfin, l'établissement de cet indice de risque devrait permettre une information plus précise du public sur les risques encourus lors de la fréquentation de certains lieux boisés pour des activités de loisir, comme cela se pratique fréquemment aux États-Unis.

BIBLIOGRAPHIE

1. AESCHLIMANN (A.), GERN (L.), ZHIOUA (E.), FROSARD (E.), WALTER (A.), FAHRER (H.), SAUVAIN (M. J.), LINDEN (S. van den) & GERBER (N.). — Observations of two high-risk populations the Swiss plateau, a region heavily infested with *Ixodes ricinus*-*Borrelia burgdorferi* complex. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1988, **539**, 440-443.
2. BURGDORFER (W.), HAYES (S. F.) & BENACH (J. L.). — Development of *Borrelia burgdorferi* in Ixodid tick vectors. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1988, **539**, 172-179.
3. DOBY (J. M.), BIGAIGNON (G.), LORVELEC (O.) & IMBERT (G.). — Suivi pendant 4 ans du niveau d'infestation de la tique *Ixodes ricinus* (Acarien Ixodidae) par *Borrelia burgdorferi*, agent de la borreliose de Lyme, dans deux massifs forestiers de Bretagne. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1991, **84**, 398-402.
4. DOBY (J. M.), BIGAIGNON (G.), DEGEILN (B.) & GUIGUEN (C.). — Ectoparasites des grands mammifères sauvages cervidés et bovidés et borreliose de Lyme. Recherche de *Borrelia burgdorferi* chez plus de 1 400 tiques, poux, pupipares et puces. *Rev. Med. vét.*, 1994, **145**, 743-748.
5. DOBY (J. M.), CHEVRIER (S.), COUATARMANAC'H (A.) & IMBERT-HAMEURT (C.). — Infection de *Ixodes ricinus* (Acarina : Ixodidae) par *Borrelia burgdorferi*, agent des spirochètes à tiques (maladie de Lyme et autres formes cliniques) dans l'Ouest de la France. II. Résultats détaillés et commentaires. *Bull. Soc. fr. Parasit.*, 1990, **8**, 339-350.
6. DOBY (J. M.), COUATARMANAC'H (A.), FAGES (J.) & CHEVRIER (S.). — Les spirochètes à tiques chez les professionnels de la forêt. Enquête sérologique chez 653 sujets de 10 départements. *Arch. Mal. prof.*, 1989, **50**, 751-757.
7. MAGID (D.), SCHWARTZ (B.), CRAFT (J.) & SANFORD-SCHWARTZ (Z.). — Prevention of Lyme disease after tick bites. A cost effectiveness analysis. *New Engl. J. Med.*, 1992, **327**, 534-541.
8. MATHER (T. N.), RIBEIRO (J. M. C.), MOORE (S. I.) & SPIELMAN (A.). — Reducing transmission of Lyme disease spirochetes in a suburban setting. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1988, **539**, 402-403.
9. MATUSCHKA (F. R.), FISCHER (P.), MEILER (M.), BLUMCKES (S.) & SPIELMAN (A.). — Stage associated risk of transmission of the Lyme disease spirochete by european *Ixodes* ticks. *Parasitol. Res.*, 1992, **78**, 695-698.
10. MONIN (R.), GERN (L.) & AESCHLIMANN (A.). — A study of the different modes of transmission of *Borrelia burgdorferi* by *Ixodes ricinus*. *Zbl. f. Bakt.*, 1989, **suppl. 18**, 14-20.
11. PIESMAN (J.), MATHER (T. N.), DAMMIN (G. J.), TELFORD (S. R.), LASTAVICA (C. C.) & SPIELMAN (A.). — Seasonal variation of transmission risk of Lyme disease and human babesiosis. *Amer. J. Epidemiol.*, 1987, **126**, 1187-1189.
12. PIESMAN (J.), MATHER (T. N.), SINSKY (R. J.) & SPIELMAN (A.). — Duration of tick attachment and *Borrelia burgdorferi* transmission. *J. Clin. Microbiol.*, 1987, **25**, 557-558.
13. RIBEIRO (J. M. C.), MATHER (T. N.), PIESMAN (J.) & SPIELMAN (A.). — Dissemination and salivary delivery of Lyme disease spirochetes in vector ticks (*Acari : Ixodidae*). *J. Med. Entomol.*, 1987, **24**, 201-205.

Commentaire en séance : 9 mars 1995

MONSIEUR M. BRIGAINON, J. M. DOBY & M. DOBY-DUBOIS

« Évaluation mensuelle du risque de contamination par *Borrelia burgdorferi* en milieu forestier. Suivi pendant 13 mois de l'abondance de la tique *Ixodes ricinus* et de son niveau d'infestation par l'agent de la borréliose de Lyme. »

INTERVENTION DE M. BRUMPT

Vous avez prononcé le mot d' « immunité ». Peut-on présenter deux fois un érythème chronique migrant ?

Réponse : Un deuxième érythème migrant peut survenir plusieurs semaines après le premier, dans un territoire dermatologique différent du premier, suite à un passage sanguin de la *Borrelia burgdorferi*.

Sur la base d'une observation en Belgique, un patient ayant présenté un érythème migrant après morsure de tique dans la forêt de Soignes, après traitement bien suivi pour

complications neurologiques, a présenté un autre érythème migrant 3 ans après, après morsure de tique dans la même forêt. Il ne faut pas oublier qu'il existe au moins 3 espèces différentes, actuellement connues, de *Borrelia burgdorferi*, donc plusieurs possibilités de contamination, de portes d'entrée.

INTERVENTION DE M. CHARMOT

Existe-t-il des modifications écologiques, entropiques ou non, pouvant modifier la population des tiques et la prévalence de leur infection par la *Borrelia* ?

Réponse : Les principales modifications écologiques sont le degré d'humidité relative dans les coupes forestières, l'état général des forêts de feuillus, les éventuelles épidémies au sein des populations de rongeurs et les circonstances de leur multiplication. L'ensemble est aussi dépendant de la présence de plus en plus fréquente des citadins dans des zones de bocages avec haies, nouvelles pour eux.