



HAL
open science

Tiques et agents pathogènes transmis : de l'épidémiologie moléculaire aux interactions hôtes-pathogènes

Sara Moutailler

► To cite this version:

Sara Moutailler. Tiques et agents pathogènes transmis : de l'épidémiologie moléculaire aux interactions hôtes-pathogènes. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Paris Est, 2017. <tel-04314414>

HAL Id: tel-04314414

<https://hal.science/tel-04314414v1>

Submitted on 29 Nov 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Tiques et agents pathogènes transmis : de l'épidémiologie moléculaire aux interactions hôtes-pathogènes

Dossier de candidature pour l'Habilitation à Diriger des Recherches

Curriculum vitae et Activités de Recherches
2017

Présenté par MOUTAILLER Sara
Chargée de projet Recherche, ANSES
Laboratoire de Santé Animale
UMR BIPAR, ANSES, INRA, ENVA, Université Paris-Est

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier très chaleureusement le Dr. Anna-Bella Failloux. Bella, tu m'as donné le goût du travail bien fait et surtout le goût du travail en équipe. Durant les 6 années passées à l'Institut Pasteur de Paris sous ta direction, j'ai pu m'épanouir et commencer ma vie de chercheur. Tu m'as également transmis le virus de l'Entomologie médicale et cela me suivra certainement durant toute ma carrière et également dans ma vie personnelle où j'apprends dès tout petit à mes enfants à ne pas avoir peur des arthropodes ☺. Ma fille adore d'ailleurs garder dans sa chambre plein de petites bêtes très mignonnes qui n'avaient rien demandé à personne... J'en profite pour remercier Marie Vazeille et Laurence Mousson tes complices de toujours sans qui le travail à l'Institut Pasteur auraient été difficile et bien morne...

Je tiens ensuite à remercier ma technicienne Elodie Devillers, qui me suit depuis mes débuts à l'ANSES. Elodie je t'ai initié aux joies de l'Entomologie et de la biologie moléculaire et tu m'as initiée aux joies du jardinage ☺. J'apprécie chaque jour de travailler avec toi et je reste admirative de la quantité de travail de labo que tu peux abattre chaque jour sous réserve de te fournir en gâteaux et chocolats pour que tu tiennes le rythme.

Je remercie très chaleureusement le Dr. Muriel Vayssier. Depuis mon arrivée à l'ANSES même si nous n'étions pas dans la même équipe tu n'as pas hésité à m'intégrer à tous tes projets de recherche et me permettre d'encadrer des étudiants en thèse sous ta tutelle. Tu m'as également énormément appris sur les tiques et les agents pathogènes qu'elles transmettent. J'ai énormément appréciée de travailler dans ton équipe et je te suis extrêmement reconnaissante de m'avoir fait confiance pour prendre en main la direction de cette équipe après ton départ. En dehors de cet aspect travail, je t'adore pour tes qualités humaines et ce fut un réel bonheur de travailler avec toi.

Je remercie le Dr. Sarah Bonnet. Comme Muriel tu m'as accueilli les bras ouverts dans votre équipe et nous avons pu collaborer sur de super projets très rapidement. Et pourtant cela n'était pas forcément évident vu que j'arrivais dans une période de tension entre institutions... Tu m'as montré (et tu continues de le faire avec bonne humeur) tout ce que l'on devait savoir sur les élevages de tiques et leur gorgement artificiel, et cela toujours avec bonne humeur et bienveillance. J'espère que nous continuerons à discuter librement de nos projets et idées de projets comme ça encore longtemps.

Je remercie mes copines chercheuses de l'ANSES : Dr. Sabine Delannoy, Dr. Sandrine Lacour, Dr. Lorraine Michelet ; qui me permettent de toujours prendre la vie du bon côté ☺. Nos repas du midi sont les rayons de soleil de ma semaine. Le fait d'être ensemble, de rigoler mais également de développer des idées de projet de recherche, fait passer les semaines plus rapidement et surtout fait fuir le stress ☺.

Un grand merci à toi Jean-Francois pour ta bonne humeur et ta joie de vivre, ainsi que pour le plaisir constant de discuter sciences et projets de recherche avec toi. Merci pour tes encouragements. Je continue en remerciant tous les membres de mon équipe Vectotiq, des anciens aux petits nouveaux (Elodie, Françoise, Mathilde, Matthieu, Emilie, Lena, Thomas, Alejandro et Jeff). Grâce à vous tous, on travaille très efficacement mais toujours dans la bonne humeur et le respect de ses collègues. L'entraide reste et restera le mot d'ordre de notre équipe, je compte sur vous. Je remercie également tous les autres membres de notre UMR du bâtiment Carré (quelle ambiance dans ce bâtiment) mais également du bâtiment Vallée où il fait bon manipuler ☺. Un grand merci également à Océane et Alain qui prennent soin de nos tiques à l'animalerie et qui sont adorables. Un grand merci aux directeurs de notre UMR, Pr. Nadia Haddad, Pr. Henri-Jean Boulouis et Dr. Isabelle Vallée pour leur aide quotidienne dans la gestion de l'équipe et plus généralement pour leur gestion de l'UMR.

Merci enfin à tous les étudiants que j'ai eu l'occasion d'encadrer, surtout Mathilde ma première étudiante en thèse officielle, car j'apprends chaque jour un peu plus mon métier de chercheur grâce à eux et surtout j'apprécie de les voir s'épanouir en découvrant ce monde de la recherche.

En dernier je remercie ma famille, pilier incontestable de ma vie de chercheur. Tout d'abord mon mari, Yann (oui je sais, on n'est pas marié ☺), qui me supporte, dans tous les sens du terme, depuis 16 ans, et je ne sais vraiment pas comment il fait. Merci à toi de me permettre d'être sereine au travail car je sais que tu es là pour me seconder/me remplacer auprès de nos deux chéris d'amour Camille et Jules. Merci à mes deux loulous pour leurs sourires et leur joie de vivre.

Table des matières

Contenu

Table des matières	2
Curriculum vitae	3
Activités d'enseignement	3
Encadrements.....	4
Autres responsabilités	5
Financements et Contrats de recherche	5
Publications et Communications.....	7
Publications	7
Communications orales	10
Communications affichées	13
Activités de recherche	15
1. Epidémiologie des agents pathogènes vectorisés.....	17
a. Le virus TBE en Alsace	18
b. Screening à haut débit des agents pathogènes vectorisés par les arthropodes.....	21
c. Conclusions et perspectives	32
2. Variabilité génétique et adaptation des virus à leurs hôtes :.....	34
a. Le cas du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift et du virus Chikungunya (Projet post-doctoral)	35
b. Le cas des virus transmis par les tiques (nouveau projet de recherche en développement).....	36
3. Conclusion générale	38
4. Références bibliographiques	40
Organigramme de l'UMR BIPAR	45

Curriculum vitae

MOUTAILLER Sara
Chargée de projet recherche, ANSES
Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort –
UMR BIPAR- Responsable Equipe Vectotiq
14 Rue Pierre et Marie Curie
94700 Maisons-Alfort Cedex
Tél : 01 49 77 46 50 / 06 63 32 22 53
Fax : 01 49 77 28 28
E-mail : sara.moutailler@anses.fr

Née le 8 octobre 1980 à Paris 19^{ème}
Nationalité: française
Situation familiale: concubinage, 2 enfants

Diplômes et formations

2016 : **Ecole chercheurs : L'écologie microbienne.** INRA, Pont-à-Mousson (54).
2010 : **Certificat d'aptitude à l'expérimentation animale de niveau 1.** Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA).
2008 : **Cours Arthropodes Vecteurs et Santé Humaine.** Institut Pasteur. Mention Très Bien, classement 1^{ère}/13.
2007 : **Doctorat en sciences de la vie.** Université P. et M. CURIE (Paris VI) ; Mention Très Honorable.
2003 : **DEA Biodiversité « Génétique, Histoire et Mécanismes de l'Evolution »** (Paris VI) ; Mention Bien, classement : 4^{ème}/11.
2002 : **Maîtrise de Biologie des Populations et des Ecosystèmes option Océanographie** (Paris VI) ; Mention Bien.
2001 : **Licence Biologie des Organismes** (Paris VI) ; Mention Assez-Bien, classement : 28^{ème}/292.
2000 : **Deug Biochimie** (Paris VI) ; Mention Assez-Bien, classement : 207^{ème}/1156.
1998 : **Bac scientifique option mathématique,** Lycée Paul Robert 93.

Activités de recherche

Depuis Oct. 2009 : **Chargée de Projet Recherche Catégorie 2. Responsable Equipe Vectotiq « Ecologie des agents pathogènes transmis par les tiques » - UMR BIPAR – Laboratoire de Santé Animale – ANSES, INRA, ENVA.** Evolution et épidémiologie des agents pathogènes transmis par les tiques (TBPs) et moustiques en France et en Europe. Évaluation de la compétence vectorielle des tiques vis-à-vis des virus. Développement de nouveaux outils de détections moléculaires haut débit des TBPs basé sur des PCR microfluidiques permettant la détection simultanée de 26 bactéries, 12 parasites et 25 virus au sein de 95 échantillons (tiques ou hôtes mammifères).
Oct. 2007 – Sept. 2009 : **Post Doctorat à l'Institut Pasteur à Paris.** Responsables A-B. FAILLOUX et F. ROUGEON. Variabilité génétique et adaptation des virus à leurs hôtes : le cas du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift et du virus Chikungunya.
Jan. 2004 – Sept. 2007 : **Thèse à l'Institut Pasteur à Paris.** Responsable : A.-B. FAILLOUX. Conséquences de l'infection par le virus de la fièvre de la Vallée du Rift pour deux espèces vectrices : *Culex pipiens quinquefasciatus* et *Aedes vexans*.
Jan. – Juil. 2003 : **Stage de DEA à l'Institut Pasteur à Paris.** Responsable : A.-B. FAILLOUX. Stratégies évolutives d'*Aedes aegypti* en réponse à l'infection par le virus de la dengue.

Activités d'enseignement

Avril 2016. 4th One-Health Course. Institut Pasteur Paris. Training School on Microfluidic detection of tick-borne pathogens. 8 étudiants (Thèse, Post-Doc, Jeune Chercheur). Provenance Internationale.
Mars 2016. Cours IVTAP. Institut Pasteur Paris. Les virus transmis par les tiques.

Juillet 2014. COST EurNegVec. Training School on Microfluidic detection of tick-borne pathogens. 15 étudiants (these, Post-Doc, Chercheurs). Provenance Européenne.

Novembre 2013. Master 2 UVSQ – STVE. Enseignement « Circulation des agents pathogènes et maladies infectieuses et parasitaires animales ».

Mars 2011. Cours AVSH. Institut Pasteur Paris. Epidémiologie du virus de l'Encéphalite à tiques en Alsace.

Novembre 2010. Master 2 UVSQ – STVE. Enseignement « Circulation des agents pathogènes et maladies infectieuses et parasitaires animales ».

Encadrements

Responsable de l'équipe Vectotiq au sein de l'UMR BIPAR depuis le 1 Mars 2017: supervision de 3 chercheurs (1 DR INRA, 1 CR2 INRA, 1 CR1 INRA), 1 IE, 1 AdT, 2 PhD, 1 AI en CDD.

Encadrement de Post-doc :

2011-2013. MICHELET Lorraine. Détection d'un panel d'agents pathogènes à caractère épizootique et/ou zoonotique dans des tiques collectées en France. Création d'une Puce à ADN basse densité servant d'outil d'investigation épidémiologique.

Co-encadrement thèse :

2015-18. GONDARD Mathilde. A la découverte de nouveaux agents pathogènes et microorganismes dans les tiques de la caraïbe par séquençage sans a priori et PCR microfluidiques. Financement Anses-CIRAD.

Encadrement d'étudiant en thèse étrangers :

2011-12. PADURARU Oana. Détection des agents pathogènes présents dans les tiques collectées en Roumanie.

2012-13. CHOTTE Julien. Analyse sans a priori des agents pathogènes présents dans les tiques et les rongeurs collectés en France, en Guadeloupe et en Thaïlande par NGS

2014-16. RAILEANU Cristian. Prévalence des agents pathogènes (bactéries, parasites, virus) transmis par les tiques de différentes espèces collectées en Roumanie

Encadrement de Master 2 :

Janvier – Sept. 2011 (8 mois). GOMEZ Nathalie. Développement d'une technique de RT-PCR quantitative permettant la détection et la quantification de l'ARN du virus de l'encéphalite à tiques (TBEV) chez les tiques de l'espèce *Ixodes ricinus*.

Janvier à Juin 2012 (6 mois). DELOIZY Charlotte. Modèles expérimentaux de transmission transtadiale d'Orbivirus et d'Orthobunyavirus par la tique *Ixodes ricinus*.

Janvier à Juin 2014 (6 mois). NISAVANH Athinna. Mise au point d'une puce à haut débit pour la détection des virus dans les tiques. Utilisation du modèle Fluidigm.

Janvier à Juin 2016 (6 mois). YOUSFI Léna. Développement d'un nouvel outil de détection à haut débit des virus transmis par les moustiques.

Encadrement thèse vétérinaire :

2017 (2mois) DENOUAL Myriam. Epidémiologie moléculaire d'*Anaplasma ovis*.

2012. DARNIS Elodie. *Aedes albopictus* représente-t-il un risque pour les animaux domestiques ou sauvages en France ?

Encadrement de BTS, étudiant vétérinaire:

2013 (3 mois) GAUDIGNON Elodie (BTS). Détection du virus de l'encéphalite à tique et d'autres agents pathogènes chez les tiques *Ixodes ricinus* de la forêt de Murbach.

2013 (3 mois) RIGAUX Caitlin (BTS). Détection de virus dans des tiques Ixodes ricinus collectées en Alsace et Ardennes.

2013 (3 mois) DUSSART Geoffrey (BTS). Détection d'agents pathogènes transmis par les tiques chez l'hôte vertébré : recherche d'anti-corps par la méthode ELISA et d'ADN par PCR.

2013 (3 mois) PROST Hélène (Etudiante Vétérinaire). Détection du virus de l'encéphalite à tique et d'autres agents pathogènes chez les tiques Ixodes ricinus de la forêt de Murbach.

Organisation de Training School dans le cadre de projet Européens

- COST Action. European Network for Neglected Vectors and Vector-Borne Infections. Juillet 2013. 15 étudiants (Ingénieurs, Doctorant, Post-Doctorant, Chercheurs), 9 Nationalités.
- 4th One Health Course (Institut Pasteur). Avril 2016. 8 étudiants (Doctorant, Post-Doctorant, Chercheurs), 6 Nationalités.

Accueil de Chercheurs Français et Etrangers : Screening à haut débit des agents pathogènes vectorisés (tiques et moustiques) par la technique haut débit développée au laboratoire et basée sur des PCR temps réels microfluidiques.

- Sally Cutler (projet collaboratif, East London University). Juin 2015
- Sebastien Grech-Angelini (Projet CIRAD, INRA Corté). Octobre 2015
- Arieke Doctors van Leeween et Manoj Fonville (RIVM, Pays Bas). Septembre 2016
- Tove Hoffman (SVA, Suède). Septembre 2016
- Anastasios Saratsis (Université Athènes, Grèce). Septembre-Octobre 2016
- Taissa Santos (Institut Oswaldo Cruz, Brésil). Juin 2016
- Marlène Dupraz (IRD, Montpellier). Juillet 2017

Autres responsabilités

Membre du Comité d'Ethique en Expérimentation Animale (ANSES, ENVA, INRA, UPEC).

Représentant des personnels scientifiques au Bureau des pôles de l'ENVA

Membre du groupe Tiques et Maladies à tiques TMT du réseau REID (CNRS)

Membre du Centre National d'Expertise sur les Vecteurs (CNEV)

Membre du COST Action : European Network for Neglected Vectors and Vector-Borne Infections

Financements et Contrats de recherche

2016-2019. European commission H2020 « A global alliance for Zika virus control and prevention (ZIKALLIANCE) » ; PI : Xavier De Lamballerie (INSERM-France). Grant as partner 100,000 euros

2016-2019. Anihwa. Arbonet. Total Grant 1,797,035 euros. Coordinateur Ali Mirazimi SVA (Suède). Grant as partner 67,000 euros

2014-2016. PTR Anses-Institut Pasteur. Projet ChipARBO. Coordinator Sara Moutailler (ANSES), Anna-Bella Failloux (IP). Grant 60 000 euros.

2013 – 2014. CoVetLab, TickTool project, funded by DTU (Denmark), ANSES (France), SVA (Sweden), CVI (The Netherlands), AHVLA (UK). Coordinator Rene Bodker (DTU): Grant 77 000 euros.

2012 – Animal Health Department INRA, « Suivi épidémiologique à haut débit des virus transmis par les tiques », Grant allocated to Sara Moutailler as young researcher. 10 000 euros.

2011 – 2013. CoVetLab, MicroarraysPathoTick project, funded by ANSES

(France), DTU (Denmark), SVA (Sweden), CVI (The Netherlands). Coordinator Sara Moutailler (ANSES). Grant 83 000 euros.

2011-2013. Obtention d'un contrat Post-doctoral de 18 mois. Projet BioPuceTick. Financement ANSES.

2011-2013 APR Interne (UMR BIPAR-UMR Viro). Orbitique. Modèles expérimentaux de transmission transtadiale d'Orbivirus et d'Orthobunyavirus par la tique *Ixodes ricinus*. Coordinator Sara Moutailler. Grant 28000 euros

2010-2012. APR Interne (UMR BIPAR, ANSES Nancy). Epidémiologie de l'Encéphalite à tiques en Alsace : étude de la prévalence du virus TBE chez les tiques de l'espèce *Ixodes ricinus* et les micromammifères sauvages dans les zones de « foyers » humains (PREV-TBE-TIQRO). Coordinator Sara Moutailler. Grant 21400 euros

Publications et Communications

Publications

Articles parus

1. Marlene DUPRAZ, Céline Toty, Elodie Devillers, Thomas Blanchon, Eric Elguero, Marion Vittecoq, Sara Moutailler, Karen McCoy. 2017. Population structure of the soft tick *Ornithodoros maritimus* and its associated infectious agents at the within colony scale. ***International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife***. 6(2):122-130. doi: 10.1016/j.ijppaw.2017.05.001.
2. Per M Jensen, Christian S Christoffersen, Sara Moutailler, Lorraine Michelet, Kirstine Klitgaard and Rene Bødker. 2017. Transmission differentials for multiple pathogens as inferred from their prevalence in larva, nymph and adult *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). ***Experimental and Applied Acarology***. 71(2), 171-182. DOI 10.1007/s10493-017-0110-5.
3. Zintl A, Moutailler S, Stuart P, Paredis L, Dutraive J, Gonzalez E, O'Connor J, Devillers E, Good B, O'Muireagain C, De Waal T, Morris F, Gray J. 2017. Ticks and Tick-borne diseases in Ireland. ***Ir Vet J***. 2017 Jan 31;70:4. doi: 10.1186/s13620-017-0084-y. Review.
4. Raileanu C, Moutailler S, Pavel I, Porea D, Mihalca AD, Savuta G and Vayssier-Taussat M. 2017. *Borrelia* diversity and Co-infection with Other Tick Borne Pathogens in Ticks. ***Front. Cell. Infect. Microbiol.*** 7:36. doi: 10.3389/fcimb.2017.00036.
5. Hartwig Huemer, Jorian Prudhomme, Fatima Amaro, Amal Baklouti, Gernot Walder, Bulent Alten, Sara Moutailler, Koray Ergunay, Remi N. Charrel, Nazli Ayhan. 2017. Practical guidelines for studies on sandfly-borne phleboviruses: part II: important points to consider for fieldwork and subsequent virological screening. ***Vector-Borne and Zoonotic Diseases***. 2017 Jan;17(1):81-90. doi: 10.1089/vbz.2016.1965.
6. Nazli Ayhan, Amal Baklouti, Jorian Prudhomme, Gernot Walder, Fatima Amaro, Bulent Alten, Sara Moutailler, Koray Ergunay, Remi N. Charrel, Hartwig Huemer. 2017. Practical guidelines for studies on sandfly-borne phleboviruses: part I: important points to consider ante field work. ***Vector-Borne and Zoonotic Diseases***. 2017 Jan;17(1):73-80. doi: 10.1089/vbz.2016.1957.
7. Lorraine Michelet, Guy Joncour, Elodie Devillers, Alessandra Torina, Muriel Vayssier-Taussat, Sarah I. Bonnet, Sara Moutailler. 2016. Tick species, tick-borne pathogens and symbionts in an insular environment off the coast of Western France. ***Ticks and Tick-Borne Diseases***, 2016. Aug 29. pii: S1877-959X(16)30138-8. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.08.014.
8. Sara Moutailler, Claire Valiente-Moro, Elise Vaumourin, Lorraine Michelet, Florence Tran, Elodie Devillers, Jean-François Cosson, Patrick Gasqui, van-van Tran, Patrick Mavingui, Gwenael Vourch, Muriel Vayssier-Taussat. 2016. Co-infection of ticks: the rule rather than the exception. ***Plos Neglected Tropical Diseases***. 2016 Mar 17;10(3):e0004539. doi: 10.1371/journal.pntd.0004539.
9. Sara Moutailler, Ivona Popovici, Elodie Devillers, Muriel Vayssier-Taussat, Marc Eloit. 2016. Diversity of viruses in *Ixodes ricinus* and characterization of a neurotropic strain of Eyach

virus. *New microbes and new infections*, 2016 Mar 5;11:71-81. doi: 10.1016/j.nmni.2016.02.012

10. Muriel Vayssier-Taussat, Sara Moutailler, Françoise Féménia, Philippe Raymond, Olivier Croce, Bernard La Scola, Pierre Edouard Fournier, Didier Raoult. 2016. Identification of new zoonotic Bartonella species responsible for bacteremia in humans. *Emerging Infectious Diseases*. Mar;22(3):457-62. doi: 10.3201/eid2203.150269.
11. Olivier Duron, Karim Sidi-Boumedine, Elodie Rousset, Sara Moutailler, Elsa Jourdain. 2015. The importance of ticks in Q fever transmission: what has (and has not) been demonstrated? *Trends in Parasitology*. November 2015, Vol. 31, No. 11
12. Vayssier-Taussat M, Cosson JF, Degeilh B, Eloit M, Fontanet A, Moutailler S, Raoult D, Sellal E, Ungeheuer MN, Zylbermann P. 2015. How a multidisciplinary 'One Health' approach can combat the tick-borne pathogen threat in Europe. *Future Microbiol*. 10:809-18. doi: 10.2217/fmb.15.15.
13. Failloux A.-B. and Moutailler S. 2015. Zoonotic aspects of vector-borne infections. *OIE Scientific and Technical Review*, 34 (1), April 2015.
14. Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, van der Wal FJ, Sprong H, Boye Pihl TP, Klitgaard K, Bodker R, Fach P, Moutailler S. 2014. High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4:103. doi: 10.3389/fcimb.2014.00103.
15. Liu X, De La Fuente J, Cote M, Galindo RC, Moutailler S, Vayssier-Taussat M, Bonnet SI. 2014. IRSPI, a tick serine protease inhibitor involved in tick feeding and Bartonella henselae infection. *PLoS Negl Trop Dis*, 8(7):e2993. doi: 10.1371/journal.pntd.0002993.
16. Cosson JF, Michelet L, Chotte J, Le Naour E, Cote M, Devillers E, Poulle ML, Huet D, Galan M, Geller J, Moutailler S and Vayssier-Taussat M. 2014. Genetic characterization of the Human Relapsing Fever Spirochete *Borrelia miyamotoi* in vectors and animal reservoirs of Lyme disease spirochetes in France. *Parasites and Vectors*, 7:233. doi: 10.1186/1756-3305-7-233.
17. Arias-Goeta C, Moutailler S, Mousson L, Zouache K, Thiberge J-M, Caro V, Rougeon F, Failloux A.-B. 2014. Chikungunya virus adaptation to a mosquito vector correlates with only few point mutations in the viral envelope glycoprotein. *Infection, Genetics and Evolution* 24:116-26. doi: 10.1016/j.meegid.2014.03.015.
18. Bonnet S, Michelet L, Moutailler S, Cheval J, Hébert C, Vayssier-Taussat M, Eloit M. 2014. Identification of parasitic communities within European ticks using next generation sequencing. *PLoS Negl Trop Dis* 8(3):e2753.
19. Vayssier-Taussat M, Moutailler S, Michelet L, Devillers E, Bonnet S, Cheval J, Hébert C, Eloit M. 2013. Next generation sequencing uncovers unexpected bacterial pathogens in ticks in Western Europe. *PLoS One* 8(11):e81439.
20. Michelet, L., Bonnet, S., Madani, N., Moutailler, S. 2013. Discriminating *Francisella tularensis* and *Francisella*-like endosymbionts in *Dermacentor reticulatus* ticks: Evaluation of current molecular techniques. *Vet Microbiol* 163 (3-4) : 399-403.

21. Paduraru, O. A., Buffet, J. P., Cote, M., Bonnet, S., Moutailler, S., Paduraru, V., Femenia, F., Eloit, M., Savuta, G., Vayssier-Taussat, M. 2012. Zoonotic transmission of pathogens by *Ixodes ricinus* ticks, Romania. **Emerg Infect Dis** 18 (12) : 2089-90
22. Moutailler S., Roche B, Thiberge JM, Caro V, Rougeon F, Failloux AB. 2011. Host alternation is necessary to maintain the genome stability of Rift Valley Fever Virus. **PLoS Negl Trop Dis** 5(5):e1156. doi: 10.1371/journal.pntd.0001156.
23. Moutailler S., Krida G., Madec Y., Bouloy M. and Failloux A.-B. 2010. Replication of Clone 13, a naturally attenuated avirulent isolate of Rift Valley fever virus in *Aedes* and *Culex* mosquitoes. **Vector-Borne and Zoonotic Disease** 10(7): 681-688.
24. Martin E., Moutailler S., Madec Y. and A.-B. Failloux. 2010. Differential responses of the mosquito *Aedes albopictus* from the Indian Ocean region to two chikungunya isolates. **BMC Ecology** 10:8
25. Paupy C., Ollomo B., Kamgang B., Moutailler S., Rousset D., Demanou M., Hervé J-P., Leroy E. and Simard F. 2010. Comparative role of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in the Emergence of Dengue and Chikungunya in Central Africa. **Vector Borne and Zoonotic Diseases** 10(3): 259-266.
26. Talbalaghi A., Moutailler S., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2010. Are *Aedes albopictus* or other mosquito species from North Italy competent enough to sustain new arboviral outbreaks? **Medical and Veterinary Entomology** 24: 83-87.
27. Moutailler S., Barré H., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2009. Recently introduced *Aedes albopictus* in Corsica is highly competent to Chikungunya and dengue viruses. **Tropical Medicine and International Health** 14(9): 1105-1109.
28. Moutailler S., Guichoux E., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2010. Infection by a dengue virus affects survival and reproduction of *Aedes aegypti formosus* (Culicidae): preliminary results. **Annales de la Société entomologique de France** 46(3-4): 359-366.
29. Dubrulle M., Mousson L., Moutailler S., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2009. Chikungunya virus and *Aedes* mosquitoes: saliva is infectious as soon as two days after oral infection. **Plos One** 4(6): e5895.
30. Moutailler S., Krida G., Schaffner F., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2008. Potential vectors of Rift Valley fever virus in the Mediterranean region. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases** 8(6): 749-54.
31. Vazeille M., Moutailler S., Pages F., Jarjaval F, Failloux A.-B. 2008. Introduction of *Aedes albopictus* in Gabon: what consequences for dengue and chikungunya transmission? **Tropical Medicine and International Health** 13(9):1176-9.
32. Tortosa P., Courtiol A., Moutailler S., Failloux A.-B. and Weill M. 2008. Chikungunya-*Wolbachia* interplay in *Aedes albopictus*. **Insect Molecular Biology** 17(6): 677-684.
33. Moutailler S., Bouloy M. and A.-B. Failloux. 2007. Short report: Efficient oral infection of *Culex pipiens quinquefasciatus* by Rift Valley Fever virus using a cotton stick support. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 76(5): 827-829.

34. Vazeille M., S. Moutailler, D. Coudrier, C. Rousseaux, H. Khun, M. Huerre, J. Thiria, J.-S. Dehecq, D. Fontenille, I. Schuffenecker, P. Desprès and A.-B. Failloux. 2007. Two Chikungunya isolates from the outbreak of La Reunion (Indian Ocean) exhibit different patterns of infection in the mosquito, *Aedes albopictus*. **Plos One** 2(11): e1168.

Chapitre de livre

1. Moutailler et al. Chapitre 8. 2015. Principales maladies transmises par les tiques: Epidemiologie, clinique et diagnostic. In Tiques et maladies à tiques. Biologie, écologie évolutive, épidémiologie. Editrices Nathalie Boulanger and Karen McCoy. Editions IRD.

Rapport d'expertise

1. Sara Moutailler and others. DFO. 2015. Science Advice to Guide a Research Study using the Fluidigm® Biomark Platform for Microbe Detection in Wild and Farmed Salmon. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Sci. Advis. Rep. 2015/039.

Articles en préparation et soumis

1. M Gondard, A Cabezas-Cruz, R Charles, M Vayssier-Taussat, E Albina, S Moutailler. Tick-borne diseases in the Caribbean. 2017. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, soumis.
2. C Raileanu, S Moutailler, D Porea, L Oslobanu, D Anita, A Anita, M Vayssier-Taussat, G Savuta. 2017. Molecular evidence of tick-borne pathogens in questing ticks from eastern Romania. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, soumis.
3. M Gondard, L Michelet, A Nisavanh, E Devillers, S Delannoy, P Fach, A Aspan, J Chirico, B Hoffman, FJ van der Wal, S Jahfari, H Sprong, K Mansfield, K Klitgaard, R Bødker, S Moutailler. High-throughput screening of tick-borne viruses in European ticks. 2017. Prepared for *PlosNeglected and Tropical Diseases*.
4. M Gondard, S Delannoy, E Devillers, R Aprelon, M Vayssier-Taussat, E Albina, S Moutailler. Screening of tick-borne pathogens in Caribbean ticks using High-throughput qPCR. 2017. Prepared for *Parasites and Vectors*.
5. Bournez L., Umhang G., Devillers E., Demerson J-M., Caillot C., Schaeffer J., Hansmann Y., Boué F., Moutailler S. First Detection of Tick-Borne Encephalitis virus in *Ixodes ricinus* collected in France since the 70s. An Epidemiological survey between 2010 and 2016. Prepared for *Journal of Virology*.
6. L Yousfi, T Santos, L Mousson, E Devillers, C Paupy, R Lourenço-de-Oliveira, A-B Failloux, S Moutailler. 2017. Highthroughput screening of mosquito-borne viruses in Amazonian Mosquitoes in Brazil. Prepared for *PLos Neglected Tropical Diseases*.

Communications orales

Communications invitees

Sara Moutailler. Development of Direct Microbiologic Methods for Diagnosis of Lyme Disease and Co-Infections. Interest of New Generation PCRs. **ILADS Europe 2017**, 19-20 May 2017, Paris, France. (Invited Speaker)

Sara Moutailler. Screening of tick-borne pathogens in European ticks using High-throughput qPCR. 4th Annual Scientific Meeting Med Vet Net. **WORKSHOP - qPCR AIMED AT YOUNG AND TECHNICAL SCIENTISTS**, 7 octobre 2015, Maisons-Alfort, France. (Invited speaker)

Sara Moutailler. Virus de l'Encéphalite à tiques : surveillance et émergence en Europe. **Journée thématique du CNEV – Tiques et Maladies à tiques : impacts en santé humaine et vétérinaire**. 20 Mai 2015, ENVA, Maisons-Alfort, France. (Invited speaker)

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. Screening of tick-borne pathogens in European ticks using High-throughput qPCR. **Restitutions du programme national de recherche environnement santé travail (PNR-EST)**, 19 Mai 2015, Paris, France. (Invited speaker)

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. Screening of tick-borne pathogens in European ticks using High-throughput qPCR. **BIOTRACER CONGRESS – Next Generation PCR-Next Generation Sequencing**, 25-26 Mars 2015, Berlin, Allemagne. (Invited speaker)

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2014. Détection multiple d'agents pathogènes : le système microfluidique appliqué à la détection virale chez les tiques. **Journées Francophones de Virologie**. 6-7 Mars, Institut Pasteur Paris, France. (Invited speaker)

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2014. Multiple detection of Pathogens in ticks: development of a high throughput real time PCR chip used as a new epidemiologic investigative tool. **Journée de la Plateforme IdentityPath**, 30 Janvier, Maisons-Alfort, France. (Invited speaker)

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2013. Multiple detection of Pathogens in ticks: development of a high throughput real time PCR chip used as a new epidemiologic investigative tool. **Nadir meeting**, 5th November, Tours, France. (Invited speaker)

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2013. Multiple detection of Pathogens in ticks: development of a high throughput real time PCR chip used as a new epidemiologic investigative tool. **CoVetLab meeting (Club5)**, 13 June, Copenhagen, Danemark. (Invited speaker)

Communication congrès

Saratsis A., Moutailler S, Devillers E., Vayssier-Taussat M., Sotiraki S. High mixed infection prevalences in Mediterranean tick species as inferred by high-throughput microfluidic real time PCRs. Implication for the veterinary and medical settings. **4rd Conference on Neglected Vectors and Vector-Borne Diseases (EurNegVec): with MC and WG Meeting of the COST Action TD1303**, 11-13 September 2017, Crete, Greece.

Sara Moutailler, Ivona Popovici, Lorraine Michelet, Elodie Devillers, Muriel Vayssier-Taussat, Marc Eloit. Virome analysis of ticks. **3rd Conference on Neglected Vectors and Vector-Borne Diseases (EurNegVec): with MC and WG Meeting of the COST Action TD1303**, 24-26 May 2016, Zaragoza, Spain.

Sara Moutailler et al. 2016. Screening of tick-borne pathogens in European ticks using High-throughput qPCR. **6e journées d'étude Santé & Société « Agents infectieux et vaccins chez l'homme et l'animal »**. 30 Mars 2016, Maisons-Alfort, France.

Sara Moutailler, Lorraine Michelet, Elodie Devillers, Muriel Vayssier-Taussat, Marc Eloit. Virome des tiques. **REID-Groupe Tiques et Maladies à tiques**, 9-11 Mars 2016, Sète, France.

Vayssier-Taussat M, Moutailler S, Raymond P, Croce O, La Scola B, Fournier PE, Raoult D. Identification of novel zoonotic *Bartonella* species responsible for paucisymptomatic bacteremia in patients reporting tick bites. **Colloque BIEM**, 24-25 Avril 2015, Belle Ile en Mer, France.

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. Screening of tick-borne pathogens in European ticks using High-throughput qPCR. **Colloque BIEM**, 24-25 Avril 2015, Belle Ile en Mer, France.

Moutailler S, Michelet L, Devillers E, Vayssier M, Eloit M. Complémentarité du système microfluidique et du séquençage haut débit dans l'étude du virome des tiques. **Journées Francophones de Virologie**. 9-10 Avril 2015, Institut Pasteur Paris, France.

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2014. High-Throughput monitoring of tick-borne human and animal pathogens in Europe. **Joint 8th International Ticks and Tick-borne Pathogens (TTP-8) and 12th Biennial Society for Tropical Veterinary Medicine (STVM) Conference**, 24-29 August, Cap Town, South Africa.

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2014. Multiple detection of Pathogens in ticks: development of a high throughput real time PCR chip used as a new epidemiologic investigative tool. **1st Conference on Neglected Vectors and Vector Borne Pathogens**, 8-11 April, Cluj, Romania.

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2014. Multiple detection of Pathogens in ticks: development of a high throughput real time PCR chip used as a new epidemiologic investigative tool. **REID-Groupe Tiques et Maladies à tiques**, 10-13 Février, Montpellier, France.

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2013. Multiple detection of Pathogens in ticks: development of a high throughput real time PCR chip used as a new epidemiologic investigative tool. **Journées du département de Santé Animale de l'INRA**, 15-18 Octobre, Cap d'Agde, France.

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2013. Multiple detection of Pathogens in ticks: development of a high throughput real time PCR chip used as a new epidemiologic investigative tool. **International Symposium on Ectoparasites of Pets (ISEP)**, 7-9 April, Munich, Germany.

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Molbak L, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2012. Un nouvel outil d'investigation épidémiologique performant pour la détection des agents pathogènes vectorisés par les tiques. **Société Française de Parasitologie**. 9-10 Mai 2012. Rennes, France.

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2012. Un nouvel outil d'investigation épidémiologique performant pour la détection des agents pathogènes vectorisés par les tiques. **Groupe Tiques et Maladies à tiques**, 15-16 Novembre 2012. Saint-Gènes-Champanelle, France.

Umhang, G., Devillers, E., Demerson, J-M., Caillot, C., Schaeffer, J., Hansmann, Y., Boué, F., Moutailler, S. Epidémiologie du virus de l'Encéphalite à tiques en Alsace. Etude de la prévalence du

virus TBE chez les tiques de l'espèce *Ixodes ricinus* et les micromammifères sauvages dans les zones de « foyers » humains. **Groupe Tiques et Maladies à Tiques, Strasbourg, France, 17/18 Novembre 2011.**

Uhang, G., Devillers, E., Demerson, J-M., Caillot, C., Schaeffer, J., Hansmann, Y., Boué, F., Moutailler, S. Epidémiologie du virus de l'Encéphalite à tiques en Alsace. Etude de la prévalence du virus TBE chez les tiques de l'espèce *Ixodes ricinus* et les micromammifères sauvages dans les zones de « foyers » humains. **Groupe Tiques et Maladies à Tiques, Montpellier, France, 18/19 Novembre 2010.**

Moutailler S., Bouloy M. and A.-B. Failloux. Consequences of infection by Rift Valley Fever virus on life history traits of two mosquito species : *Aedes vexans* and *Culex pipiens quinquefasciatus*. **Journées départementales de virologie, Institut Pasteur, Paris, Octobre 2007.**

Moutailler S., Bouloy M. and A.-B. Failloux. Consequences of infection by Rift Valley Fever virus on life history traits of two mosquito species : *Aedes vexans* and *Culex pipiens quinquefasciatus*. **4th European Meeting on Viral Zoonoses, 2-5 juin 2007, Saint-Andrews, Scotland.**

Moutailler S. et A.-B. Failloux. *Aedes aegypti* : une espèce dengue. **Fête de la science, Faculté d'Avignon, Octobre 2004.**

Communications affichées

Ana Carolina Cuellar, Kirstine Klitgaard Schou, Sara Moutailler, Patrick Fach, Sabine Delannoy, Fimme van der Wal, Aline de Koeier, Jan Chirico, Anna Aspán, Mikael Juremalm, Karen Mansfield, Paul Phipps, Tony Fooks and Rene Bødker. Predicting spatial prevalence of tick pathogens in Northern Europe using satellite imagery. SVEPM conference, 16-18 March 2016, Elsinore Denmark.

Mathilde Gondard, Sara Moutailler, Lorraine Michelet, Sarah Bonnet, Elodie Devillers, Justine Cheval, Charles Hebert, Muriel Vayssier-Taussat, Marc Eloit. DECIPHERING THE TICK PATHOBIOME. Xth International Congress ESVV 2015 for Veterinary Virology Combined with the 9th Annual Meeting of Epizone, 31 August to 3 September 2015, Montpellier, France.

Sara Moutailler, Lorraine Michelet, Sarah Bonnet, Elodie Devillers, Justine Cheval, Charles Hebert, Muriel Vayssier-Taussat, Marc Eloit. DECIPHERING THE TICK PATHOBIOME. 1st International Congress on : Pathobiome : Pathogens in Microbiotas in hosts. 24-26 June 2015, Paris, France. (Best Poster Presentation award).

Decors A, Richomme C, Lesage C, Uhang G, Devillers E, Moutailler S, Madani N. 2013. Outbreak of tularemia in Hare and tick-borne infection risk for human. International Union of Game Biologists (IUGB), 27-29 August, Brussels, Belgium.

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Uhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, Bodker R, Klitgaard Schou K, Boye Pihl T P, Van Der Wal F, Fach P, Moutailler S. 2012. Multiple detection of Pathogens in ticks: development of a high throughput real time PCR chip used as a new epidemiologic investigative tool. E-SOVE, 8-11 Octobre 2012, Montpellier, France.

Uhang, G., Devillers, E., Demerson, J-M., Caillot, C., Schaeffer, J., Hansmann, Y., Boué, F., Moutailler, S. 2012. First Detection of Tick-Borne Encephalitis virus in *Ixodes ricinus* collected in

France since the 70s. European Multicolloquium on Parasitology (EMOP) XI, 24-28 juillet 2012, Cluj Napoca, Roumanie

Umhang, G., Devillers, E., Demerson, J-M., Caillot, C., Schaeffer, J., Hansmann, Y., Boué, F., Moutailler, S. 2012. Première détection depuis les années 70 du virus TBE chez la tique *Ixodes ricinus* collectée en France. Société Française de Parasitologie. 9-10 Mai 2012. Rennes, France

Allix S., Moutailler S., Le Bidel O., Bernier A., Boireau P. 2010. Gorgement sur lapin de tiques potentiellement infectées par des microorganismes pathogènes pour l'Homme : Biosécurité et Raffinement, même combat. AFSTAL, Lyon, France, 2010.

Moutailler S., Bouloy M. et A.-B. Failloux. Infections expérimentales du moustique *Culex pipiens quinquefasciatus* par le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift. Journées départementales de virologie, Institut Pasteur, Paris, Novembre 2005.

Moutailler S., Mousson L., Bousard M., Vazeille M. et A.-B. Failloux. Stratégies évolutives d'*Aedes aegypti* en réponse à l'infection par le virus de la dengue. Congrès : Assises de la Recherche française dans le Pacifique, Nouméa, Nouvelle-Calédonie, Août 2004.

Activités de recherche

Durant mon cursus universitaire je me suis initiée à l'entomologie médicale dans le cadre d'un stage de Master2 portant sur les moustiques vecteurs de la dengue à l'Institut Pasteur de Paris (sous la direction du Dr. Anna-Bella Failloux). J'ai choisi de continuer mon parcours professionnel dans ce domaine fascinant en développant notamment, durant mes travaux de thèse, des travaux portant sur la conséquence de l'infection par différents virus (Fièvre de la Vallée du Rift (FVR), Dengue, Chikungunya) sur les traits d'histoire de vie de leur moustique vecteur (genre *Aedes* et *Culex*). J'ai démontré que les moustiques vecteurs peuvent être affectés au niveau de leur survie notamment : diminution dans le cas du virus FVR et *Culex quinquefasciatus* ; augmentation dans le cas du virus FVR et *Aedes vexans* ; ou encore au niveau de leur fertilité ou de leur fécondité (Moutailler et al. 2010). J'ai également menés d'autres travaux de ce type pour les virus de la Dengue (Moutailler et al., 2010) et le virus Chikungunya (Martin et al. 2010). Durant ma thèse, l'épidémie due au virus Chikungunya en 2007, nous a rappelé à quel point les arbovirus (et autres agents pathogènes vectorisés) doivent être surveillés et caractérisés par des outils adéquats si l'on veut prévenir leurs émergences. C'est pourquoi nous avons étudiés, lors de nombreux projets collaboratifs menés durant ma thèse et mon post-doctorat à l'Institut Pasteur de Paris, la compétence vectorielle de différentes espèces de moustiques (*Aedes* et *Culex*) originaires de différentes zones géographiques (Europe, Afrique, Asie) vis-à-vis de différents virus (FVR, Chikungunya, Dengue). Nous avons ainsi quantifié le risque d'émergence et de maintien de ces virus dans différents territoires (voir les 9 publications associées à ces travaux). Durant mon post-doctorat, j'ai également suivi le Cours d'Entomologie Médicale de l'Institut Pasteur (Cours Arthropodes Vecteurs et Santé Humaine) où j'ai découvert d'autres arthropodes vecteurs comme les tiques.

A l'issue de mon post-doc, j'ai été recruté à l'ANSES en tant que chercheur, au sein du Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort et plus particulièrement de l'UMR BIPAR, afin de développer des projets de recherche portant sur les tiques et les agents pathogènes qu'elles vectorisent. J'ai été en charge de projets collaboratifs évaluant la compétence vectorielle de la tique *Ixodes ricinus* vis-à-vis de différents virus (dont je ne détaillerai pas les résultats dans ce manuscrit). Depuis huit années, mes activités de recherche portent essentiellement sur l'épidémiologie des agents pathogènes vectorisés par les tiques et le développement de nouveaux outils haut débit pour la détection de ces agents pathogènes. Un deuxième volet de mes recherches se focalise sur les interactions hôtes/virus transmis par les tiques et plus particulièrement sur la variabilité génétique et l'adaptation des virus à leurs hôtes (tiques et mammifères).

Valorisation :

- M. Vazeille, S. Moutailler, D. Coudrier, C. Rousseaux, H. Khun, M. Huerre, J. Thiria, J.-S. Dehecq, D. Fontenille, I. Schuffenecker, P. Desprès and A.-B. Failloux. 2007. Two Chikungunya isolates from the outbreak of La Reunion (Indian Ocean) exhibit different patterns of infection in the mosquito, *Aedes albopictus*. Plos One 2(11): e1168.
- S. Moutailler, M Bouloy and A.-B. Failloux. 2007. Short report: Efficient oral infection of *Culex pipiens quinquefasciatus* by Rift Valley Fever virus using a cotton stick support. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 76(5): 827-829.
- Tortosa P., Courtiol A., Moutailler S., Failloux A.-B. and Weill M. 2008. Chikungunya-*Wolbachia* interplay in *Aedes albopictus*. Insect Molecular Biology 17(6): 677-684.
- Vazeille M., Moutailler S., Pages F., Jarjaval F, Failloux A.-B. 2008. Introduction of *Aedes albopictus* in Gabon: what consequences for dengue and chikungunya transmission? Tropical Medicine and International Health 13(9):1176-9.
- Moutailler S., Krida G., Schaffner F., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2008. Potential vectors of Rift Valley fever virus in the Mediterranean region. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 8(6): 749-54.
- Dubrulle M., Mousson L., Moutailler S., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2009. Chikungunya virus and *Aedes* mosquitoes: saliva is infectious as soon as two days after oral infection. Plos One 4(6): e5895.
- Moutailler S., Barré H., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2009. Recently introduced *Aedes albopictus* in Corsica is highly competent to Chikungunya and dengue viruses. Tropical Medicine and International Health 14(9): 1105-1109.
- Moutailler S., Guichoux E., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2010. Infection by a dengue virus affects survival and reproduction of *Aedes aegypti formosus* (Culicidae): preliminary results. Annales de la Société entomologique de France 46(3-4): 359-366.
- Moutailler S., Krida G., Madec Y., Bouloy M. and Failloux A.-B. 2010. Replication of Clone 13, a naturally attenuated avirulent isolate of Rift Valley fever virus in *Aedes* and *Culex* mosquitoes. Vector-Borne and Zoonotic Disease 10(7): 681-688.
- Martin E., Moutailler S., Madec Y. and A.-B. Failloux. 2010. Differential responses of the mosquito *Aedes albopictus* from the Indian Ocean region to two chikungunya isolates. BMC Ecology 10:8.
- Paupy C., Ollomo B., Kamgang B., Moutailler S., Rousset D., Demanou M., Hervé J-P., Leroy E. and Simard F. 2010. Comparative role of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in the Emergence of Dengue and Chikungunya in Central Africa. Vector Borne and Zoonotic Diseases 10(3): 259-266.
- Talbalaghi A., Moutailler S., Vazeille M. and A.-B. Failloux. 2010. Are *Aedes albopictus* or other mosquito species from North Italy competent enough to sustain new arboviral outbreaks? Medical and Veterinary Entomology 24: 83-87.

1. Epidémiologie des agents pathogènes vectorisés

Les maladies à transmission vectorielles représentent 23% des maladies infectieuses émergentes au cours des dernières décennies (Jones et al. 2008). Ces (ré-)émergences coïncident avec les changements globaux et notamment climatiques, ce qui tend à renforcer l'idée que le climat influence fortement l'émergence des agents pathogènes vectorisés. En effet les vecteurs sont sensibles aux variations des conditions météorologiques (pluie, température, humidité, etc...).

Les maladies vectorielles sont responsables de fortes morbidité et mortalité chez l'Homme et les animaux. Les exemples sont nombreux. Le virus de la Dengue, par exemple, infecte entre 50 et 100 millions de personnes chaque année à travers le monde, avec un taux de mortalité pouvant atteindre 2,5% (Guzman et al. 2010). Le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift a été responsable d'une épizootie massive au Kenya en 1930 entraînant la mort de 3500 agneaux et 1200 brebis (Daubney, Hudson, and Garnham 1931). Le virus West Nile a décimé une grande partie de la population des oiseaux du continent américain et a infecté près de 40 000 personnes, dont 1700 morts, entre 1999 et 2013. Le virus de l'Encéphalite à tiques est responsable de la plus importante maladie neuro-invasive transmise par les tiques en Europe et en Asie, avec des milliers de cas humain par an et une mortalité pouvant atteindre 35% selon le sous-type impliqué (Suss 2008). Il existe plus de 500 virus transmis par les arthropodes. Un quart d'entre eux entraînent des maladies chez l'Homme, dont certaines fièvres hémorragiques et des méningoencéphalites pouvant entraîner la mort (Weaver and Reisen 2010).

Les moustiques sont les plus importants vecteurs d'agents pathogènes infectieux pour l'Homme suivi par les tiques (Toledo et al. 2009). Mais les tiques transmettent la plus grande variété d'agents pathogènes, bactéries, parasites et virus, aux animaux et aux Hommes. Il n'existe pas d'espèce de tique inféodée aux hommes, l'homme est toujours un vecteur accidentel contrairement aux moustiques où certaines espèces ne piquent que l'homme. Les tiques sont les principaux vecteurs d'agents pathogènes zoonotiques dans le monde (Jongejan and Uilenberg 2004). Par exemple, la Borreliose de Lyme, due aux bactéries du genre *Borrelia*, présente une très large répartition géographique en région tempérée, avec plus de 85500 cas humains répertoriés chaque année dans le monde (16500 aux Etats Unis et 65 500 cas en Europe) (Hubalek 2009; Rizzoli et al. 2011).

En Europe, la principale espèce de tique vectrice d'agent pathogène chez l'Homme et l'animal est la tique *Ixodes ricinus* (Hubalek 2009; Rizzoli et al. 2011). Elle présente une très large répartition géographique et une large gamme d'hôtes, dont l'homme, les mammifères, les oiseaux et les reptiles. Elle fait trois repas au cours de sa vie sur différents hôtes (triphase), et son microbiome est conservé aux cours de ses métamorphoses successives (larve, nymphe puis adulte). Ces

caractéristiques expliquent sa capacité à transmettre un grand nombre d'agents pathogènes (bactéries, parasites et virus) entre l'Homme et la faune (sauvage et domestique).

En plus de la Borréliose de Lyme, la tique *Ixodes ricinus* peut infecter les hommes et les animaux avec de nombreux agents pathogènes zoonotiques : des bactéries telles que *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia* spp., *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, *Bartonella* spp., ...), des parasites (des espèces de *Babesia* principalement et parfois des *Theileria*) et des virus (virus de l'Encéphalite à tiques) (Charrel et al. 2004; Parola and Raoult 2001). Certains de ces agents pathogènes ont été décrits dans les tiques avant d'être associés à une maladie humaine (la bactérie *Borrelia miyamotoi* par exemple), d'autres n'ont été découverts que très récemment chez les tiques puis chez l'homme (*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*) ou encore ont été détectés pour la première fois chez un homme mort après une piqûre de tique (le virus Bourbon).

Une des principales missions de l'ANSES vise à mieux comprendre et contrôler les zoonoses dont les maladies à transmission vectorielle. C'est dans ce cadre que j'ai initié des travaux d'épidémiologie des agents pathogènes vectorisés par deux arthropodes majeurs : les tiques et les moustiques ; en utilisant les techniques classiques de biologie moléculaire et en développant de nouveaux outils haut débit permettant la détection avec ou sans a priori de ces agents pathogènes dans différents échantillons (dans différentes espèces de tiques et de moustiques mais aussi dans le sang ou différents organes d'hôtes des tiques).

a. Le virus TBE en Alsace

Le virus de l'Encéphalite à tiques (TBE ; Tick borne encephalitis) a été décrit pour la première fois en 1931 en Autriche mais n'a été nommé qu'en 1937 en Russie (Zilber 1939). Ce virus appartient à la famille des Flaviviridae et au genre *Flavivirus*. Les infections à TBEV représentent la plus importante maladie neuro-invasive transmise par les tiques en Europe et en Asie, avec plusieurs milliers de cas humains par an (Suss 2008), dont une centaine en France depuis 1968 (en majorité en Alsace) (Hansmann et al. 2006). La zone d'endémie couvre la majeure partie de l'Europe orientale (Figure 1) ainsi que la Sibérie et l'Extrême-Orient. Trois différents sous-types de ce virus, dont les répartitions géographiques sont plus ou moins corrélées à la distribution géographique de leurs vecteurs (*I. ricinus* en Europe et *I. persulcatus* en Asie), sont connus (Suss 2008). Ces sous-types se distinguent par leur pathogénicité chez l'homme. Le sous-type « Européen » est caractérisé par des faibles taux de morbidité et de mortalité chez l'Homme (0.5 à 2%) contrairement aux sous-types « Sibérien » et « Extrême-Orient » induisant des taux de mortalités compris entre 6-8% et 20-40% respectivement. Des séquelles neurologiques peuvent survenir dans 10% des cas liés au sous-type Européen et sont plus fréquents avec les autres sous-types (Donoso Mantke, Schadler, and Niedrig 2008). Les hommes

peuvent aussi s'infecter en consommant des produits laitiers crus (fromages et laits) (Hudopisk et al. 2013). La séroprévalence chez l'homme est variable : 5,5% en France (Thorin et al. 2008) et plus de 25 % dans certains pays de l'Est (Prokopowicz et al. 1995).

En Europe, l'Encéphalite à tiques est l'arbovirose humaine la plus fréquente. On observe des fluctuations très importantes du nombre de cas d'un pays à l'autre et d'une année sur l'autre mais depuis une dizaine d'années, la plupart des pays Européens constatent une augmentation importante du nombre de cas rapporté pour ce virus. Ainsi, en Allemagne, ce nombre a plus que doublé depuis 2002, avec plus de 500 cas recensés en 2006. En Suisse, également, 2005 a été marquée par une augmentation de plus de 27%, avec 259 cas. Dans son aire de répartition, le virus est localisé sous forme de « foyers » plus ou moins stables, définis à partir des cas humains autochtones répertoriés et/ou de la détection de virus dans des tiques. Le cycle sauvage du virus implique les tiques et les micromammifères (mulots, campagnols) (Gritsun, Lashkevich, and Gould 2003; Mansfield et al. 2009). Les autres animaux sauvages ou domestiques, ainsi que l'homme, sont considérés comme des hôtes accidentels, avec une virémie très faible voire inexistante, les empêchant de servir de source d'infection pour les tiques (Pfeffer and Dobler 2010). Cependant ces hôtes accidentels peuvent servir de sentinelles pour quantifier le risque d'exposition (Roelandt et al. 2010).

Les tiques acquièrent le virus lors de repas sanguin sur un hôte vertébré en phase de virémie et le retransmettent à leur hôte lors du repas suivant. Elles restent infectées toute leur vie (parfois plusieurs années), représentant ainsi le principal réservoir de ce virus (Gritsun, Lashkevich, and Gould 2003). Elles peuvent aussi acquérir le virus par d'autres tiques lors d'un co-repas sur un hôte faiblement virémique. Plus précisément, les virions provenant d'une nymphe peuvent être transportés par les leucocytes jusqu'aux sites de piqûres de larves non-infectées fixées à proximité sur le même animal (Randolph 2011). Ce mode d'infection horizontal représenterait la plus grande part du cycle du TBEV, il expliquerait ainsi les zones de foyers stables (endémiques) du virus (Randolph et al. 1999). Il existerait également une très faible transmission trans-ovarienne (Danielova et al. 2002).

Figure 1. Répartition mondiale des infections à virus TBE (Dobler et al. 2012)



En France, la zone de répartition du virus TBE semble s'étendre puisqu'elle a été signalée en Savoie. Depuis 2012, la déclaration des cas humains est obligatoire en France et dans de nombreux pays Européens. En Alsace, contrairement aux pays européens frontaliers tels que l'Allemagne, la Suisse et l'Italie, peu d'études épidémiologiques sur la prévalence du virus TBE chez les tiques et les rongeurs ont été réalisées (les dernières datant des années 70). Toutefois les données cliniques chez l'Homme mettent en évidence différents « foyers » d'infection. Une enquête épidémiologique réalisée par le CHU de Strasbourg a ainsi permis d'identifier trois foyers humains: un dans le canton de Guebwiller, un dans le canton de Munster (avec 18 et 5 cas humains répertoriés respectivement) et un en forêt de Neuhof, près de Strasbourg (avec 13 cas).

Dans ce contexte, j'ai initié un travail sur la situation épidémiologique du virus TBE en Alsace dans ces trois foyers en collaboration avec mes collègues de l'Unité de Pathologie des Animaux Sauvages – ANSES Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy (Franck Boué et Gérald Umhang) et le Professeur Hansmann du CHU de Strasbourg. Nous avons contacté 3 patients ayant contracté le virus en 2009 pour qu'ils nous indiquent la zone géographique où ils pensaient avoir été piqués. Nos objectifs ont été (1) de déterminer l'évolution des densités de tiques en fonction des saisons et des années, (2) d'évaluer la prévalence du virus TBE dans ces populations de tiques et (3) dans les populations de rongeurs. Dans ces trois foyers, nous avons collectés des tiques une fois par mois

d'Avril à Octobre de 2010 à 2011. Nous avons estimé les densités de tiques et avons détecté le virus dans plusieurs lots de tiques récoltés à Murbach. Nous avons ensuite focalisé notre étude épidémiologique sur cette zone géographique en collectant les tiques une fois par mois d'Avril à Octobre de 2012 à 2014, puis 2 fois par an de 2015 à 2016. Nous avons également collecté les rongeurs (et les tiques présentes sur ces rongeurs) dans ces mêmes zones entre 2012 et 2016. Grâce à cette étude nous avons pu localiser précisément un foyer de virus TBE stable en Alsace que nous avons suivi durant 6 années. J'ai encadré une étudiante de M2 (Nathalie Gomez) pour mettre en place au laboratoire une technique de PCR temps réel pour détecter le virus TBE. Nous avons estimés que les prévalences en Alsace varient de 0,6% à 2,1% pour les tiques adultes et de 0,02% à 0,36% pour les nymphes. Ces valeurs sont proches de ce qui est publié pour d'autres pays européens (Andreassen et al. 2012; Bingsohn et al. 2013; Carpi et al. 2009; Lommano et al. 2012).

Valorisation :

- Moutailler et al. Chapitre 8. 2015. Principales maladies transmises par les tiques: Epidémiologie, clinique et diagnostic. In Tiques et maladies à tiques. Biologie, écologie évolutive, épidémiologie. Editrices Nathalie Boulanger and Karen McCoy. Editions IRD.
- Bournez L., Umhang G., Devillers E., Demerson J-M., Caillot C., Schaeffer J., Hansmann Y., Boué F., Moutailler S. First Detection of Tick-Borne Encephalitis virus in Ixodes ricinus collected in France since the 70s. An Epidemiological survey between 2010 and 2016. In prep.
- Un autre article sera également valorisé par mes collègues de Nancy les données sur les rongeurs.

b. Screening à haut débit des agents pathogènes vectorisés par les arthropodes

L'incidence des maladies transmises par les tiques est globalement en augmentation dans le monde et ces maladies sont classées sur la liste rouge des maladies présentant un risque élevé d'émergence en lien avec les changements environnementaux (Githeko et al. 2000; Jore et al. 2014; Lindgren et al. 2012; Vayssier-Taussat et al. 2015). Il est donc nécessaire de développer des outils de détection à haut débit pour la surveillance de ces agents pathogènes. Nous avons développé deux approches complémentaires pour screener, avec ou sans a priori, ces agents pathogènes dans les vecteurs et/ou leurs hôtes : (1) une détection sans a priori basé sur l'utilisation du séquençage haut débit de l'ARN des échantillons ; (2) une détection avec a priori basé sur des PCR microfluidiques en temps réel.

i. Détection sans a priori des agents pathogènes vectorisés par les tiques: l'utilisation du séquençage haut débit (Next Generation Sequencing, RNA seq) (Bactéries, Parasites, Virus)

Les agents pathogènes transmis par les tiques sont encore peu étudiés et souvent difficilement détectés et diagnostiqués. On estime que près de 50% des fièvres apparaissant après une piqure de tiques ont une origine étiologique inconnue (Baumann et al. 2003). Dans ce contexte, nous avons initié un premier projet, en collaboration avec l'équipe du Professeur Marc Eloit de l'Institut Pasteur de Paris, afin d'avoir une image la plus complète possible des bactéries, parasites et virus présents dans des tiques *I. ricinus* collectées en France (Alsace) en utilisant le séquençage à haut débit de l'ARN, puis de caractériser ces agents pathogènes quand cela était possible.

Dans cette première étude nous avons utilisé 1450 nymphes d'*I. ricinus* collectées en Alsace, dont l'ARN a été extrait. Les ARNs ont été poolés pour être analysés par séquençage haut débit type RNaseq Illumina. Une fois les données brutes obtenues (Reads), un nettoyage de ces données a été effectué afin d'éliminer : les adaptateurs et amorces utilisés pour le séquençage, les reads de basse qualité, les reads avec une extrémité 3' de basse qualité, le génome de l'hôte. Malheureusement à cette époque le génome de la tique *I. ricinus* n'était pas disponible. Nous avons donc séquencé de la même manière un lot de nymphe *I. ricinus* issus de notre élevage de tiques « pathogen-free », puis les reads obtenus de cette expérimentation ont été soustraits aux reads obtenus pour nos tiques du terrain. Après ce nettoyage des données, les reads ont été assemblés *de novo* afin d'obtenir des contigs. Par comparaison avec les bases de données disponibles (par BLAST), ces contigs ont été assignés aux organismes taxonomiques les plus proches (bactérie, parasite ou virus). Des RT-PCR et PCR temps réels ont été réalisées sur les ADN et ARN extraits pour confirmer les résultats obtenus et évaluer la prévalence de certains agents pathogènes (confirmation des espèces détectées).

Nous avons identifié les principales espèces bactériennes pathogènes déjà connues pour être vectorisées par *I. ricinus* (*Borrelia burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. henselae*, *Anaplasma phagocytophilum*), mais également des bactéries détectées pour la première fois dans cette région (*B. miyamotoi*, *Candidatus Neohrlichia mikurensis*), ou encore des bactéries habituellement transmises par d'autres espèces de tiques (*Ehrlichia canis*, *Rickettsia canadensis*) ou d'autres arthropodes (*B. grahamii*, *R. felis*). Cependant près de 50% des séquences bactériennes identifiées semblent être de nouveaux genres bactériens (Vayssier-Taussat et al. 2013). Pour les parasites, nous avons détecté quatre espèces de *Babesia* dont 3 espèces zoonotiques (*Babesia divergens*, *B. venatorum* et *B. microti*) et une espèce infectant les bovins (*B. major*), les deux dernières espèces étant détectées pour la première fois en France. Là aussi près de 70% des séquences identifiées correspondraient à de nouvelles espèces de parasites, notamment des parasites du genre *Theileria*

(Bonnet et al. 2014). Pour les virus, la plupart des contigs ont été assignés à des familles virales connues pour se répliquer dans les arthropodes : Bunyaviridae (*Nairovirus*, *Phlebovirus*, *Orthobunyavirus*), Reoviridae (*Coltivirus*), Rhabdoviridae (*Vesiculovirus*, *Sigmavirus*), Picornaviridae-like (*Iflavirus*, *Drosophila virus A*). Une majorité de contigs a été assigné à deux potentiels nouveaux virus, un *Nairovirus* et un *Phlebovirus*, dont les prévalences ont été estimées à 0,14% et 72,16% dans les nymphes et les adultes, respectivement. Ces virus n'ont pas pu être isolés à partir de cerveaux de souriceaux inoculés par des extraits de tiques positifs, indiquant peut être que ces virus n'étaient pas capables d'infecter les vertébrés. Un grand nombre de contig ont également été assignés au virus Eyach (*Coltivirus*). Ce virus, détecté dans des tiques en France dans les années 80, et indirectement associé à des symptômes neurologiques chez l'homme (Chastel et al. 1984; Malkova et al. 1980). Nous avons estimé sa prévalence à 5,26% dans les tiques d'Alsace. Après isolement viral en cerveau de souriceau, nous avons également démontré que ce virus était capable de se multiplier et de persister dans le sang de souris immunocompétentes après inoculation intrapéritonéale. Ce virus a également été capable d'infecter le cerveaux de trois souriceaux nouveau-nés sans causer d'effets délétères observables (Moutailler, Popovici, et al. 2016).

Il est important de noter que le séquençage à haut-débit est un outil très puissant mais très demandeur en analyses bio-informatiques, nécessitant des compétences disponibles au sein mon équipe de recherche. Pour cette raison, nous collaborons avec l'équipe du Professeur Marc Eloit, de l'Institut Pasteur de Paris, et avec les équipes MalAGE de l'INRA de Jouy-en-Josas et MIA-Paris de AgroParisTech.

Depuis, de nombreux projets collaboratifs utilisant cette technique, ont vu le jour. Nous avons notamment screené des tiques de différentes espèces collectées en Roumanie dans le cadre d'un projet de thèse (Cristian Raileanu) que j'ai co-encadré avec Muriel Vayssier et Marc Eloit. Durant cette étude, des contigs appartenant à de potentiels nouveaux virus (1 *Nairovirus* et 2 *Phlebovirus*) ont également été détectés, la prévalence du *Nairovirus* a pu être estimée à 0,5% dans les tiques de Roumanie mais aucun des deux *Phlebovirus* n'a pu être détecté dans les échantillons individuels de tiques. La caractérisation de ces nouveaux virus (par essai d'isolement en cerveaux de souriceaux nouveau-nés) est en cours et donnera lieu à un article.

Je co-encadre également (avec Emmanuel Albina, CIRAD) un projet de thèse (Mathilde Gondard) portant sur la caractérisation des agents pathogènes présents dans les tiques des Caraïbes. Ce projet financé par l'ANSES et le CIRAD a pour premier objectif d'établir un inventaire complet et sans a priori des agents pathogènes transmis par les tiques de différentes espèces collectées dans les îles des Caraïbes (Guadeloupe et Martinique). Ce travail a permis de rédiger une review soumise à *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Les analyses RNA seq basées sur l'analyse d'un pool de 542 tiques (*Amblyomma variegatum* et *Rhipicephalus microplus*) ont mis en évidence les bactéries

Anaplasma, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, *Coxiella*-like, *Borrelia* et les parasites *Babesia* et *Theileria*. Nous avons identifié des microorganismes connus pour circuler dans la zone d'étude comme *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* et *Rickettsia africae*, et d'autres microorganismes jamais identifiés dans la zone doivent encore être confirmés tels que *An. phagocytophilum*, *Borrelia* spp. et *Theileria* spp. Nous avons également détecté des contigs viraux : (1) présentant 94% d'homologie avec le Lihan Tick virus (Chuvirus circulaire), (2) un potentiel nouveau *Phlebovirus*, (3) un potentiel nouveau *Chuvirus* circulaire, et (4) deux potentiels *Flavivirus*-like. La prévalence de ces virus a été estimée dans les échantillons individuels de tiques (les 554 ARN de Guadeloupe et de Martinique). Des essais d'isolement doivent maintenant être réalisés dans le laboratoire d'Emmanuel Albina en Guadeloupe. Le deuxième objectif de cette thèse est de développer une technique de surveillance épidémiologique, basé sur des PCR microfluidiques en temps réel à haut débit utilisant la technologie « BioMarkTM dynamic arrays » (voir chapitre suivant).

En conclusion, il nous paraît clair que l'utilisation du séquençage haut débit nous permet d'avoir une image complète des agents pathogènes présents dans les tiques, qu'ils soient connus, inattendus ou nouveaux pour la zone d'étude.

Valorisation

- Vayssier-Taussat M, Moutailler S, Michelet L, Devillers E, Bonnet S, Cheval J, Hébert C, Eloit M. 2013. Next generation sequencing uncovers unexpected bacterial pathogens in ticks in Western Europe. PLoS One 8(11):e81439.
- Bonnet S, Michelet L, Moutailler S, Cheval J, Hébert C, Vayssier-Taussat M, Eloit M. 2014. Identification of parasitic communities within European ticks using next generation sequencing. PLoS Negl Trop Dis 8(3):e2753.
- Moutailler S, Popovici I, Devillers E, Vayssier-Taussat M, Eloit M. 2016. Diversity of viruses in *Ixodes ricinus* and characterization of a neurotropic strain of Eyach virus. New microbes and new infections, 2016 Mar 5;11:71-81. doi: 10.1016/j.nmni.2016.02.012
- Gondard M, Cabezas-Cruz A, Aprelon R, Vayssier-Taussat M, Albina E, and Moutailler S. 2017. Ticks and tick-borne pathogens of the Caribbean. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, soumis.

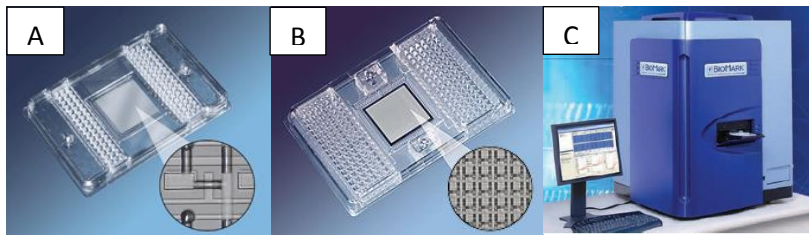
ii. Détection des agents pathogènes connus et/ou inattendus dans les tiques et les moustiques : l'utilisation des PCRs microfluidiques

Travaux sur les tiques :

L'augmentation des mouvements de population humaines (voyages) et animales (transports) ainsi que les changements climatiques et environnementaux sont responsables de l'émergence et/ou de l'extension d'un grand nombre d'agents pathogènes vectorisés par les tiques en Europe (Dantas-Torres, Chomel, and Otranto 2012). Il est donc important d'avoir des outils efficaces pour la surveillance (Diuk-Wasser et al. 2014). A l'échelle mondiale, les tiques transmettent une grande variété d'agents pathogènes (bactéries, parasites et virus) comparativement aux autres groupes d'arthropodes vecteurs (Colwell, Dantas-Torres, and Otranto 2011; Jongejan and Uilenberg 2004). On dénombre une soixantaine de bactéries, une trentaine de parasites et un peu plus d'une centaine de virus vectorisés par des tiques. Environ un tiers de ces agents pathogènes sont responsables de zoonoses. Classiquement, la recherche d'agents pathogènes est dépendante de l'espèce de tique collectée : un panel restreint est recherché par PCR ou PCR temps réel (additionné d'un séquençage classique pour confirmer l'espèce détectée) en partant des données existantes quant à la compétence vectorielle de cette espèce de tiques vis-à-vis de certains agents pathogènes présents dans la région de collecte (Cotte et al. 2010). Cependant un nombre restreints d'agent pathogène peut être recherché en raison de la quantité limitée d'ADN (et ARN) disponible pour chaque échantillon. Il est donc important de développer des outils épidémiologiques haut débit permettant de détecter pour chaque échantillon (tique individuelle ou pool de tiques), un nombre élevé d'agents pathogènes, sans utiliser trop d'ADN (ou d'ARN).

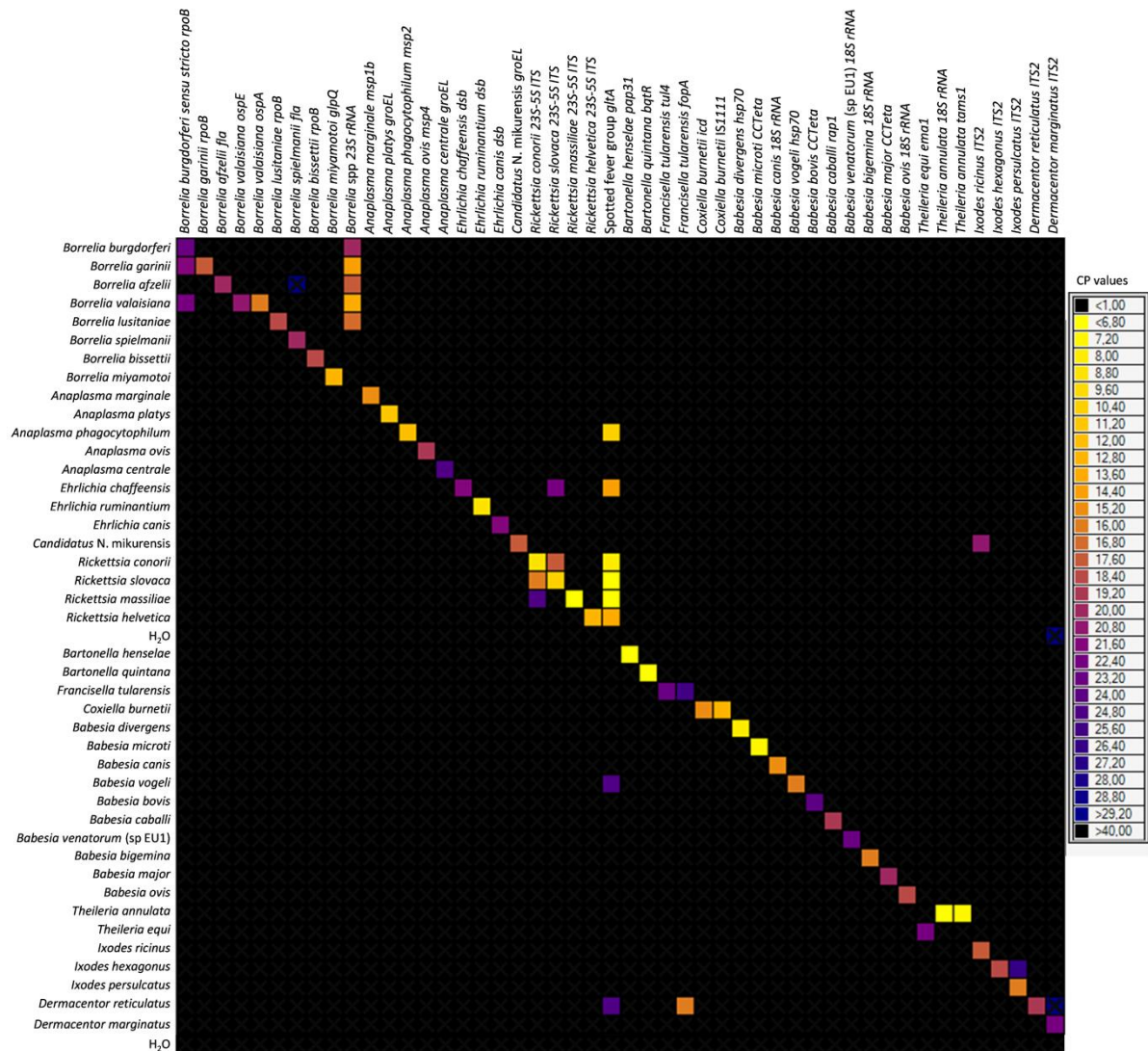
Dans ce but nous avons développé un outil utilisant la technologie BioMark™ dynamic arrays (Fluidigm Corporation) qui permet de réaliser de la PCR microfluidique temps réel à haut débit sous des volumes de l'ordre du nano-litre afin de détecter 48 (ou 96) cibles au sein de 48 (ou 96) échantillons en un temps record. L'appareil a été financé par un projet collaboratif DIM-MALINF de la région Ile de France, déposé en collaboration avec mon collègue Patrick Fach (ANSES, Lab de Sécurité des Aliments, Plateforme IdentityPath) (Figure 2).

Figure 2. Puce BioMark™ dynamic arrays (Fluidigm Corporation, San Francisco, Californie, Etats-Unis). A : 48 échantillons testés pour 48 cibles ; B : 96 échantillons testés pour 96 cibles ; C : BioMark™ Dynamic Arrays System. Source Fluidigm Corporation.



J'ai encadré un projet post-doctoral de 18 mois (Lorraine Michelet, financement ANSES obtenu en 2011) et coordonné un projet COVETLAB (Projet Européen) pour développer cette technique. Dans un premier temps nous avons ciblé 25 espèces bactériennes, 2 genres bactériens, 12 espèces parasitaires ainsi que 5 espèces de tiques pour lesquels nous avons dessiné des amorces et des sondes TaqMan spécifiques (Michelet et al. 2014). En plus d'être spécifique de chaque agent pathogène (spécificité testée in silico par Blast), les amorces et les sondes doivent suivre des critères précis concernant leur température d'hybridation, leur pourcentage en GC, la taille d'amplicon, etc... La sensibilité de chaque couple d'amorces et de sonde a été testée sur des gammes de dilution des ADN de référence de chaque agent pathogène ciblé. La spécificité des designs a été évaluée à l'aide du BioMark, en testant 48 échantillons témoins vis-à-vis de 48 designs (Figure 3). Cependant les bactéries et parasites vectorisés par les tiques sont pour la plupart très difficile à cultiver et il est donc difficile d'obtenir des ADN de références. Nous avons donc utilisé comme témoins différents types d'échantillons allant de cultures cellulaires de l'agent pathogène, à des échantillons de tiques ou de sang/organe d'animaux positifs pour l'agent pathogène d'intérêt, ou encore des plasmides contenant la séquence d'intérêt. Des designs spécifiques des espèces de tiques dont *I. ricinus* ont également été ajoutés afin de vérifier la bonne identification morphologique des échantillons collectés mais également de contrôler la bonne extraction des ADN. Des phénomènes d'inhibition de PCR pouvant également être fréquent, un contrôle *Escherichia coli* a également été ajouté à l'outil : un couple d'amorce et de sonde est présent dans le panel des 48 agents pathogènes testés et de l'ADN de cette bactérie est mélangée à tous nos échantillons et doit donc être détecté à chaque analyse pour confirmer l'absence d'inhibition durant l'expérimentation.

Figure 3. Test de spécificité des Amorces et des sondes ciblant 37 agents pathogènes (bactéries et parasites vectorisés par les tiques). Les designs sont présentés verticalement, les ADN de référence sont présentés horizontalement. Les échantillons positifs sont représentés en couleur, gamme variant en fonction de la valeur de Ct (seuil de détection), les échantillons négatifs sont représentés en noir.

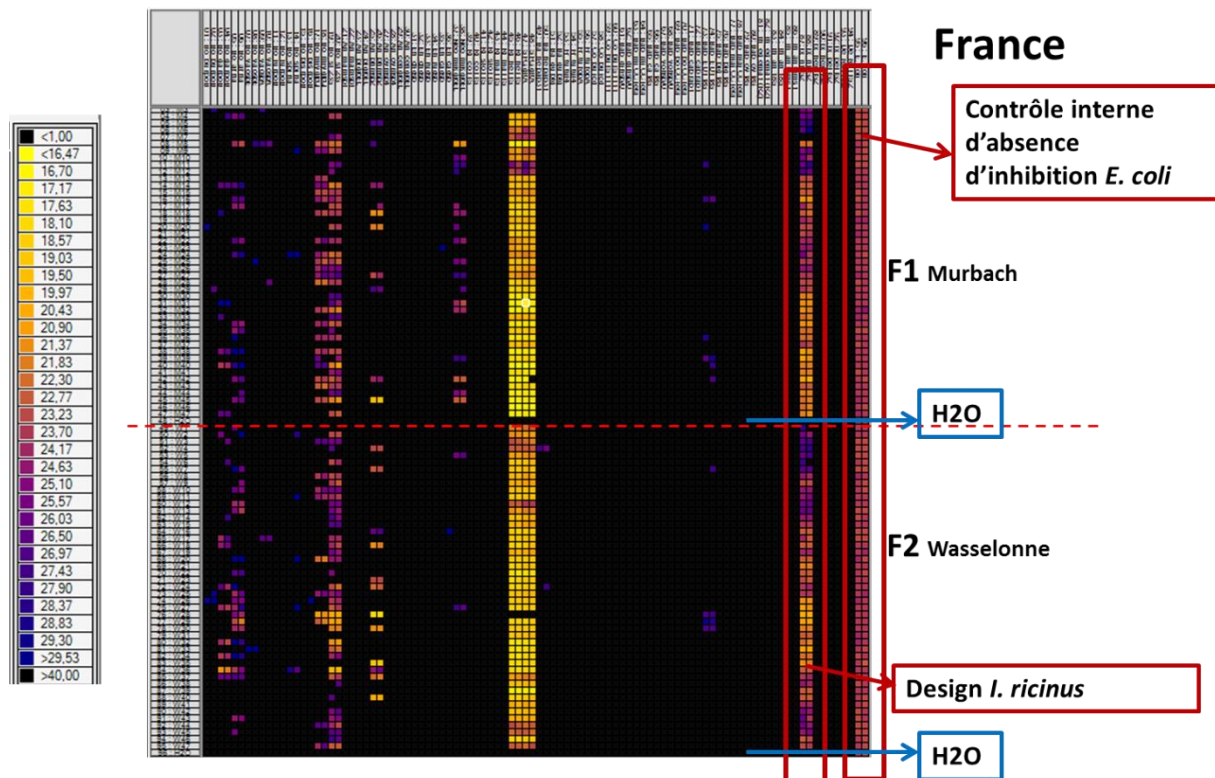


Dans le cadre du projet européen CovetLab, 7050 nymphes d'*Ixodes ricinus* collectées dans six sites en France, au Danemark et aux Pays-Bas en 2011 ont été analysées avec la nouvelle technique développée.

Les ADN de 47 pools de 25 nymphes par site ont été extraits, une étape de préamplification de ces ADN permettant d'augmenter le signal des ADN des agents pathogènes par rapport à l'ADN de la tique a été ajoutée. Après dilution au 1/10, ces ADN préamplifiés ont été analysés par le nouvel outil développé. Nous avons pu déterminer que 15 bactéries (*Borrelia lusitaniae*, *B. bissettii*, *Anaplasma marginale*, *A. platys*, *A. ovis*, *A. centrale*, *Ehrlichia ruminantium*, *E. canis*, *E. chaffeensis*, *Rickettsia*

conorii, *R. slovacica*, *R. massiliae*, *Bartonella quintana*, *Francisella tularensis* et *Coxiella burnetii*) et 10 parasites (*Babesia caballi*, *B. canis*, *B. vogeli*, *B. microti*, *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. major*, *B. ovis*, *Theileria equi* et *T. annulata*) n'étaient pas présents au sein des nymphes d'*I. ricinus* collectées dans les 6 sites Européens. Nous avons estimés avec succès la prévalence d'agents pathogènes attendus (*Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia helvetica*, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, *Babesia divergens*, *Babesia venatorum*), inattendu (*Borrelia miyamotoi*) et rare (*Bartonella henselae*) dans trois pays Européens (Figure 4). Enfin, nous avons détecté pour la première fois *B. spielmanii*, *B. miyamotoi*, *B. divergens* et *B. venatorum* au Danemark (Michelet et al. 2014).

Figure 4. Exemple de résultats obtenus avec l'outil de détection haut débit, puce 96*96. Des tiques issues de deux sites français ont été analysées : Murbach et Wasselonne. Chaque ligne représente un pool de 25 nymphes *I. ricinus* analysé en duplicat vis-à-vis de 37 agents pathogènes eux aussi en duplicat. Deux contrôles négatifs sont ajoutés par puce (l'ADN de tique est remplacé par de l'eau). Un design spécifique d'*I. ricinus* permet de confirmer l'espèce de tique collectée et la bonne extraction de l'ADN. Un design spécifique d'*Escherichia coli* additionné de l'ADN de cette bactérie permet de contrôler l'absence d'inhibiteur de PCR lors de l'expérimentation.



Cet outil innovant représente un avantage considérable pour les enquêtes épidémiologiques à large échelle. Il est important de noter que l'étape de développement des amorces et des sondes spécifiques reste la partie la plus longue à mettre en place, mais une fois effectuée, le gain de temps, et de réactifs de cette technique en font un outil très compétitif. Les amorces et sondes utilisées dans cet outil peuvent être remplacées à la demande afin de créer un outil adapté à une situation épidémiologique donnée.

Depuis ce premier travail, cet outil a servi dans de nombreux projets collaboratifs en France et à l'étranger, pour lesquels nous avons reçus des collègues (techniciens, étudiants en thèse, post-doctorants ou chercheurs) pour les former à la technique et à l'analyse de leurs échantillons. Nous avons évalué la prévalence de ces 37 agents pathogènes dans des tiques de différentes espèces en France (Collaborations : INRA de Corte, Sébastien Grech-Angelini ; IRD Montpellier, Karen McCoy), en Europe (Collaborations : Annetta Zintl, Ireland ; Tove Hoffman, Suède ; René Bodker, Danemark ; Cristian Raileanu, Roumanie ; Julian Ehlers, Allemagne ; Hein Sprong, Pays-Bas ; Anastasios Saratsis, Grèce) mais également dans d'autres arthropodes (Phlébotomes, Rémi Charrel, France ; Poux du corps et de la tête, Sally Cutler, UK) ainsi que dans du sang et/ou des organes de mammifères (Relja Beck, Croatie ; Jonas Malmsten, Suède ; JF Cosson, France). Certains de ces résultats ont été publiés, et d'autres sont en préparation. Nous avons également réalisés deux « training school » européennes sur cette technique (COST EurNegVec et Course OneHealth) (voir partie CV pour plus de détail).

Cet outil nous a également permis d'évaluer le taux de co-infection de 267 femelles *I. ricinus* collectées dans les Ardennes. Nous avons démontré que 50% des tiques étaient co-infectées par différents agents pathogènes (de 2 à 5 espèces différentes d'agent pathogène) et qu'une tique pouvait héberger jusqu'à huit micro-organismes (agents pathogènes et symbiotes). En conclusion nous avons donc démontré que les co-infections par différents agents pathogènes semblent être la règle plutôt que l'exception chez ces tiques (Moutailler, Valiente Moro, et al. 2016).

Dans le cadre d'un second projet Européen CovetLab, nous avons développé un outil similaire pour la détection de 25 virus majeurs transmis au niveau mondial par les tiques. Durant ce projet j'ai encadré un étudiant de M2 (Athinna Nisavanh). Nous avons screené 19 305 nymphes d'*I. ricinus* collectées dans 5 pays Européens, sur 13 sites en 2013. 45 pools de 33 nymphes ont été analysées par site et nous avons estimé la prévalence de quatre virus : le virus de l'Encéphalite à tiques en Suède, le virus Uukuniemi en Suède et aux Pays-Bas, le virus Eyach au Pays-Bas, un Nairovirus-like aux Pays-Bas et en France (article en préparation). Cet outil a également été utilisé lors de projets collaboratifs en France (IRD, Karen McCoy) et à l'étranger (Suède, Tove Hoffman).

Dans le cadre de la thèse de mon étudiante Mathilde Gondard, le deuxième objectif de son travail consiste à mettre au point un outil haut débit similaire pour détecter les agents pathogènes vectorisés par les tiques dans les Caraïbes. Grâce à une étude bibliographique détaillée et à une analyse par séquençage haut débit de tiques collectées en Guadeloupe et en Martinique, 50 bactéries, 22 parasites et 5 espèces de tiques ont été ciblés (4 nouveaux virus ont également été ajouté aux 25 virus déjà ciblé dans le projet précédent). Après des tests de sensibilité et de spécificité des amorces et sondes développées, l'outil va maintenant être utilisé dans une enquête épidémiologique à large échelle. En effet des tiques collectées en Guadeloupe, Martinique, Trinidad, Saint Kitts, Barbades, Sainte Lucie, Belize, Cuba, Guyana et Guyane vont être analysées prochainement. Un article de valorisation concernant le développement de la technique est en cours de préparation.

Travaux sur les moustiques :

Les arbovirus (virus transmis par les arthropodes), et en particulier ceux transmis par les moustiques sont responsables d'une importante morbidité et mortalité chez l'homme (Weaver and Reisen 2010). L'émergence de ces virus est en partie due à l'expansion géographique de leurs moustiques vecteurs, facilitée par les voyages et le commerce. Le virus Chikungunya (CHIKV) et le virus de la dengue (DENV) sont transmis par des moustiques du genre *Aedes*, et plus particulièrement par *Ae. aegypti*. Le moustique *Ae. albopictus*, qui a étendu son aire de répartition à travers les régions tropicales et tempérées a souvent été considéré comme un vecteur secondaire de ces virus (Lambrechts, Scott, and Gubler 2010). Ce moustique a été détecté pour la première fois en Europe en Albanie en 1979, puis en Italie en 1990, et il est maintenant présent dans au moins 20 pays européens. Il s'est établi dans le sud de la France en 2004 (Medlock et al. 2012). Sa compétence vectorielle en zone tempérée a été fortement débattu jusqu'aux premières épidémies européennes de CHIKV en 2007 en Italie (Rezza et al. 2007), les cas autochtones de DENV et CHIKV dans le sud de la France en 2010 (Grandadam et al. 2011; La Ruche et al. 2010), les cas DENV en 2010 en Croatie (Gjenero-Margan et al. 2011) et en 2012 dans l'île de Madère (Sousa et al. 2012). Les épidémies du virus WN en 2009 aux USA, du virus CHIK à la Réunion en 2007, du virus ZIKA en 2015, démontrent l'importance d'être capable de surveiller et de détecter précocement les émergences ou réémergences d'arbovirus transmis par les moustiques.

Dans ce but, en collaboration avec le Dr. Anna-Bella Failloux de l'Institut Pasteur de Paris, nous avons développé un projet transversal de recherche (PTR ANSES-Institut Pasteur) visant à développer un outil haut débit de détection des virus transmis par les moustiques basé lui aussi sur des PCR microfluidiques temps réel utilisant le système BioMarkTM dynamic arrays. Durant ce projet, j'ai encadré une étudiante en M2 (Léna Yousfi), qui a dessiné plus de 130 couples d'amorces et de

sondes capables de détecter différents génotypes/sérotypes de 58 virus de répartition mondiale transmis par les moustiques. L'outil a ensuite été validé sur des échantillons de moustique infecté artificiellement par un ou plusieurs virus. Nous avons ensuite utilisé cet outil dans le cadre d'un projet financé par la DGAL et le CNEV, qui visait à rechercher un panel de virus, dont le virus ZIKA dans différentes espèces de moustiques collectés en Guadeloupe et en Guyane autour de cas humain d'infection par le virus ZIKA. Nous avons détecté plusieurs pools de moustiques *Ae. aegypti* positifs pour le virus ZIKA. L'Institut Pasteur de Paris est en train d'isoler ces souches virales et de séquencer leur génome complet. Un article est en cours de préparation.

Cet outil est également utilisé dans le cadre d'un projet européen H2020 Zikalliance (Financement obtenu en 2016 en tant que partenaire), afin d'identifier les espèces vectrices du virus ZIKA dans différents pays. Pour cela des moustiques de différentes espèces ont été, ou vont être, collectés dans des zones endémiques et des zones épidémiques de circulation du virus ZIKA (Guadeloupe, Martinique, Guyane, Brésil, Gabon, etc...). Puis ces moustiques seront analysés via ce nouvel outil haut débit.

Valorisation :

- Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, van der Wal FJ, Sprong H, Boye Pihl TP, Klitgaard K, Bodker R, Fach P, Moutailler S. 2014. High-throughput screening of tick-borne pathogens in europe. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4:103. doi: 10.3389/fcimb.2014.00103.
- Moutailler S, Valiente-Moro C, Vaumourin E, Michelet L, Tran F, Devillers E, Cosson J-F, Gasqui P, Tran V-V, Mavingui P, Vourch G, Vayssier-Taussat M. 2016. Co-infection of ticks: the rule rather than the exception. *Plos Neglected Tropical Diseases*. 2016 Mar 17;10(3):e0004539. doi: 10.1371/journal.pntd.0004539.
- Michelet L, Joncour G, Devillers E, Torina A, Vayssier-Taussat M, Bonnet SI, Moutailler S. 2016. Tick species, tick-borne pathogens and symbionts in an insular environment off the coast of Western France. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 2016. Aug 29. pii: S1877-959X(16)30138-8. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.08.014.
- Raileanu C, Moutailler S, Pavel I, Porea D, Mihalca AD, Savuta G and Vayssier-Taussat M. 2017. *Borrelia* diversity and Co-infection with Other Tick Borne Pathogens in Ticks. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 7:36. doi: 10.3389/fcimb.2017.00036.
- Zintl A, Moutailler S, Stuart P, Paredis L, Dutraive J, Gonzalez E, O'Connor J, Devillers E, Good B, O'Muireagain C, De Waal T, Morris F, Gray J. 2017. Ticks and Tick-borne diseases in Ireland. *Ir Vet J*. 2017 Jan 31;70:4. doi: 10.1186/s13620-017-0084-y. Review.
- Jensen PM, Christoffersen CS, Moutailler S, Michelet L, Klitgaard K and Bødker R. 2017. Transmission differentials for multiple pathogens as inferred from their prevalence in larva, nymph and adult *Ixodes*

ricinus (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*. 71(2), 171-182. DOI 10.1007/s10493-017-0110-5.

- Dupraz M, Toty C, Devillers E, Blanchon T, Elguero E, Vittecoq M, Moutailler S, McCoy K. 2017. Population structure of the soft tick *Ornithodoros maritimus* and its associated infectious agents at the within colony scale. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 6(2):122-130. doi: 10.1016/j.ijppaw.2017.05.001.
- Gondard M, Michelet L, Nisavanh A, Devillers E, Delannoy S, Fach P, Aspan A, Chirico J, Hoffman B, van der Wal FJ, Jahfari S, Sprong H, Mansfield K, Klitgaard K, Bødker R, Moutailler S. High-throughput screening of tick-borne viruses in European ticks. 2017. Prepared for PlosNeglected and Tropical Diseases.
- Gondard M, Delannoy S, Devillers E, Aprelon R, Vayssier-Taussat M, Albina E, Moutailler S. Screening of tick-borne pathogens in Caribbean ticks using High-throughput qPCR. 2017. Prepared for Parasites and Vectors.
- Yousfi L, Santos T, Mousson L, Devillers E, Paupy C, Lourenço-de-Oliveira R, Failloux A-B, Moutailler S. 2017. Highthroughput screening of mosquito-borne viruses in Amazonian Mosquitoes in Brazil. Prepared for PLoS Neglected Tropical Diseases.

c. Conclusions et perspectives

La situation épidémiologique du virus TBE en France est différente de celle des pays limitrophes. En effet, nous n'assistons ni à une augmentation de l'aire de répartition du virus ni à une augmentation du nombre de cas humains. Environ 10 à 20 cas y sont répertoriés chaque année, contre des centaines en Suisse, en Allemagne et en Italie. Dans ce contexte, en collaboration avec mes collègues de l'ANSES de Nancy, nous continuons à surveiller les zones de foyers à virus TBE en Alsace et dans d'autres départements. Nous prévoyons utiliser les animaux sauvages comme animaux sentinelles pour quantifier le risque d'exposition au virus TBE dans de nouvelles zones géographiques (Roelandt et al. 2011; Roelandt et al. 2010). Des sérums de cervidés et de sangliers ont été récupérés dans différentes régions françaises par l'ONCFS et ces sérums vont être screenés par ELISA pour la présence d'anticorps anti-TBEV, ce qui nous permettra, peut-être, de localiser de nouvelles zones géographiques de circulation du virus TBE en France. L'étude de l'écologie de foyers français (animaux sauvages présents, conditions climatiques, végétation...) en comparaison avec celle des foyers en Allemagne, en Suisse et en Italie, nous permettra de mieux comprendre/expliciter leur particularité.

Les outils haut débit pour la détection des agents pathogènes vectorisés par les arthropodes sont utilisés en routine au sein de mes différents projets de recherche et de ceux des scientifiques de mon équipe. L'utilisation du séquençage haut débit permettant la détection sans a priori des agents pathogènes présents dans les tiques est notamment en cours d'utilisation pour caractériser le microbiome de la tique *I. ricinus* (séquençage 16S). Cet outil est également utilisé dans le cadre d'un projet ANR OhTicks visant à mettre en évidence des agents pathogènes vectorisés par les tiques chez des patients et des animaux souffrant de syndromes inexplicables après piqure de tiques. L'outil quoique très performant nécessite encore d'être optimisé afin de réduire le nombre de reads non assignés et cela en développant de nouveaux pipelines d'analyse. Ces travaux d'optimisation sont actuellement menés par des bio-informaticiens des équipes de l'Institut Pasteur de Paris et de l'INRA de Jouy-en-Josas avec lesquelles nous collaborons. Quant aux différents outils de PCR microfluidiques développés pour les agents pathogènes vectorisés par les tiques et les moustiques, ils sont très régulièrement utilisés pour screener différents échantillons d'arthropodes et de mammifères. Cet outil est très performant et continue d'être amélioré en implémentant différentes amorces et sondes ciblant d'autres agents pathogènes vectorisés. L'outil va notamment être utilisé pour screener des virus de moustique de la zone méditerranéenne (projet MATI, Réseau International des Instituts Pasteur) nécessitant le développement de nouvelles amorces et sondes ciblant des virus vectorisés par les phlébotomes et les culicoïdes de cette zone géographique. Il faut également très régulièrement ré-évaluer la spécificité/sensibilité des amorces et sondes développées pour les virus à ARN car ces virus présentent des taux de mutation importants et à long terme nos designs pourraient ne plus être capable de détecter les virus circulants s'ils présentent une séquence trop différente de celle utilisée pour dessiner ces couples d'amorces. Nous continuons également à développer de nouvelles amorces et sondes pour les nouveaux agents pathogènes vectorisés par les tiques et les moustiques régulièrement mis en évidence lors d'épizootie ou d'épidémie ou lors de séquençage haut débit d'échantillons d'arthropodes (*Borrelia bavariensis*, *B. mayonii*, virus Bourbon, virus SFTSF, virus Heartland, etc...).

En conclusion ces outils haut débit de détection sont parfaitement complémentaires et sont très souvent associés dans les différents projets de recherche, que je coordonne ou auxquels je participe, afin de mettre en évidence aussi bien les agents pathogènes connus, qu'inattendus ou nouveaux.

2. Variabilité génétique et adaptation des virus à leurs hôtes :

La majorité des arbovirus sont des virus à ARN transmis de vertébré à vertébré, par un arthropode hématophage, qui constitue le vecteur biologique. Environ 500 arbovirus ont été identifiés, les principaux appartenant aux familles des Togaviridae, Flaviviridae et Bunyaviridae. Les arbovirus sont maintenus au sein d'un cycle sylvatique faisant intervenir des arthropodes zoophiles et des animaux sauvages. Une émergence correspond à la «capture» d'un arbovirus par un vecteur anthropophile assurant la transmission à l'homme ou à des animaux domestiques. Les mécanismes menant à cette émergence sont complexes et combinent à la fois des facteurs écologiques et génétiques (Cleaveland, Haydon, and Taylor 2007). Même s'ils sont de taille réduite (10^4 pb de longueur) et ne contiennent qu'un petit nombre de gènes, les virus à ARN sont caractérisés par des taux élevés de mutations (10^4 erreurs / nucléotide / cycle de réplication) (Domingo and Holland 1997; Drake and Holland 1999; Holland et al. 1982; Steinhauer and Holland 1987). Ceci est dû à la faible capacité de réparation après lecture de l'ARN-polymérase ARN-dépendante (RdRp) (Steinhauer, Domingo, and Holland 1992). En raison de leur cycle de réplication rapide et de leur grande taille de population, les arbovirus existent sous forme de populations de variants génomiques étroitement proches, mais pas génétiquement identiques (Coffey et al. 2011; Domingo, Sheldon, and Perales 2012; Fitzpatrick et al. 2010; Luring and Andino 2010; Lin et al. 2004). Ces quasi-espèces confèrent une plasticité phénotypique importante et une grande adaptabilité à de nouveaux environnements (Domingo and Holland 1997; Eigen 1996; Pfeiffer and Kirkegaard 2005). Néanmoins, une sélection efficace semble dominer l'évolution des arbovirus entraînant une stabilité génomique (Jerzak et al. 2005). Cette stabilité pourrait résulter de l'alternance d'hôte, en effet les arbovirus sont maintenus dans la nature en se répliquant entre des hôtes très différents (vertébrés et invertébrés), ce qui entraînerait une fixation des mutations bénéfiques aux deux types d'hôtes (Ciota and Kramer 2010; Novella et al. 2011).

La transmission à l'hôte vertébré se fait par la piqûre d'un vecteur infecté. L'homme ou l'animal réceptif développe alors une virémie dont le titre peut être suffisant pour assurer l'infection d'un autre vecteur à la pique suivante. Le virus après une phase de multiplication dans le vecteur est alors transmis par piqûre à un autre vertébré. Le virus est donc maintenu dans la nature grâce à une alternance entre son hôte vertébré et son hôte invertébré et cette alternance semble expliquer les faibles taux d'évolution des arbovirus en comparaison avec les autres virus à ARN qui se répliquent dans un seul hôte. Cette stabilité génétique est supposée résulter d'un compromis de la sélection adaptative imposée par l'alternance d'hôte, ce qui contraint l'évolution du génome des arbovirus.

Malgré tout, les arbovirus gardent la capacité de générer des variants capables d'exploiter de nouveaux environnements et d'induire des émergences.

a. [Le cas du virus de la Fièvre de la Vallée du Rift et du virus Chikungunya \(Projet post-doctoral\)](#)

L'objectif de ces recherches était de comprendre comment évoluent les populations d'arbovirus en absence de la sélection imposée par les passages successifs entre un hôte vertébré et un hôte invertébré. Pour cela, nous avons mesuré les mutations accumulées au cours de passages continus sur des cellules d'un seul hôte (insecte ou mammifère). Nous avons aussi mesuré les taux de réplication dans l'hôte invertébré et le titre infectieux dans l'hôte mammifère. Nous avons étudié deux virus : le virus de la Fièvre de la Vallée du Rift (VFVR) (isolat ZH548 prélevé sur un patient en Egypte en 1977) pour lequel le passage sur l'insecte est facultatif, et le virus Chikungunya (CHIK) (CHIK06.21 prélevé sur un patient sur l'île de La Réunion en 2006) pour lequel l'alternance d'hôtes est obligatoire.

Les deux virus ont été passés en continu en cellules de mammifères BHK21 (hamster), en cellules d'arthropodes Aag2 (*Aedes aegypti*) et en alternance entre ces deux types cellulaires. Après 30 passages, la variabilité génétique des populations virales a été quantifiée et comparée à la variabilité des populations naturelles (variants isolés lors d'épidémies). Enfin leur capacité à infecter, *in vivo*, leurs hôtes vertébrés (souris) et invertébrés (moustiques) a également été évaluée.

Pour le VFVR, après 30 passages en absence d'alternance d'hôte, les populations virales ont perdu leur virulence. Une large délétion au sein du gène codant pour la protéine NSs, responsable de la virulence, a été observée dès le 10^{ème} et le 15^{ème} passage en continu en cellules d'arthropode et en cellule de mammifère respectivement. La phosphoprotéine NSs n'étant pas nécessaire à la réplication virale, les clones viraux présentant cette large délétion sont capables de se répliquer plus rapidement et deviennent rapidement majoritaires dans les populations virales. A l'opposé, les virus passés en alternance durant 30 passages ne présentent aucune mutation génétique du gène codant la protéine NSs et ont conservés leur virulence *in vivo*.

Pour le virus CHIK, après 30 passages les variants issus de passage en alternance ou en absence d'alternance se distinguent par des mutations génétiques dans le gène codant pour la glycoprotéine d'enveloppe E2. Un variant issu de passage en continu en cellule d'arthropode Aag2 (*Aedes aegypti*) présente notamment deux substitutions en position E2-64 et E2-208 qui suffisent à réduire la dissémination de ce variant dans son moustique vecteur *Ae. aegypti*. Ces changements d'acides aminés dans la glycoprotéine E2 pourraient modifier l'infectiosité du CHIK en modifiant l'interaction entre le virus et son récepteur cellulaire au niveau des cellules épithéliales du tube digestif d'*Ae. aegypti* mais pas d'*Ae. albopictus*.

La dernière épidémie de CHIKV en 2005-2007 dans la région de l'océan Indien est un bon exemple du fait qu'un seul changement d'acide aminé (d'une alanine à une valine à la position 226 de la glycoprotéine virale E1 (E1-226V)) peut être associé à une augmentation de la dissémination et de transmission de ce virus par un vecteur inhabituel *Ae. albopictus* (Tsetsarkin et al. 2007; Vazeille et al. 2007). Jusqu'à cet événement, le vecteur principal de CHIKV était le moustique urbain, *Ae. aegypti*. Cependant, lors de l'épidémie sur l'île de La Réunion, *Ae. albopictus* était le seul vecteur impliqué (Bagny et al. 2009), suggérant une adaptation spécifique de CHIKV à cette espèce de moustique. Cette adaptation semble s'être produite indépendamment au moins trois fois au cours des épidémies dans l'Océan indien, en Inde et en Afrique centrale (de Lamballerie et al. 2008; Tsetsarkin and Weaver 2011).

Valorisation :

- Moutailler S, Roche B, Thiberge JM, Caro V, Rougeon F, Failloux AB. 2011. Host alternation is necessary to maintain the genome stability of Rift Valley Fever Virus. PLoS Negl Trop Dis 5(5):e1156. doi: 10.1371/journal.pntd.0001156.

- Arias-Goeta C, Moutailler S, Mousson L, Zouache K, Thiberge J-M, Caro V, Rougeon F, Failloux A-B. 2014. Chikungunya virus adaptation to a mosquito vector correlates with only few point mutations in the viral envelope glycoprotein. Infection, Genetics and Evolution 24:116-26. doi: 10.1016/j.meegid.2014.03.015.

b. Le cas des virus transmis par les tiques (nouveau projet de recherche en développement)

L'évolution génétique des virus transmis par les moustiques en lien avec l'alternance d'hôte a été bien étudiée mais reste complexe à interpréter et peut varier selon la famille virale étudiée, le choix des modèles cellulaires utilisés et les expérimentations *in vivo*. On constate que les contraintes évolutives varient entre les cellules de mammifères et les cellules d'arthropodes et que l'évolution virale dans les deux types cellulaires n'est pas toujours limitée par l'alternance d'hôte (Greene et al. 2005; Novella et al. 1999; Vasilakis et al. 2009; Weaver et al. 1999). Cependant, les passages alternés du virus peuvent être indispensable au maintien de l'intégrité du génome viral et de sa virulence (Moutailler et al. 2011). Des études *in vivo* portant sur le virus de l'Encéphalite équine du Venezuela (EEV) (Coffey et al. 2008) et du virus WN (Deardorff et al. 2011; Grubaugh et al. 2017) ont montré que les virus passés en série dans des vertébrés ou des moustiques ont conduit à une spécialisation pour chaque hôte, alors que les virus passés en alternance ne reflétaient pas nécessairement une adaptation marquée à leurs hôtes. Sur la base de séquences consensus, un plus grand nombre de mutations ont été trouvées aussi bien dans des virus passés en continus (Greene et al. 2005;

Moutailler et al. 2011) que dans des virus passés en alternance (Novella et al. 1999; Vasilakis et al. 2009). En outre, par rapport aux virus sélectionnés à l'aide d'un système *in vitro*, des virus adaptés *in vivo* ont montré moins de changements de nucléotides dans des séquences consensus suggérant que cet environnement est moins permissif à une réparation rapide des mutations (Coffey et al. 2008). La diversité génétique n'améliore pas nécessairement l'aptitude virale chez l'hôte spécialisé (Coffey and Vignuzzi 2011; Deardorff et al. 2011). L'émergence virale commence par un processus stochastique qui implique la transmission d'une souche virale préexistante dans une nouvelle espèce hôte, suivie de l'adaptation au nouvel hôte (Elena et al. 2011). Le potentiel des arbovirus à se développer et à émerger dans des environnements naïfs et/ou à s'adapter à de nouveaux hôtes a été largement documenté pour les virus DEN (Moncayo et al. 2004; Wang et al. 2000), le virus WN (Moudy et al. 2007) et le virus EEV (Brault et al. 2004). Pour toutes ces raisons des expérimentations alliant des modèles *in vitro* et *in vivo* sont nécessaires lorsque l'on étudie la variabilité génétique et l'adaptation des virus à leurs hôtes.

Les virus transmis par les tiques, en dehors du virus TBE, ne sont que très peu étudiés au sein de leur modèle arthropode. J'initie actuellement un nouveau projet de recherche qui aura pour objectif d'évaluer la variabilité génétique et l'adaptation des virus, transmis par les tiques, à leur hôte invertébré et vertébré. Nous nous focaliserons sur des virus appartenant aux principales familles virales transmises par les tiques à savoir les virus TBEV (*Flavivirus*), Hazara (*Nairovirus*), Uukuniemi (*Phlebovirus*), Dhori virus (*Thogotovirus*), Eyach virus ou Colorado Tick Fever virus (*Coltivirus*) et Kemerovo (*Orbivirus*). Ces virus ont la particularité d'être vectorisé par la tique *Ix. ricinus* dont nous possédons une colonie « pathogen-free » maintenue au laboratoire (Bonnet et al. 2007) et pour laquelle nous sommes capables de réaliser des infections artificielles *in vivo*. Deux collaborations déjà initiées avec le Prof Rémi Charrel (Université de Aix-Marseille, Faculté de Médecine, Marseille) et le Dr. Houssam Attoui (UMR Virologie, INRA, ANSES, ENVA, Maisons-Alfort) nous permettront d'obtenir des souches de ces différents virus.

Ce nouveau projet de recherche a été initié dans le cadre du projet européen Anihwa Arbonet portant sur la caractérisation des interactions virus/vecteurs au niveau cellulaire. Nous allons comparer l'expression des gènes chez les vecteurs (tiques et moustiques) infectés et non infectés. Différentes souches virales de trois arbovirus majeurs (le virus WN, le VFVR et le virus CCHF) seront utilisées. Des résultats préliminaires pour le virus CCHF (et son virus modèle Hazara) ont d'ores et déjà donné des résultats prometteurs. A plus long terme des infections *in vivo* de différentes espèces d'arthropodes (*Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, *Cx. pipiens*, *Ae. vexans*, *Ix. ricinus*, *Hyalomma variegatum*) seront également réalisées afin de les comparer aux résultats obtenus *in vitro*.

Pour développer ce nouveau projet de recherche, un étudiant de M2 sera financé sur les fonds propres de l'équipe dès 2018, puis différents projets de thèse et/ou postdoctoraux seront déposés auprès de l'école doctorale ABIES et de la région Ile de France dans le cadre des projets DIM. Dans ces projets nous nous proposerons, dans un premier temps, de réaliser des infections artificielles de la tique *Ix. ricinus* avec les différents virus listés précédemment pour étudier les taux de répllication dans les différents organes, le nombre de particules virales transmises par la tique lors de la pique et éventuellement les gènes sur et sous exprimés durant l'infection. Il sera également intéressant de tester les capacités de co-infection de la tique par ces différents virus ou en interaction avec d'autres agents pathogènes bactériens ou parasitaires (concept pathobiome).

En parallèle, nous évaluerons la capacité de ces virus à se répliquer dans différentes lignées cellulaires de tiques et de mammifères (évaluation de la cinétique de répllication virale, du titre viral, etc...). Après avoir choisi les lignées cellulaires adéquates, nous réaliserons des infections en continu et en alternance puis nous caractériserons par séquençage haut débit les génomes des différentes populations virales. Enfin des infections *in vivo* de la tique *Ix. ricinus* et de souris seront réalisées pour évaluer l'adaptation des variants détectés à leurs hôtes arthropodes et mammifères.

3. Conclusion générale

Chaque année des épidémies et des épizooties dues à des agents pathogènes vectorisés engendrent des millions de cas chez l'homme et l'animal. Etant donné la forte capacité d'émergence et d'expansion de ces maladies, il est important de développer de nouveaux outils de surveillance épidémiologiques utilisables à grande échelle.

En tant que chercheur à l'ANSES, une de mes missions principales consiste à améliorer la surveillance des agents pathogènes vectorisés. Au cours des huit années passées à l'ANSES, j'ai développé des outils de détection haut débit innovants qui permettent de surveiller plus d'une soixantaine de bactéries, une trentaine de parasites et de virus connus, mais également d'être capable de détecter les agents pathogènes rares, inattendus ou nouveaux. J'ai encadré des étudiants de Master 2, des doctorants et un post-doc pour développer et appliquer de ces techniques. Différents stagiaires (techniciens, ingénieurs, chercheurs) étrangers sont également venus se former à ces différentes techniques dans mon équipe. J'ai eu l'opportunité d'obtenir de nombreux financements (doctorats, postdocs, projets) par des agences nationales ou internationales en tant que PI (investigateur principal) ou coordinateur. J'ai également intégré des projets Européens d'envergure pour la lutte

contre les maladies vectorisées tels que Arbonet (Anihwa) et Zikalliance (H2020). Divers projets collaboratifs déposés par des partenaires, sont également en cours d'évaluation.

En parallèle de ce projet de recherche principal, je participe à de nombreux projets collaboratifs portant sur de la surveillance épidémiologique des agents pathogènes vectorisés par les tiques utilisant des outils de biologie moléculaire plus classique tels que la PCR ou la PCR temps réels. Différents articles ont déjà été publiés dans ce domaine dont le dernier portait sur l'étude des agents pathogène vectorisés par les tiques de Belle-ile-en-Mer (Michelet et al. 2016). Je participe également à des cours de Master ainsi qu'au cours d'Entomologie médicale de l'Institut Pasteur pour mes compétences portant sur les virus transmis par les tiques et les nouvelles technologies de biologie moléculaire. Enfin, au sein de mon équipe de recherche, les projets portés par les différents scientifiques (DR2, CR1 et CR2 INRA) se réalisent en parfaite adéquation et nos compétences sont mutualisées afin de nous permettre de porter des projets innovants dans le domaine de l'écologie des agents pathogènes vectorisés par les tiques.

Tout en continuant ces projets de surveillance, je souhaite élargir mon domaine de recherche en essayant de mieux caractériser les interactions virus / arthropodes vecteurs en utilisant des modèles de virus vectorisés par la tique *Ix. ricinus*. Les virus de tiques étant très peu étudiés, en dehors du virus TBE qui nous servira de modèle. Ces travaux devraient nous permettre à moyen terme de mieux comprendre comment ces virus s'adaptent à leurs différents hôtes, et en quoi leur plasticité génétique leur permet des passages d'espèces (nouveaux hôtes ou vecteurs) à l'origine de l'émergence de nouvelles épidémies. Ma participation au projet européen Arbonet (Anihwa) permet de financer mes premiers travaux dans cette thématique. A terme, je serai en mesure de demander des allocations doctorales et post-doctorales à différentes agences (ABIES, DIM) pour poursuivre dans cette thématique.

4. Références bibliographiques

- Andreassen, A., S. Jore, P. Cuber, S. Dudman, T. Tengs, K. Isaksen, H. O. Hygen, H. Viljugrein, G. Anestad, P. Ottesen, and K. Vainio. 2012. 'Prevalence of tick borne encephalitis virus in tick nymphs in relation to climatic factors on the southern coast of Norway', *Parasit Vectors*, 5: 177.
- Bagny, L., H. Delatte, S. Quilici, and D. Fontenille. 2009. 'Progressive decrease in *Aedes aegypti* distribution in Reunion Island since the 1900s', *J Med Entomol*, 46: 1541-5.
- Baumann, D., N. Pusterla, O. Peter, F. Grimm, P. E. Fournier, G. Schar, W. Bossart, H. Lutz, and R. Weber. 2003. '[Fever after a tick bite: clinical manifestations and diagnosis of acute tick bite-associated infections in northeastern Switzerland]', *Dtsch Med Wochenschr*, 128: 1042-7.
- Bingsohn, L., A. Beckert, R. Zehner, U. Kuch, R. Oehme, P. Kraiczky, and J. Amendt. 2013. 'Prevalences of tick-borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* populations of the Rhine-Main region, Germany', *Ticks Tick Borne Dis*, 4: 207-13.
- Bonnet, S., M. Jouglin, L. Malandrin, C. Becker, A. Agoulon, M. L'Hostis, and A. Chauvin. 2007. 'Transstadial and transovarial persistence of *Babesia divergens* DNA in *Ixodes ricinus* ticks fed on infected blood in a new skin-feeding technique', *Parasitology*, 134: 197-207.
- Bonnet, S., L. Michelet, S. Moutailler, J. Cheval, C. Hebert, M. Vayssier-Taussat, and M. Eloit. 2014. 'Identification of parasitic communities within European ticks using next-generation sequencing', *PLoS Negl Trop Dis*, 8: e2753.
- Brault, A. C., A. M. Powers, D. Ortiz, J. G. Estrada-Franco, R. Navarro-Lopez, and S. C. Weaver. 2004. 'Venezuelan equine encephalitis emergence: enhanced vector infection from a single amino acid substitution in the envelope glycoprotein', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101: 11344-9.
- Carpi, G., L. Bertolotti, S. Rosati, and A. Rizzoli. 2009. 'Prevalence and genetic variability of tick-borne encephalitis virus in host-seeking *Ixodes ricinus* in northern Italy', *J Gen Virol*, 90: 2877-83.
- Charrel, R. N., H. Attoui, A. M. Butenko, J. C. Clegg, V. Deubel, T. V. Frolova, E. A. Gould, T. S. Gritsun, F. X. Heinz, M. Labuda, V. A. Lashkevich, V. Loktev, A. Lundkvist, D. V. Lvov, C. W. Mandl, M. Niedrig, A. Papa, V. S. Petrov, A. Plyusnin, S. Randolph, J. Suss, V. I. Zlobin, and X. de Lamballerie. 2004. 'Tick-borne virus diseases of human interest in Europe', *Clin Microbiol Infect*, 10: 1040-55.
- Chastel, C., A. J. Main, A. Couatarmanac'h, G. Le Lay, D. L. Knudson, M. C. Quillien, and J. C. Beaucournu. 1984. 'Isolation of Eyach virus (Reoviridae, Colorado tick fever group) from *Ixodes ricinus* and *I. ventalloi* ticks in France', *Arch Virol*, 82: 161-71.
- Ciota, A. T., and L. D. Kramer. 2010. 'Insights into arbovirus evolution and adaptation from experimental studies', *Viruses*, 2: 2594-617.
- Cleaveland, S., D. T. Haydon, and L. Taylor. 2007. 'Overviews of pathogen emergence: which pathogens emerge, when and why?', *Curr Top Microbiol Immunol*, 315: 85-111.
- Coffey, L. L., Y. Beeharry, A. V. Borderia, H. Blanc, and M. Vignuzzi. 2011. 'Arbovirus high fidelity variant loses fitness in mosquitoes and mice', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108: 16038-43.
- Coffey, L. L., N. Vasilakis, A. C. Brault, A. M. Powers, F. Tripet, and S. C. Weaver. 2008. 'Arbovirus evolution in vivo is constrained by host alternation', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105: 6970-5.
- Coffey, L. L., and M. Vignuzzi. 2011. 'Host alternation of chikungunya virus increases fitness while restricting population diversity and adaptability to novel selective pressures', *J Virol*, 85: 1025-35.
- Colwell, D. D., F. Dantas-Torres, and D. Otranto. 2011. 'Vector-borne parasitic zoonoses: emerging scenarios and new perspectives', *Vet Parasitol*, 182: 14-21.
- Cotte, V., S. Bonnet, M. Cote, and M. Vayssier-Taussat. 2010. 'Prevalence of five pathogenic agents in questing *Ixodes ricinus* ticks from western France', *Vector Borne Zoonotic Dis*, 10: 723-30.
- Danielova, V., J. Holubova, M. Pejoch, and M. Daniel. 2002. 'Potential significance of transovarial transmission in the circulation of tick-borne encephalitis virus', *Folia Parasitol (Praha)*, 49: 323-5.

- Dantas-Torres, F., B. B. Chomel, and D. Otranto. 2012. 'Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective', *Trends Parasitol*, 28: 437-46.
- Daubney, R., J.R. Hudson, and P.C. Garnham. 1931. 'Enzootic hepatitis or Rift Valley fever: an undescribed virus disease of sheep, cattle and man from East Africa.', *J. Pathol. Bacteriol.*, 34: 545-79.
- de Lamballerie, X., E. Leroy, R. N. Charrel, K. Ttsetsarkin, S. Higgs, and E. A. Gould. 2008. 'Chikungunya virus adapts to tiger mosquito via evolutionary convergence: a sign of things to come?', *Virology*, 5: 33.
- Deardorff, E. R., K. A. Fitzpatrick, G. V. Jerzak, P. Y. Shi, L. D. Kramer, and G. D. Ebel. 2011. 'West Nile virus experimental evolution in vivo and the trade-off hypothesis', *PLoS Pathog*, 7: e1002335.
- Diuk-Wasser, M. A., Y. Liu, T. K. Steeves, C. Folsom-O'Keefe, K. R. Dardick, T. Lepore, S. J. Bent, S. Usmani-Brown, S. R. Telford, 3rd, D. Fish, and P. J. Krause. 2014. 'Monitoring human babesiosis emergence through vector surveillance New England, USA', *Emerg Infect Dis*, 20: 225-31.
- Dobler, G., D. Gniel, R. Petermann, and M. Pfeffer. 2012. 'Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis', *Wien Med Wochenschr*, 162: 230-8.
- Domingo, E., and J. J. Holland. 1997. 'RNA virus mutations and fitness for survival', *Annu Rev Microbiol*, 51: 151-78.
- Domingo, E., J. Sheldon, and C. Perales. 2012. 'Viral quasispecies evolution', *Microbiol Mol Biol Rev*, 76: 159-216.
- Donoso Mantke, O., R. Schadler, and M. Niedrig. 2008. 'A survey on cases of tick-borne encephalitis in European countries', *Euro Surveill*, 13.
- Drake, J. W., and J. J. Holland. 1999. 'Mutation rates among RNA viruses', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96: 13910-3.
- Eigen, M. 1996. 'On the nature of virus quasispecies', *Trends Microbiol*, 4: 216-8.
- Elena, S. F., S. Bedhomme, P. Carrasco, J. M. Cuevas, F. de la Iglesia, G. Lafforgue, J. Lalic, A. Prosper, N. Tromas, and M. P. Zwart. 2011. 'The evolutionary genetics of emerging plant RNA viruses', *Mol Plant Microbe Interact*, 24: 287-93.
- Fitzpatrick, K. A., E. R. Deardorff, K. Pesko, D. E. Brackney, B. Zhang, E. Bedrick, P. Y. Shi, and G. D. Ebel. 2010. 'Population variation of West Nile virus confers a host-specific fitness benefit in mosquitoes', *Virology*, 404: 89-95.
- Githeko, A. K., S. W. Lindsay, U. E. Confalonieri, and J. A. Patz. 2000. 'Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis', *Bull World Health Organ*, 78: 1136-47.
- Gjenero-Margan, I., B. Aleraj, D. Krajcar, V. Lesnikar, A. Klobucar, I. Pem-Novosel, S. Kurecic-Filipovic, S. Komparak, R. Martic, S. Duricic, L. Betica-Radic, J. Okmadzic, T. Vilibic-Cavlek, A. Babic-Erceg, B. Turkovic, T. Avsic-Zupanc, I. Radic, M. Ljubic, K. Sarac, N. Benic, and G. Mlinaric-Galinovic. 2011. 'Autochthonous dengue fever in Croatia, August-September 2010', *Euro Surveill*, 16.
- Grandadam, M., V. Caro, S. Plumet, J. M. Thiberge, Y. Souares, A. B. Failloux, H. J. Tolou, M. Budelot, D. Cosserat, I. Leparco-Goffart, and P. Despres. 2011. 'Chikungunya virus, southeastern France', *Emerg Infect Dis*, 17: 910-3.
- Greene, I. P., E. Wang, E. R. Deardorff, R. Milleron, E. Domingo, and S. C. Weaver. 2005. 'Effect of alternating passage on adaptation of sindbis virus to vertebrate and invertebrate cells', *J Virol*, 79: 14253-60.
- Gritsun, T. S., V. A. Lashkevich, and E. A. Gould. 2003. 'Tick-borne encephalitis', *Antiviral Res*, 57: 129-46.
- Grubaugh, N. D., J. R. Fauver, C. Ruckert, J. Weger-Lucarelli, S. Garcia-Luna, R. A. Murrieta, A. Gendernalik, D. R. Smith, D. E. Brackney, and G. D. Ebel. 2017. 'Mosquitoes Transmit Unique West Nile Virus Populations during Each Feeding Episode', *Cell Rep*, 19: 709-18.
- Guzman, M. G., S. B. Halstead, H. Artsob, P. Buchy, J. Farrar, D. J. Gubler, E. Hunsperger, A. Kroeger, H. S. Margolis, E. Martinez, M. B. Nathan, J. L. Pelegriño, C. Simmons, S. Yoksan, and R. W. Peeling. 2010. 'Dengue: a continuing global threat', *Nat Rev Microbiol*, 8: S7-16.

- Hansmann, Y., J. Pierre Gut, V. Remy, M. Martinot, M. Allard Witz, and D. Christmann. 2006. 'Tick-borne encephalitis in eastern France', *Scand J Infect Dis*, 38: 520-6.
- Holland, J., K. Spindler, F. Horodyski, E. Grabau, S. Nichol, and S. VandePol. 1982. 'Rapid evolution of RNA genomes', *Science*, 215: 1577-85.
- Hubalek, Z. 2009. 'Epidemiology of lyme borreliosis', *Curr Probl Dermatol*, 37: 31-50.
- Hudopisk, N., M. Korva, E. Janet, M. Simetinger, M. Grgic-Vitek, J. Gubensek, V. Natek, A. Kraigher, F. Strle, and T. Avsic-Zupanc. 2013. 'Tick-borne encephalitis associated with consumption of raw goat milk, Slovenia, 2012', *Emerg Infect Dis*, 19: 806-8.
- Jerzak, G., K. A. Bernard, L. D. Kramer, and G. D. Ebel. 2005. 'Genetic variation in West Nile virus from naturally infected mosquitoes and birds suggests quasispecies structure and strong purifying selection', *J Gen Virol*, 86: 2175-83.
- Jones, K. E., N. G. Patel, M. A. Levy, A. Storeygard, D. Balk, J. L. Gittleman, and P. Daszak. 2008. 'Global trends in emerging infectious diseases', *Nature*, 451: 990-3.
- Jongejan, F., and G. Uilenberg. 2004. 'The global importance of ticks', *Parasitology*, 129 Suppl: S3-14.
- Jore, S., S. O. Vanwambeke, H. Viljugrein, K. Isaksen, A. B. Kristoffersen, Z. Woldehiwet, B. Johansen, E. Brun, H. Brun-Hansen, S. Westermann, I. L. Larsen, B. Ytrehus, and M. Hofshagen. 2014. 'Climate and environmental change drives Ixodes ricinus geographical expansion at the northern range margin', *Parasit Vectors*, 7: 11.
- La Roche, G., Y. Souares, A. Armengaud, F. Peloux-Petiot, P. Delaunay, P. Despres, A. Lenglet, F. Jourdain, I. Leparc-Goffart, F. Charlet, L. Ollier, K. Mantey, T. Mollet, J. P. Fournier, R. Torrents, K. Leitmeyer, P. Hilairret, H. Zeller, W. Van Bortel, D. Dejour-Salamanca, M. Grandadam, and M. Gastellu-Etchegorry. 2010. 'First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September 2010', *Euro Surveill*, 15: 19676.
- Lambrechts, L., T. W. Scott, and D. J. Gubler. 2010. 'Consequences of the expanding global distribution of Aedes albopictus for dengue virus transmission', *PLoS Negl Trop Dis*, 4: e646.
- Lauring, A. S., and R. Andino. 2010. 'Quasispecies theory and the behavior of RNA viruses', *PLoS Pathog*, 6: e1001005.
- Lin, S. R., S. C. Hsieh, Y. Y. Yueh, T. H. Lin, D. Y. Chao, W. J. Chen, C. C. King, and W. K. Wang. 2004. 'Study of sequence variation of dengue type 3 virus in naturally infected mosquitoes and human hosts: implications for transmission and evolution', *J Virol*, 78: 12717-21.
- Lindgren, E., Y. Andersson, J. E. Suk, B. Sudre, and J. C. Semenza. 2012. 'Public health. Monitoring EU emerging infectious disease risk due to climate change', *Science*, 336: 418-9.
- Lommano, E., C. Burri, G. Maeder, M. Guerne, V. Bastic, E. Patalas, and L. Gern. 2012. 'Prevalence and genotyping of tick-borne encephalitis virus in questing Ixodes ricinus ticks in a new endemic area in western Switzerland', *J Med Entomol*, 49: 156-64.
- Malkova, D., J. Holubova, J. M. Kolman, Z. Marhoul, F. Hanzal, H. Kulkova, K. Markvart, and L. Simkova. 1980. 'Antibodies against some arboviruses in persons with various neuropathies', *Acta Virol*, 24: 298.
- Mansfield, K. L., N. Johnson, L. P. Phipps, J. R. Stephenson, A. R. Fooks, and T. Solomon. 2009. 'Tick-borne encephalitis virus - a review of an emerging zoonosis', *J Gen Virol*, 90: 1781-94.
- Martin, E., S. Moutailler, Y. Madec, and A. B. Failloux. 2010. 'Differential responses of the mosquito Aedes albopictus from the Indian Ocean region to two chikungunya isolates', *BMC Ecol*, 10: 8.
- Medlock, J. M., K. M. Hansford, F. Schaffner, V. Versteirt, G. Hendrickx, H. Zeller, and W. Van Bortel. 2012. 'A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options', *Vector Borne Zoonotic Dis*, 12: 435-47.
- Michelet, L., S. Delannoy, E. Devillers, G. Umhang, A. Aspan, M. Juremalm, J. Chirico, F. J. van der Wal, H. Sprong, T. P. Boye Pihl, K. Klitgaard, R. Bodker, P. Fach, and S. Moutailler. 2014. 'High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe', *Front Cell Infect Microbiol*, 4: 103.
- Michelet, L., G. Joncour, E. Devillers, A. Torina, M. Vayssier-Taussat, S. I. Bonnet, and S. Moutailler. 2016. 'Tick species, tick-borne pathogens and symbionts in an insular environment off the coast of Western France', *Ticks Tick Borne Dis*, 7: 1109-15.

- Moncayo, A. C., Z. Fernandez, D. Ortiz, M. Diallo, A. Sall, S. Hartman, C. T. Davis, L. Coffey, C. C. Mathiot, R. B. Tesh, and S. C. Weaver. 2004. 'Dengue emergence and adaptation to peridomestic mosquitoes', *Emerg Infect Dis*, 10: 1790-6.
- Moudy, R. M., M. A. Meola, L. L. Morin, G. D. Ebel, and L. D. Kramer. 2007. 'A newly emergent genotype of West Nile virus is transmitted earlier and more efficiently by Culex mosquitoes', *Am J Trop Med Hyg*, 77: 365-70.
- Moutailler, S., G. Krida, Y. Madec, M. Bouloy, and A. B. Failloux. 2010. 'Replication of Clone 13, a naturally attenuated avirulent isolate of Rift Valley fever virus, in Aedes and Culex mosquitoes', *Vector Borne Zoonotic Dis*, 10: 681-8.
- Moutailler, S., I. Popovici, E. Devillers, M. Vayssier-Taussat, and M. Eloit. 2016. 'Diversity of viruses in Ixodes ricinus, and characterization of a neurotropic strain of Eyach virus', *New Microbes New Infect*, 11: 71-81.
- Moutailler, S., B. Roche, J. M. Thiberge, V. Caro, F. Rougeon, and A. B. Failloux. 2011. 'Host alternation is necessary to maintain the genome stability of rift valley fever virus', *PLoS Negl Trop Dis*, 5: e1156.
- Moutailler, S., C. Valiente Moro, E. Vaumourin, L. Michelet, F. H. Tran, E. Devillers, J. F. Cosson, P. Gasqui, V. T. Van, P. Mavingui, G. Vourc'h, and M. Vayssier-Taussat. 2016. 'Co-infection of Ticks: The Rule Rather Than the Exception', *PLoS Negl Trop Dis*, 10: e0004539.
- Novella, I. S., C. L. Hershey, C. Escarmis, E. Domingo, and J. J. Holland. 1999. 'Lack of evolutionary stasis during alternating replication of an arbovirus in insect and mammalian cells', *J Mol Biol*, 287: 459-65.
- Novella, I. S., J. B. Presloid, S. D. Smith, and C. O. Wilke. 2011. 'Specific and nonspecific host adaptation during arboviral experimental evolution', *J Mol Microbiol Biotechnol*, 21: 71-81.
- Parola, P., and D. Raoult. 2001. 'Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat', *Clin Infect Dis*, 32: 897-928.
- Pfeffer, M., and G. Dobler. 2010. 'Emergence of zoonotic arboviruses by animal trade and migration', *Parasit Vectors*, 3: 35.
- Pfeiffer, J. K., and K. Kirkegaard. 2005. 'Increased fidelity reduces poliovirus fitness and virulence under selective pressure in mice', *PLoS Pathog*, 1: e11.
- Prokopowicz, D., E. Bobrowska, M. Bobrowski, and A. Grzeszczuk. 1995. 'Prevalence of antibodies against tick-borne encephalitis among residents of north-eastern Poland', *Scand J Infect Dis*, 27: 15-6.
- Randolph, S. E. 2011. 'Transmission of tick-borne pathogens between co-feeding ticks: Milan Labuda's enduring paradigm', *Ticks Tick Borne Dis*, 2: 179-82.
- Randolph, S. E., D. Miklisova, J. Lysy, D. J. Rogers, and M. Labuda. 1999. 'Incidence from coincidence: patterns of tick infestations on rodents facilitate transmission of tick-borne encephalitis virus', *Parasitology*, 118 (Pt 2): 177-86.
- Rezza, G., L. Nicoletti, R. Angelini, R. Romi, A. C. Finarelli, M. Panning, P. Cordioli, C. Fortuna, S. Boros, F. Magurano, G. Silvi, P. Angelini, M. Dottori, M. G. Ciufolini, G. C. Majori, A. Cassone, and Chikv study group. 2007. 'Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region', *Lancet*, 370: 1840-6.
- Rizzoli, A., H. Hauffe, G. Carpi, H. G. Vourc, M. Neteler, and R. Rosa. 2011. 'Lyme borreliosis in Europe', *Euro Surveill*, 16.
- Roelandt, S., P. Heyman, M. De Filette, S. Vene, Y. Van der Stede, A. B. Caij, P. Tavernier, A. Dobby, H. De Bosschere, P. Vyt, C. Meersschaert, and S. Roels. 2011. 'Tick-borne encephalitis virus seropositive dog detected in Belgium: screening of the canine population as sentinels for public health', *Vector Borne Zoonotic Dis*, 11: 1371-6.
- Roelandt, S., P. Heyman, P. Tavernier, and S. Roels. 2010. 'Tick-borne encephalitis in Europe: Review of an emerging zoonosis', *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 79: 23-31.
- Sousa, C. A., M. Clairouin, G. Seixas, B. Viveiros, M. T. Novo, A. C. Silva, M. T. Escoval, and A. Economopoulou. 2012. 'Ongoing outbreak of dengue type 1 in the Autonomous Region of Madeira, Portugal: preliminary report', *Euro Surveill*, 17.

- Steinhauer, D. A., E. Domingo, and J. J. Holland. 1992. 'Lack of evidence for proofreading mechanisms associated with an RNA virus polymerase', *Gene*, 122: 281-8.
- Steinhauer, D. A., and J. J. Holland. 1987. 'Rapid evolution of RNA viruses', *Annu Rev Microbiol*, 41: 409-33.
- Suss, J. 2008. 'Tick-borne encephalitis in Europe and beyond--the epidemiological situation as of 2007', *Euro Surveill*, 13.
- Thorin, C., E. Rigaud, I. Capek, G. Andre-Fontaine, B. Oster, G. Gastinger, and G. Abadia. 2008. '[Seroprevalence of Lyme Borreliosis and tick-borne encephalitis in workers at risk, in eastern France]', *Med Mal Infect*, 38: 533-42.
- Toledo, A., A. S. Olmeda, R. Escudero, I. Jado, F. Valcarcel, M. A. Casado-Nistal, M. Rodriguez-Vargas, H. Gil, and P. Anda. 2009. 'Tick-borne zoonotic bacteria in ticks collected from central Spain', *Am J Trop Med Hyg*, 81: 67-74.
- Tsetsarkin, K. A., D. L. Vanlandingham, C. E. McGee, and S. Higgs. 2007. 'A single mutation in chikungunya virus affects vector specificity and epidemic potential', *PLoS Pathog*, 3: e201.
- Tsetsarkin, K. A., and S. C. Weaver. 2011. 'Sequential adaptive mutations enhance efficient vector switching by Chikungunya virus and its epidemic emergence', *PLoS Pathog*, 7: e1002412.
- Vasilakis, N., E. R. Deardorff, J. L. Kenney, S. L. Rossi, K. A. Hanley, and S. C. Weaver. 2009. 'Mosquitoes put the brake on arbovirus evolution: experimental evolution reveals slower mutation accumulation in mosquito than vertebrate cells', *PLoS Pathog*, 5: e1000467.
- Vayssier-Taussat, M., J. F. Cosson, B. Degeilh, M. Eloit, A. Fontanet, S. Moutailler, D. Raoult, E. Sellal, M. N. Ungeheuer, and P. Zylbermann. 2015. 'How a multidisciplinary 'One Health' approach can combat the tick-borne pathogen threat in Europe', *Future Microbiol*, 10: 809-18.
- Vayssier-Taussat, M., S. Moutailler, L. Michelet, E. Devillers, S. Bonnet, J. Cheval, C. Hebert, and M. Eloit. 2013. 'Next generation sequencing uncovers unexpected bacterial pathogens in ticks in western Europe', *PLoS One*, 8: e81439.
- Vazeille, M., S. Moutailler, D. Coudrier, C. Rousseaux, H. Khun, M. Huerre, J. Thiria, J. S. Dehecq, D. Fontenille, I. Schuffenecker, P. Despres, and A. B. Failloux. 2007. 'Two Chikungunya isolates from the outbreak of La Reunion (Indian Ocean) exhibit different patterns of infection in the mosquito, *Aedes albopictus*', *PLoS One*, 2: e1168.
- Wang, E., H. Ni, R. Xu, A. D. Barrett, S. J. Watowich, D. J. Gubler, and S. C. Weaver. 2000. 'Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses', *J Virol*, 74: 3227-34.
- Weaver, S. C., A. C. Brault, W. Kang, and J. J. Holland. 1999. 'Genetic and fitness changes accompanying adaptation of an arbovirus to vertebrate and invertebrate cells', *J Virol*, 73: 4316-26.
- Weaver, S. C., and W. K. Reisen. 2010. 'Present and future arboviral threats', *Antiviral Res*, 85: 328-45.
- Zilber, L. A. . 1939. 'Spring-summer tick-borne encephalitis (in Russian)', *Arkhiv Biol Nauk*, 56: 255-61.

Organigramme de l'UMR BIPAR

MAJ 01/04/2017
(draft)

UMR BIPAR ANSES, ENVA, INRA

