

Influence de la température sur le microbiome de la tique *Ixodes ricinus*
Projet de recherche pour étudiant Master 2:
Université Pierre et Marie Curie –
Master « Biologie Moléculaire et Cellulaire », spécialité « Microbiologie »

Laboratoire d'accueil: UMR BIPAR, Anses-Laboratoire de santé animale
Adresse: 14 rue Pierre et Marie Curie, 94 700 Maisons-Alfort
Encadrant: Thomas POLLET, PhD, CR INRA
Email: thomas.pollet@vet-alfort.fr
Tel: 0149774677
Co-encadrant: Sara Moutailler, PhD, CR Anses
Email: sara.moutailler@anses.fr
Tel: 0149774650

Projet de recherche

Les tiques sont les premiers vecteurs d'agents pathogènes en Europe. En plus de ces agents pathogènes, les tiques sont porteuses de nombreux autres microorganismes (symbiontes et commensaux) avec qui elles interagissent. Ce complexe microbien, récemment nommé "pathobiome" (Ryan 2013; Vayssier-Taussat et al 2014), reste encore peu étudié particulièrement chez *Ixodes ricinus* (Carpi et al 2011; Nakao et al 2013, Vayssier-Taussat et al 2013; Bonnet et al 2017; Hernandez-Jarguin et al 2018; Estrada-Pena et al in revision), l'espèce de tique vectrice de *Borrelia burgdorferi* s.l, l'agent bactérien responsable de la maladie de Lyme. Ces quelques études ont permis à l'aide des nouvelles techniques de séquençage haut débit d'identifier les principales communautés microbiennes qui composent le microbiome d'*I. ricinus*. Parce qu'il est désormais évident que le microbiome peut influencer la biologie de la tique ainsi que le portage et la transmission des agents pathogènes (i.e. Narasimhan et al 2014, Abraham et al 2017), ces études ont fourni des informations clés pour potentiellement progresser dans la lutte contre les agents de maladies à tiques et notamment ceux transmis par *I. ricinus*. Toutefois, le microbiome est une composante biologique dynamique dont la composition et la diversité est susceptible de changer dans le temps, l'espace et sous des contraintes environnementales. Or, aucune donnée n'est actuellement disponible concernant l'influence directe des facteurs environnementaux sur les communautés microbiennes portées par les tiques. Les tiques sont très sensibles aux conditions climatiques notamment la température et l'hygrométrie. Il apparaît que dans le contexte des changements climatiques et sociaux économiques, la tique *I. ricinus*, progresse rapidement vers le nord de l'Europe. Par ailleurs, on la recense à des altitudes de plus en plus élevées. L'autre changement avéré concerne la période d'activité de cette espèce de tique. En hiver, elle cesse normalement d'être active. Mais les hivers devenant plus doux, elle est à présent susceptible d'être active pendant cette saison. De ce constat, nous émettons l'hypothèse que le microbiome des tiques pourrait également être influencé par les variations de température. Des études étayaient indirectement cette hypothèse puisqu'elles montrent des variations du microbiome des tiques dans différentes zones géographiques et à différentes latitudes (Van Treuren et al 2015). Toutefois, aucune information n'est actuellement disponible sur l'influence directe de la température sur les microorganismes portés par les tiques. Or, dans le contexte actuel des changements globaux, ce type de données est essentiel et permettrait de nous faire progresser davantage dans la compréhension et le contrôle des maladies transmises par les tiques. L'objectif de ce projet de Master 2 est donc de tester

expérimentalement l'influence des variations de la température sur le microbiome de la tique *I. ricinus*.

Dans le cadre de ce projet de Master 2, l'influence de différentes températures moyennes sera évaluée à l'aide d'enceintes thermostatées disponibles au laboratoire. 4 températures seront testées: 10°C, 15°C, T°C ambiante (~20°C) et 25°C. Nous possédons au sein de notre laboratoire un élevage de tiques de l'espèce *I. ricinus* que nous utiliserons pour réaliser le projet. Pour chaque température, des tiques non gorgées aux stades larvaire et nymphal seront prélevées régulièrement au cours des 3 semaines qui suivront le début de l'expérience. Grâce aux données de la littérature (Carpi et al 2011; Nakao et al 2013, Vayssier-Taussat et al 2013; Hernandez-Jarguin et al 2018) ainsi qu'aux récentes études réalisées dans notre laboratoire sur le microbiote d'*I. ricinus* (Estrada-Pena et al in revision; Lejal et al in prep; Pollet et al in prep), les principaux genres et espèces de bactéries qui composent le microbiote de cette tique commencent à être connus. L'influence de la température sera donc estimée sur les proportions de différents taxons par une approche de qPCR à l'aide d'amorces et sondes spécifiques.

Calendrier:

Mois 1: Bibliographie et préparation du dispositif expérimental. Les tiques seront disponibles dans notre élevage et seront immédiatement utilisables par l'étudiant(e). L'étudiant(e) sera formé(e) à l'utilisation de gorgeurs artificiels qui permettent de fournir le repas sanguin aux tiques en élevage et de les faire passer d'un stade à l'autre.

Mois 2-4: Au cours de ces 3 mois, l'étudiant(e) réalisera les expériences. Les tiques seront placées dans les différentes enceintes thermostatées et prélevées régulièrement. L'ADN des tiques prélevées sera extrait (méthode d'extraction par kit utilisée en routine au laboratoire) puis amplifié par qPCR afin d'identifier le microbiome.

Mois 5-6: Analyses des données et préparation du rapport.

Références

- Abraham et al (2017) Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA doi/10.1073/pnas.1613422114
- Bonnet et al (2017) Frontiers in cellular and infection microbiology. 7: 1-14
- Carpi et al (2011) PLoS ONE 6(10): e25604. doi:10.1371/journal.pone.0025604
- Estrada-Pena et al (In revision) High throughput sequencing and network analysis disentangle the microbial communities of ticks and hosts within and between ecosystems. Frontiers in cellular and infection microbiology
- Hernandez-Jarguin et al (2018) Tick and Tick-borne diseases doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.04.020
- Lejal et al (in prep) Temporal dynamics and co-occurrences of the *Ixodes ricinus* pathobiome over three consecutive years in the Senart Forest
- Nakao et al (2013) The ISME Journal 7: 1003-1015
- Narasimhan et al (2014) Cell Host and Microbe 15: 58-71
- Pollet et al (in prep) An insight into the pathobiome composition in the *Ixodes ricinus* organs
- Ryan (2013) The journal of infectious diseases. 208: 1732-1733
- Van Treuren et al (2015) Frontiers in cellular and infection microbiology 4: 1-7
- Vayssier-Taussat et al (2013) PLoS ONE 8(11): e81439. doi:10.1371/journal.pone.0081439
- Vayssier-Taussat et al (2014) Frontiers in cellular and infection microbiology. 4: 1-7