

# Transmission des *Bartonella* par les tiques : la fin d'une controverse ?

M. VAYSSIER-TAUSSAT<sup>1</sup>

## RÉSUMÉ

Les bactéries du genre *Bartonella* infectent un très grand nombre d'espèces de mammifères, y compris l'Homme, auxquelles elles sont transmises lors de la piqûre d'un arthropode hématophage. Les tiques sont les premiers vecteurs d'agents infectieux en Europe et de nombreuses études ont suggéré leur rôle dans la transmission de certaines espèces de *Bartonella*. Chez l'Homme, les symptômes causés par l'infection à *Bartonella* sont très divers et dépendent de l'espèce incriminée et de l'état immunitaire de l'hôte. Nous avons récemment isolé des espèces de *Bartonella*, d'origine animale, chez des patients souffrant de symptômes chroniques aspécifiques dont l'apparition était consécutive à une probable piqûre de tiques. Parmi elles, certaines n'avaient jamais été isolées chez l'Homme et le rôle des tiques dans leur transmission est discuté.

**MOTS-CLÉS :** *Bartonella*, zoonose, tiques.

## I. - INTRODUCTION

Durant ces vingt dernières années, un nombre croissant de bactéries appartenant au genre *Bartonella* a été identifié comme étant à l'origine d'une multitude de maladies humaines et animales, et plusieurs espèces de *Bartonella*, notamment *B. quintana*, sont considérées aujourd'hui comme des agents infectieux émergents (1, 2). Ce constat a déclenché un intérêt considérable auprès des chercheurs, médecins et vétérinaires à l'égard de ces bactéries à Gram négatif qui se développent chez l'hôte dans le compartiment intracellulaire. L'intensification des études portant sur ces microorganismes a permis de découvrir qu'ils utilisent une stratégie unique pour coloniser leurs hôtes (3, 4, 5) et sont capables d'infecter un vaste réservoir de mammifères : des primates, dont l'Homme, des carnivores, des ongulés, des insectivores, des lagomorphes, des chiroptères et des rongeurs. Il est admis que chaque espèce de *Bartonella* est adaptée à un ou quelques hôtes réservoirs au sein desquels elle établit une bactériémie

intra-érythrocytaire pouvant persister plusieurs mois (4, 6). Leur transmission d'un hôte à un autre est assurée par des arthropodes hématophages ou bien par contact direct avec un animal infecté (7).

Les espèces du genre *Bartonella*, dont une trentaine ont été recensées, sont incluses dans le phylum des  $\alpha$ -protéobactéries et sont proches de celles du genre *Brucella*. *B. quintana*, responsable de la fièvre des tranchées, et *B. bacilliformis*, à l'origine de la maladie de Carrión, ont l'Homme pour seul hôte mammifère connu. Toutes les autres espèces infectent des animaux (carnivores, rongeurs et/ou ruminants, sauvages ou domestiques), mais peuvent être accidentellement transmises à l'Homme chez lequel elles induisent des maladies dont les symptômes diffèrent selon les espèces de bartonelles et l'état immunitaire de l'hôte infecté.

<sup>1</sup> UMR Bipar, INRA ENVA ANSES, Équipe Vectotiq, Anses, 14 rue Pierre Curie, 94700 Maisons-Alfort.

**Tableau - Caractéristiques des patients chez lesquels des souches de *Bartonella* ont été isolées du sang (12).**

| Cas / sexe / âge | <i>Bartonella</i> spp.    | Date de la piqûre de tique    | Contact avec des animaux de compagnie | Contact avec des animaux sauvages | Symptômes   | Bactériémie UFC mL <sup>-1</sup> |
|------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|---|----------------------------------|
| 1 / F / 49       | <i>B. henselae</i>        | Plusieurs piqûres depuis 2008 | Chat, chien, cheval                   | Rat, poisson                      | Fatigue extrême, douleurs musculaires, maux de tête | 50                               |
| *2 / M / 58      | <i>B. henselae</i>        | 2011                          | Oiseau, lapin                         | Aucun                             | Fatigue extrême, douleurs musculaires               | 70<br>50                         |
| 3 / F / 47       | <i>B. henselae</i>        | 2012                          | Chien, hamster                        | Aucun                             | Fatigue, insomnie, douleurs généralisées            | 80                               |
| 4 / F / 45       | <i>B. doshiae</i>         | 2009                          | Aucun                                 | Aucun                             | Fatigue extrême, trouble de la vision               | 50                               |
| 5 / M / 64       | <i>B. tribocorum</i>      | 2012                          | Chien                                 | Animaux sauvages (chasseurs)      | Fatigue extrême, douleurs musculaires               | 60                               |
| 6 / F / 40       | <i>B. schoenbuchensis</i> | 2011                          | Aucun                                 | Aucun                             | Fatigue extrême, douleurs musculaires, fièvre       | 850                              |

\* Pour ce patient, la bactériémie a été évaluée à un mois d'intervalle.

Les arthropodes hématophages jouent un rôle-clé dans le cycle épidémiologique de l'infection à *Bartonella* spp., et chaque représentant du genre est spécifiquement transmis par une ou quelques espèces de vecteurs (7). Pour certaines espèces, le vecteur est bien caractérisé : la puce du chat pour *B. henselae*; le pou du corps et une espèce de phlébotome (« mouche des sables ») pour respectivement *B. quintana* et *B. bacilliformis*. Pour d'autres espèces de *Bartonella*, et bien qu'ils soient parfois suspectés, le(s) vecteur(s) n'ont pas été formellement identifiés.

Depuis longtemps les tiques sont pressenties être les vecteurs de certaines espèces de *Bartonella*. En effet, des études ont mis en évidence la présence d'ADN de bartonelles chez des Ixodidae (appelées couramment tiques dures). Par exemple, nous avons récemment montré que plus de 15 % des tiques collectées dans les forêts ardennaises portaient de l'ADN de *B. henselae* (8). Nous avons préalablement montré que *Ixodes ricinus*, vectrice d'une grande variété d'agents pathogènes et espèce la plus répandue en Europe, était capable de transmettre cette même bactérie dans un modèle d'infection artificiel *ex vivo* (9). Enfin, de l'ADN de différentes espèces de *Bartonella* a été décelé dans le sang de patients ou d'animaux, après piqûre de tiques. Toutefois, aucun de ces travaux n'a, jusqu'à présent, permis l'isolement de bactéries vivantes chez les différents hôtes examinés (10, 11). Ils font donc l'objet de controverses et malgré les nombreuses preuves indirectes de la transmission de *Bartonella* spp par les tiques, ce sujet reste très débattu. Dans l'étude présentée ici, nous avons entrepris d'isoler des bactéries du genre *Bartonella* dans le sang de patients se plaignant de symptômes chroniques divers apparaissant à la suite de piqûres de tiques.

## II. - ISOLEMENT DE *BARTONELLA* SPP À PARTIR DU SANG DE PATIENTS EXPOSÉS AUX TIQUES

Soixante-six patients, qui avaient consulté leur médecin pour des symptômes chroniques apparaissant après une morsure de tique et pour lesquels le sérodiagnostic de la maladie de Lyme (par ELISA) était négatif, ont été recrutés. Tous vivaient à la campagne, où les tiques étaient abondantes, et avaient donc un contact potentiel avec des animaux sauvages. Ils avaient indiqué qu'aucun antibiotique ne leur avait été administré au cours des trois mois précédents l'étude. Pour chaque patient, du sang était prélevé (en présence d'anticoagulant) pour tenter d'isoler *Bartonella* par culture. Par ailleurs, 70 donneurs de sang anonymes, en bonne santé et vivant à Paris, ont constitué un groupe contrôle. Cent µL de sang des patients et des donneurs sains ont été cultivés à 35 °C sur une gélose au sang de mouton incubée en présence d'air enrichi de 5 % de CO<sub>2</sub> pendant 45 jours et la culture était observée hebdomadairement durant cette période. Dans ces conditions, le seuil de détection de la bactériémie était de 10 unités formant colonies (UFC) mL<sup>-1</sup>.

Des souches de *Bartonella* ont été isolées du sang de 6 des 66 patients ayant signalé des symptômes chroniques après une morsure de tique. Les colonies sont apparues en général entre 3 et 4 semaines de culture. Elles étaient de petite taille et avaient un aspect grisâtre. En revanche, les bartonelles étaient indétectables dans le sang des 60 malades restants ainsi que dans celui de tous les sujets témoins. La bactériémie observée variait de 50 à 850 UFC mL<sup>-1</sup>. Pour un patient (cas n° 2), nous avons eu accès à deux échantillons de sang à un mois d'intervalle,

et 50 et 60 UFC mL<sup>-1</sup> y étaient présentes, suggérant la chronicité de la bactériémie. Ces six patients avaient rapporté une morsure de tique ayant eu lieu entre 1 et 5 ans avant cette étude, et leur principal symptôme était une fatigue chronique intense, certains ayant également mentionné des maux de tête, des myalgies et des troubles de la vision (Tableau).

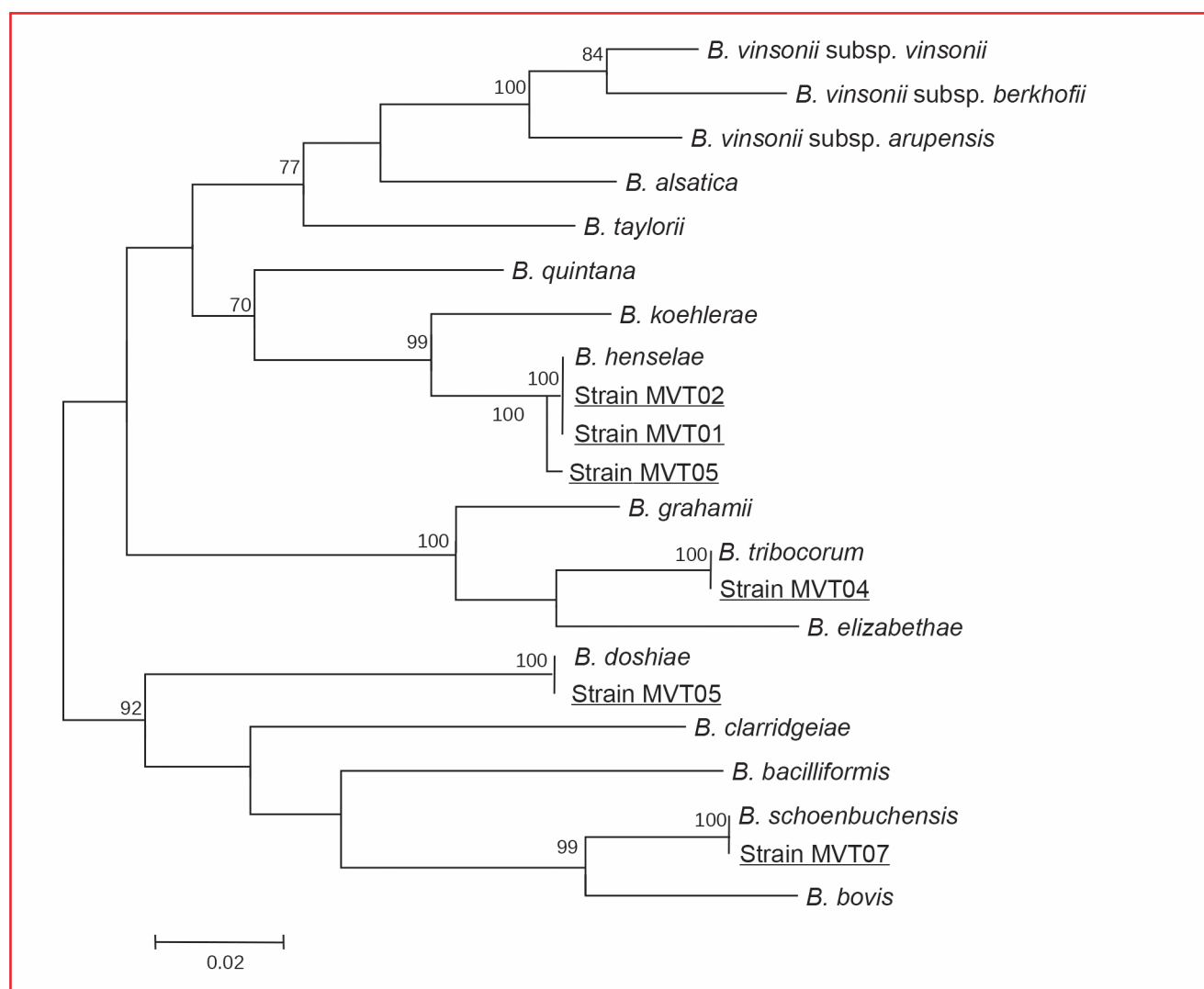
### III. - IDENTIFICATIONS DES ESPÈCES ISOLÉES

L'ADN de chaque souche isolée a été extrait, séquencé, et les séquences nucléotidiques obtenues ont été assemblées et annotées (12). L'identification des isolats a été établie en comparant leurs gènes *gltA* (1 316 paires de bases) et *rpoB* (4 151 paires de bases) (13) à ceux des espèces de *Bartonella* publiées et validées. Les six isolats appartenaient tous au genre *Bartonella*, trois d'entre eux (MVT01, MVT02 et MVT03) à l'espèce *B. henselae* et les trois restants (MVT04, MVT05 et MVT07) respectivement aux espèces *B.*

*tribocorum*, *B. doshiae* et *B. schoenbuschensis* (Figure). *B. henselae*, responsable de bactériémie asymptomatique chez les félinés, est connue pour infecter accidentellement l'Homme. *B. tribocorum* et *B. doshiae* provoquent des bactériémies asymptomatiques chez les rongeurs et *B. schoenbuschensis* infecte les ruminants sauvages et domestiques.

### IV. - DISCUSSION

Dans cette étude, nous avons isolé, pour la première fois, des souches de *Bartonella* d'origine animale à partir du sang de patients ayant été en contact avec des tiques et signalant des symptômes peu spécifiques. Ce rapport décrit, également pour la première fois, l'isolement chez l'Homme de trois espèces de *Bartonella* connues pour infecter les animaux : *B. doshiae* et *B. tribocorum*, associées aux rongeurs (*Microtus agestis* pour la première et *Rattus rattus* pour la seconde), et *B. schoenbuschensis* qui infecte les ruminants sauvages et domestiques. Ces bactéries ont aussi été détectées chez des animaux en France et leur présence chez



**Fig. - Position phylogénique des isolats établie à partir des séquences des gènes *gltA* et *rpoB* (12).** Un isolat est classé au sein d'une espèce décrite s'il partage plus de 96 % et 95,4 % de similarité de séquence nucléotidique pour les gènes *gltA* et *rpoB*, respectivement. À ce jour, une trentaine d'espèces de *Bartonella* ont été décrites et seules 13 sont présentées dans ce dendrogramme. Les valeurs de *bootstrap* > à 70 % sont indiquées à chaque nœud.

l'Homme semble donc être fortement liée à la promiscuité avec des animaux porteurs. De ce fait, ces trois microorganismes doivent désormais être considérés comme des espèces zoonotiques.

La bactériémie chronique lors d'une bartonellose a été décrite chez de nombreuses espèces de mammifères, y compris les humains (14, 15). Toutefois, l'association *Bartonella* / hôte et bactériémie était jusqu'à présent considérée comme spécifique du fait d'une coévolution probable entre l'hôte et l'agent pathogène (5). Les travaux présentés ici démontrent que des espèces associées aux animaux peuvent également infecter de manière chronique le sang humain, suggérant la possibilité d'un franchissement de la barrière d'espèce en dépit d'une certaine spécificité d'hôte. Des travaux d'autres groupes, en particulier celui de E. Breitschwerdt aux États-Unis, ont également montré la présence, dans du sang humain, d'ADN d'espèces de *Bartonella* infectant les animaux (10, 11, 16) ; toutefois, ces résultats ont été systématiquement remis en cause du fait de la contamination possible de l'ADN au cours de la PCR. C'est la raison pour laquelle nous avons délibérément entrepris l'isolement de ces bactéries par culture d'échantillons sanguins afin de présenter des données irréfutables. Les isolats obtenus ont été archivés dans la collection de souches de l'Unité des Rickettsies (World Data Center pour Microorganismes no. 875, (<http://www.mediterranee-infection.com/article.php?leref=14&titre=collection-de-souches>)) et sont disponibles sur demande sous les références B546, B547, B548, B549, B550 et B551 pour les isolats respectivement MVT01, MVT02, MVT03, MVT04, MVT05 et MVT07.

L'implication des bartonelles dans le tableau clinique de ces patients reste cependant difficile à confirmer. De même, le lien de causalité entre la présence de *Bartonella* dans le sang et la piqûre de tique ne peut être formellement établi. En effet, pour l'ensemble de ces sujets, la piqûre de tique datait généralement de plusieurs mois et n'a pas pu être formellement prouvée. Même si nous avons pu démontrer une infection chronique pour au moins l'un

des patients infectés par *B. henselae*, on ne peut écarter le fait que les patients aient pu être infectés ultérieurement après la piqûre de tique, ou via celle d'autres arthropodes hématophages, ou encore par contact direct avec des animaux infectés. Par exemple, un des trois patients infectés par *B. henselae* possédait des chats qui pourraient représenter la véritable source d'infection. Enfin, il est crucial de déterminer si *Bartonella* a joué un rôle notable dans les symptômes observés. Le traitement de la bactériémie chronique à *Bartonella* spp. est particulièrement difficile et peut exiger six semaines d'administration de doxycycline associée à de la gentamicine pendant les trois premières, seuls antibiotiques connus pour éradiquer *Bartonella* (17). De nombreuses espèces de *Bartonella* peuvent causer des endocardites. Par conséquent, les cas d'endocardite attribués à des espèces zoonotiques de *Bartonella* telles que *B. henselae*, *B. kohlerae*, *B. alsatica*, *Candidatus*, *B. mayotimonensis*, *B. vinsonii*, ou *B. elizabethae* pourraient être la manifestation finale d'une bactériémie semblable à celle déclarée par les patients étudiés ici.

En résumé, le résultat majeur de notre étude est l'isolement d'espèce zoonotique de *Bartonella* dans le sang de patients ayant des syndromes assez peu spécifiques et ayant été piqués par des tiques. Nous pouvons en conclure que l'infection, chez l'Homme, par des espèces zoonotiques de *Bartonella* est susceptible de provoquer des maladies chroniques accompagnées de symptômes peu spécifiques. Le lien de cause à effet avec la piqûre de tique reste toujours à établir formellement.

### Remerciements

L'auteur remercie Didier Raoult (Unité des Rickettsies URMITE de l'IHU, Marseille), les médecins généralistes (représentés par Dr P. Raymond) qui ont participé à cette étude et le personnel de l'UMR BIPAR (Sara Moutailler, Françoise Féménia) et de l'URMITE (Pierre-Édouard Fournier, Bernard La Scola, Olivier Croce) qui ont participé à ce travail.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Karem KL, Paddock CD, Regnery RL. *Bartonella henselae*, *B. quintana*, and *B. bacilliformis*: historical pathogens of emerging significance. *Microbes Infect* 2000 ; **2** (10) : 1193-205.
- (2) Schroff S. Update on emerging infections: news from the Centers for Disease Control and Prevention. *Bartonella quintana* in body lice and head lice from homeless persons, San Francisco, California, USA. *Ann Emerg Med* 2010 ; **55** (3) : 280-2 ; discussion 282-3.
- (3) Dehio C. *Bartonella* interactions with endothelial cells and erythrocytes. *Trends Microbiol* 2001 ; **9** (6) : 279-85.
- (4) Seubert A, Schülein R, Dehio C. Bacterial persistence within erythrocytes: a unique pathogenic strategy of *Bartonella* spp. *Int J Med Microbiol* 2002 ; **291** (6-7) : 555-60.
- (5) Vayssier-Taussat M, Le Rhun D, Deng HK, Biville F, Cescau S, Danchin A, et al. G. The Trw type IV secretion system of *Bartonella* mediates host-specific adhesion to erythrocytes. *PLoS Pathog* 2010 ; **6** (6) : e1000946.
- (6) Schülein R, Seubert A, Gille C, Lanz C, Hansmann Y, Piémont Y, et al. Invasion and persistent intracellular colonization of erythrocytes. A unique parasitic strategy of the emerging pathogen *Bartonella*. *J Exp Med* 2001 ; **193** (9) : 1077-86.
- (7) Billeter SA, Levy MG, Chomel BB, Breitschwerdt EB. Vector transmission of *Bartonella* species with emphasis on the potential for tick transmission. *Med Vet Entomol* 2008 ; **22** (1) : 1-15.
- (8) Moutailler S, Valiente Moro C, Vaumourin E, Michellet L, Tran FH, Devillers E, et al. Co-infection of ticks: the rule rather than the exception. *PLoS Negl Trop Dis* 2016 ; **10** (3) : e0004539.
- (9) Cotté V, Bonnet S, Le Rhun D, Le Naour E, Chauvin A, Boulouis HJ, et al. Transmission of *Bartonella henselae* by *Ixodes ricinus*. *Emerg Infect Dis* 2008 ; **14** (7) : 1074-80.
- (10) Breitschwerdt EB, Maggi RG, Duncan AW, Nicholson WL, Hegarty BC, Woods CW. *Bartonella* species in blood of immunocompetent persons with animal and arthropod contact. *Emerg Infect Dis* 2007 ; **13** (6) : 938-41.
- (11) Maggi RG, Ericson M, Mascarelli PE, Bradley JM, Breitschwerdt EB. *Bartonella henselae* bacteremia in a mother and son potentially associated with tick exposure. *Parasit Vectors* 2013 ; **6** : 101.
- (12) Vayssier-Taussat M, Moutailler S, Féménia F, Raymond P, Croce O, La Scola B, et al. Identification of novel zoonotic activity of *Bartonella* spp., France. *Emerg Infect Dis* 2016 ; **22** (3) : 457-62.
- (13) La Scola B, Zeaiter Z, Khamis A, Raoult D. Gene-sequence-based criteria for species definition in bacteriology: the *Bartonella* paradigm. *Trends Microbiol* 2003 ; **11** (7) : 318-21.
- (14) Maurin M, Raoult D. *Bartonella (Rochalimaea) quintana* infections. *Clin Microbiol Rev* 1996 ; **9** (3) : 273-92.
- (15) Jacomo V, Kelly PJ, Raoult D. Natural history of *Bartonella* infections (an exception to Koch's postulate). *Clin Diagn Lab Immunol* 2002 ; **9** (1) : 8-18.
- (16) Lantos PM, Maggi RG, Ferguson B, Varkey J, Park LP, Breitschwerdt EB, et al. Detection of *Bartonella* species in the blood of veterinarians and veterinary technicians: a newly recognized occupational hazard? *Vector Borne Zoonotic Dis* 2014 ; **14** (8) : 563-70.
- (17) Brouqui P, La Scola B, Roux V, Raoult D. Chronic *Bartonella quintana* bacteremia in homeless patients. *N Engl J Med* 1999 ; **340** (3) : 184-9.