

FREQUENCE DE *BORRELIA BURGDORFERI* (MALADIE DE LYME)
ET REPARTITION DE SON VECTEUR *IXODES RICINUS* (ACARI : *IXODIDAE*)
DANS LE DISTRICT MOSAN EN BELGIQUE

Ph. MARTIN*, G. BIGAIGNON**, Ph. GILLION*.
A. THIRION***, A. FAIN****

*Laboratoire de Bactériologie, Clinique Saint-Luc, B-5004 Namur
**Laboratoire de Sérologie, Service de Microbiologie, Cliniques
Universitaires Saint-Luc, B-1200 Bruxelles- ***Centre de Trans-
fusion, Clinique Reine Astrid, B-5200 Huy - ****Institut des
Sciences Naturelles de Belgique, B-1040 Bruxelles.

RESUME — Un ensemble de 1208 tiques *Ixodes ricinus* a été recueilli dans le district phytogéographique mosan (Moyenne Belgique) par la technique du drapeau, en 1988 et 1989. Cet acarien y est très largement distribué et sa densité est élevée dans les biotopes forestiers. Le spirochète responsable de la Maladie de Lyme, *Borrelia burgdorferi*, transmis par ces tiques, a été retrouvé par immunofluorescence dans la cavité abdominale de 9,6 % des nymphes et de 15,2 % des adultes. L'endémie de cette zoonose semble donc établie dans cette région.

MOTS-CLES — *Borrelia burgdorferi*, *Ixodes ricinus*, Maladie de Lyme, Belgique, Epidémiologie.

Frequency of *Borrelia burgdorferi* (Lyme Disease) and spreading of its vector *Ixodes ricinus* (ACARI : *IXODIDAE*) in the district of the Meuse in Belgium

SUMMARY — A sample book of 1208 ticks *Ixodes ricinus* were captured in the phytogeographic district of the Meuse (Middle Belgium) by flagging in 1988 and 1989. This acarus is largely distributed and its density is high in the forest environment. The spirochete, which is the etiologic agent of the Lyme disease, *Borrelia burgdorferi*, and which is transmitted by these ticks, was found by immunofluorescence in the abdominal cavity of 9,6 % of the nymphs and 15,2 % of the adults. The endemy of this zoonosis seems therefore to be established in this area.

KEY-WORDS — *Borrelia burgdorferi*, *Ixodes ricinus*, Lyme disease, Belgium Epidemiology.

Reçu pour publication le 17.03.90.

INTRODUCTION — Les quelques deux cents cas de Maladie de Lyme enregistrés à ce jour en Belgique soulèvent le problème de l'impact épidémiologique local de cette zoonose, largement décrite en Europe et aux Etats-Unis (3, 9, 12, 15). Les premières observations cliniques dans notre pays suggèrent une polarisation vers le sud du risque d'infection. Une immunité acquise chez les forestiers a également été observée (8).

Nous avons orienté nos recherches dans le district phytogéographique mosan où de nombreux cas de cette maladie ont été décrits (5,17). Un premier travail (6) sur base d'un échantillonnage ponctuel, nous avait permis de mettre en évidence en 1988, l'existence en Belgique de *Borrelia burgdorferi* chez *Ixodes ricinus*, son vecteur principal (12).

Nous rassemblons ici les résultats obtenus lors des récoltes effectuées en 1988 et en 1989, dans le but d'évaluer la densité en ixodes et la prévalence du spirochète dans une région à biotopes particulièrement propices au développement du vecteur.

CADRE DE L'ETUDE — Le district phytogéographique mosan est limité au nord approximativement par l'axe sambro-mosan (qui l'isole du district brabançon) et au sud par le massif ardennais; représentant le sixième du territoire belge, il comprend le Condroz (y compris la Marlagne et l'Ardenne condrusienne (8)), la Famenne, la Calestienne et la Fagne. Cette région apparaît donc assez hétérogène; on peut néanmoins relever quelques caractéristiques importantes liées à la géologie et au climat, ainsi qu'une spécificité floristique.

1. Les assises géologiques appartiennent au Dévonien et au Carboniférien (14), où l'on rencontre des roches psammitiques, schisteuses et surtout du calcaire; du limon nivéo-éolien quaternaire recouvre localement ces assises.

2. L'altitude, comprise entre 150 et 400 mètres, détermine un nombre de jours de gelée moyen de 80 et de température supérieure à 10°C de 150, avec une température moyenne annuelle de 8,5°C.

3. L'importance du biotope forestier est nette, quoique morcellé, et composé de feuillus principalement, souvent avec taillis.

4. Hormis les grandes agglomérations (Charleroi, Namur, Liège), l'habitat y est généralement rural et les activités agro-pastorales et touristiques sont importantes.

METHODES—La recherche de tiques exophiles, à jeun, a été effectuée par la technique du drapeau, à l'aide d'une toile de 80 cm x 80 cm, traînée dans la végétation pendant une heure et examinée tous les dix mètres. Nous avons exploré 51 stations, choisies sur cartes au 1/25000° éditées par l'Institut Géographique National et retenues sur le terrain en fonction de leurs caractéristiques écologiques favorables. Nos captures se

sont étalées sur deux saisons radicalement opposées d'un point de vue climatique; la première, de mai à juillet 1988 fut particulièrement pluvieuse (30 % de précipitations au-dessus de la norme); la seconde, de mars à octobre 1989, fut beaucoup plus chaude et aride, surtout en période estivale avec des précipitations de moitié inférieures à la norme (données Institut Royal Météorologique).

Après capture, les échantillons ont été conservés en atmosphère saturée en eau et à température ambiante. La détermination taxonomique et la dissection ont été effectuées sous un grossissement de 50x; la cavité abdominale a été dilacérée et son contenu, intégralement déposé sur le puits d'une lame avec une goutte de solution saline à 9%. La présence de spirochètes a été révélée par immunofluorescence indirecte, en ajoutant 25 µl d'une solution au 1/100è d'un sérum humain riche en anti-*B. burgdorferi* (IF:1/4096), provenant de la région de Huy (17) et, après lavages successifs, adjonction de conjugué fluorescent anti-Ig totales humaines (Institut Pasteur, Paris).

REPARTITION DE *I. RICINUS* — On connaît l'affinité de *I. ricinus* pour le couvert végétal: très sensible à la déshydratation, il est inféodé aux biotopes lui garantissant une humidité relative proche de la saturation et lui fournissant un support adapté à sa stase pour l'affût (1,11).

Tableau I: Espèces sur lesquelles *I. ricinus* a été récolté.

<i>Anemone nemorosa</i> L.	anémone sylvie
<i>Digitalis purpurea</i> L.	digitale pourpre
<i>Dryopteris filix-mas</i> (L.) SCHOTT	fougère mâle
<i>Lamium galeobdolon</i> L.	lamier jaune
<i>Luzula</i> spp.	luzûles
<i>Oxalis acetosella</i> L.	surelle
<i>Mercurialis perennis</i> L.	mercuriale vivace
<i>Convallaria maialis</i> L.	muguet
<i>Deschampsia flexuosa</i> (L.) TRIN.	canche flexueuse
<i>Hyacinthoides non-scripta</i> (L.) CHOUARD	jacinthe des bois
<i>Pteridium aquilinum</i> (L.) KUHN	fougère-aigle
<i>Senecio fuchsii</i> C.G. GMEL.	séneçon de Fuchs
<i>Vaccinium myrtillus</i> L.	myrtille
<i>Carex</i> spp.	laîches
<i>Juncus</i> spp.	joncs
<i>Rubus</i> spp.	ronces
en lisière nitrophile	
<i>Alliaria petiolata</i> (BIEB.) CAV.&GRANDE	alliaire
<i>Glechoma hederacea</i> L.	lierre terrestre
<i>Rubus idaeus</i> L.	framboisier
<i>Urtica dioica</i> L.	ortie

De ce fait, le biotope forestier figure au premier plan des stations favorables à son cycle et nos captures y ont toujours été abondantes, tout particulièrement dans la végétation de l'écotone, en lisière. Les principales espèces végétales (TABLEAU I) sur lesquelles les ixodes furent capturés sont des espèces mésophiles, croissant donc sur des sols à bonne capacité en eau utile et bien aérés (humus doux, de type *mull*), souvent acidophiles ou même nitrophiles; ce sont généralement des espèces sciaphiles (éclairage relatif de 5 à 15%) (13). Les espèces xéroclines et héliophiles, comme *Calluna vulgaris* (L.) HULL, la bruyère commune, offrent un gîte peu favorable.

L'absence de *I. ricinus* en milieu découvert, même à proximité d'un bois comme les pâturages ou les champs cultivés, est significative. Divers sondages ont prouvé que la densité en acariens est inférieure en tout cas au seuil de sensibilité de la méthode du drapeau. Par contre, les coupes, fortement éclairées mais à strate herbacée dense, et les litières de feuilles mortes ou d'aiguilles, à végétation quasi nulle, mais à humidité élevée, en sont généralement pourvus.

Un autre facteur de répartition est l'écologie des micromammifères et du gibier, ses hôtes préférentiels. Leurs mouvements assurent une dispersion passive et probablement aléatoire dans l'espace vital de ces animaux, lui-même tributaire de la végétation. Le chevreuil (*Capreolus capreolus*) est présent dans l'ensemble du district mosan.

DISCUSSION — Nous avons recueilli 1208 exemplaires de *I. ricinus*; L'espèce est présente dans toutes les stations prospectées et peut être considérée comme tout à fait commune dans la région (TABLEAU II et FIGURE I). Aucun des huit autres *IXODIDAE*, mentionnés en Belgique mais généralement endophiles et beaucoup plus rares (10), n'a été capturé. Les moyennes de prélèvements par station sont relativement voisines pour les deux périodes avec une dispersion élevée des valeurs qui ne semble pas justifiée par des différences phytosociologiques. Seules les ronces (*Rubus spp.*), parfois très fréquentes dans certains bois mal gérés, provoquent des difficultés de prélèvement: plan de capture élevé, accès difficiles, secousses détachant les tiques, surtout les adultes. Il faut probablement invoquer la période de capture et les aléas de l'échantillonnage. Le sex-ratio, de 1,16, est légèrement favorable aux femelles et constant pour les deux saisons. Par contre, le rapport nymphes/adultes est de 1,48 lors de la première et de 4,28 lors de la seconde; cette variation mériterait une étude approfondie (incidence des facteurs écologiques, variations de l'endo- et de l'exophilie chez cette espèce (1,4)).

Le déficit en eau, lors de l'été 1989, s'est traduit par une chute des effectifs en août, que certains auteurs attribuent également à un ré-équilibre des stases après l'hiver (4). D'autre part, beaucoup d'individus pourraient avoir trouvé un hôte ou l'avoir quitté pour la mue.

Les larves ont été repérées à maintes reprises en juin et en juillet;

TABLEAU II: Résultats

	N/N+ (*)	♀/♀+	♂/♂+	T/T+
1988 (18 stations)	261/20 7,6%	95/12 12,6%	81/11 13,6%	437/43 9,8%
1989 (33 stations)	625/65 10,4%	78/14 17,9%	68/12 17,6%	771/91 11,8%
Total	886/85 9,6%	173/26 15,0%	149/23 15,4%	1208/134 11,1%
nombre de stations sans <i>B. burgdorferi</i> 15 (27%)				
moyenne individus/station 1988 19,86 (σ =12,14)				
1989 23,36 (σ =14,91)				

(*) N, Q, ♂, T = respectivement nombre de nymphes, d'adultes femelles et d'adultes mâles.

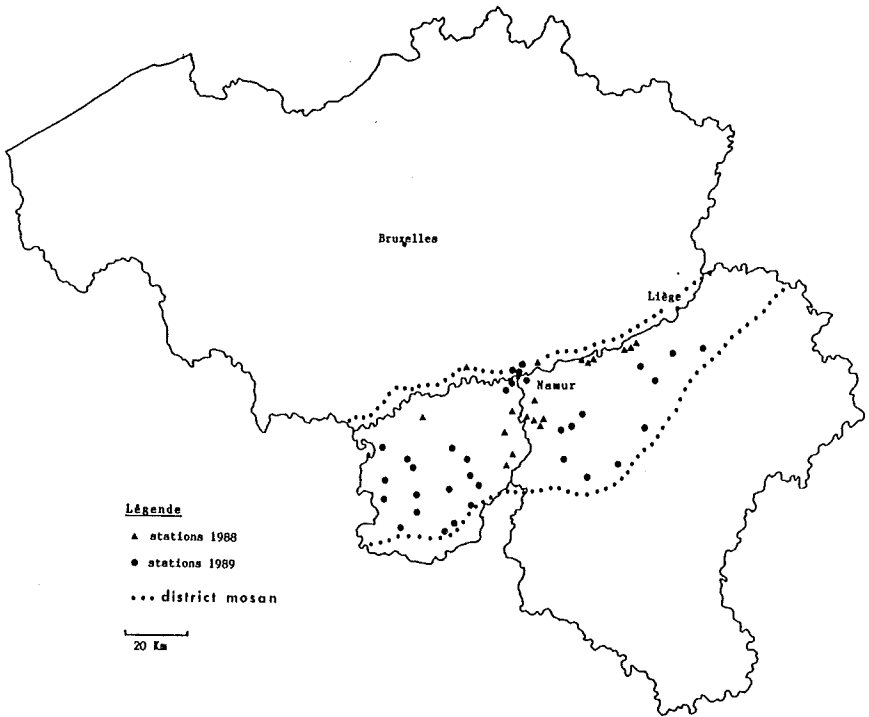
N+, Q+, ♂+, T+ = respectivement nombre de nymphes, d'adultes femelles et mâles porteurs de *B. burgdorferi*.

Elles n'ont pas été reprises dans les relevés, quoique fort nombreuses; leur valeur statistique nous semble assez faible, car leur dispersion est quasi nulle (1) et leur contamination éventuelle, par transmission transovarienne, ne dépend que d'une seule femelle par nid.

B. burgdorferi apparaît dans 71 % des stations et le pourcentage de tiques infectées dans ces stations est de 13,7 %. Les stations négatives se distinguent par un échantillonnage réduit; elles appartiennent généralement à de grands massifs boisés où le spirochète est déjà présent dans des stations proches. La proximité des sites et l'étalement des biotopes forestiers dans le district mosan nous autorisent à généraliser la présence de *B. burgdorferi* avec une moyenne globale de 11,1%. La comparaison des deux saisons indique un plus grand pourcentage de tiques infectées en 1989. La contamination des adultes (15,2%) est plus importante que celle des nymphes (9,6%).

Le nombre de spirochètes observés chez chaque individu est très variable

FIGURE I: Répartition de *I. ricinus*



et leur mobilité a été régulièrement observée lors de contrôle par examen à frais en contraste de phase. Nous avons également découvert, à cette occasion, dans le contenu abdominal d'une nymphe (Custinne, Province de Namur), un Flagellé décrit par AESCHLIMANN et coll., comme *Trypanosoma theileri*, parasite des bovins et du chevreuil (2)

Nos recherches ont également abouti à l'isolement d'une première souche belge de *B. burgdorferi* (dénommée *SL 1*) à l'aide d'une gerbille (*Meriones unguiculatus*) splénectomisée. L'ixode porteur, dont le contenu abdominal avait été injecté par voie péritonéale à l'animal, a été récolté à Braibant (Ciney, Province de Namur).

CONCLUSIONS — L'importance de *I. ricinus* dans le district mosan, écologiquement favorable, confère à la Maladie de Lyme qu'il transmet, un intérêt non négligeable. La présence de massifs boisés entourant les grandes agglomérations (Namur, Liège) et les activités professionnelles et touristiques de la région sont à l'origine de fréquents contacts

de la population avec les tiques. Le nombre de cas enregistrés est important et il convient d'y ajouter ceux qui sont exportés et déclarés en dehors.

Les tiques sont potentiellement dangereuses puisqu'on relève 11% de positivité. Ce pourcentage, en accord avec d'autres études réalisées en Europe (9), et l'appartenance du district mosan au domaine phytogéographique médio-européen justifieraient une étude précise à l'échelon européen du rôle vecteur de *I. ricinus* et des liens unissant les populations observées en Belgique et celles d'Europe centrale notamment.

REMERCIEMENTS — Nous remercions vivement Mesdames Bernadette PIRON et Myriam BODART pour leur aide efficace en immunofluorescence, ainsi que Monsieur André STALMANS pour l'apport de nombreux spécimens. Nous sommes également reconnaissants à Madame Jacqueline SAINTENOY-SIMON d'avoir bien voulu relire notre manuscrit et nous conseiller sur la partie botanique du travail.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) AESCHLIMANN A. — *Ixodes ricinus*, Linné, 1758 (*Ixodoidea; Ixodidae*)
Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse. *Acta Tropica* (Basel), 1972, 29, 321-340.
- (2) AESCHLIMANN A., BURGDORFER W., MATILE H., PETER O., WYLER R. — Aspects nouveaux du rôle de vecteur joué par *Ixodes ricinus* L. en Suisse. *Acta Tropica* (Basel), 1979, 36, 181-191.
- (3) ANDERSON J.F. — Epizootiology of *Borrelia* in *Ixodes* Tick Vectors and Reservoir Host. *Rev. Infect. Dis.* 1989, 11, Suppl.6, 1451-1459.
- (4) AUBERT M.F.A. — Contribution à l'étude du parasitisme du renard (*Vulpes vulpes* L.) par les *IXODIDAE* (*ACARINA*) dans le nord-est de la France — Interprétation de la dynamique saisonnière des parasites en relation avec la biologie de l'hôte. *Acarologia*, 1975, XVII, 452-479.
- (5) BIGAIGNON G., TOMASI J. P., GOUBAU P., MARTIN Ph., PIERARD D., SINDIC C.J.M., DUPUIS M., MARCELIS L., DEGREEF H., WILLOCK D., GRILLET B., WESTHOVENS R., ROGER F. — A clinical and sero-epidemiological study of 190 belgian patients suffering from Lyme borreliosis. *Acta Clinica Belgica*, 1989, 44, 174-181.
- (6) BIGAIGNON G., MARTIN Ph., TOMASI J.P., GONZALEZ M., LOZES E., GILLION Ph., FAIN A. — La maladie de Lyme en Belgique: présence du spirochète *Borrelia burgdorferi* dans les tiques *Ixodes ricinus* récoltées dans la région mosane. *Rev. méd. Liège*, 1989, XLIV, 489-493.

- (7) DE LANGHE J.E., DELVOSALLE L., DUVIGNEAUD J., LAMBINON J., VANDENBERGHEM C. (et coll.). — *Nouvelle Flore de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg, du Nord de la France et des régions voisines (Ptéridophytes et Spermatophytes)*. Jardin Botanique National de Belgique, 1983, Meise (Bruxelles).
- (8) DOBY J.M., COUATARMANAC'H A. — Populations humaines à risques dans les spirochètoses à tiques ? Premiers résultats d'une enquête sérologique chez des professionnels de la forêt. *Méd. et Mal. Infect.*, 1986, 12, 759-761.
- (9) DOBY J.M., IMBERT-HAMEURT C., JEANNE B., CHEVRIER S. — Infection de *Ixodes ricinus* (ACARINA, IXODIDAE) par *Borrelia burgdorferi* agent des spirochètoses à tique (Maladie de Lyme et autres formes cliniques) dans l'ouest de la France. I— Résultats globaux de l'examen de 2320 tiques. *Bull. Soc. fr. Parasit.*, 1989, 7, 111-125.
- (10) FAIN A., — Les Tiques de Belgique (*Acarina, Ixodoidea*). Documents de travail de l'Institut royal des Sciences naturelles de Belgique, 1989b (sous presse).
- (11) GILOT B., PAUTOU G., MONCADA E., AIN G. — Première contribution à l'étude écologique d'*Ixodes ricinus* (Linné,1758) (ACARINA, IXODOIDEA) dans le sud-est de la France. *Acta Tropica*, 1975, 3, 232-258.
- (12) MAGNARELLI L.A., ANDERSON J.F. — Ticks and biting insects infected with the etiologic agent of Lyme disease, *Borrelia burgdorferi* *J. Clin. Microbiol.*, 1988, 26, 1482-1486.
- (13) NOIRFALISE A. —Forêts et stations forestières en Belgique, Presses Agronomiques de Gembloux, 1984, 235 pp.
- (14) OZER A. — *Atlas de Wallonie, Commentaire de la carte 10 — Relief* Société de Développement régional pour la Wallonie, 1982, Namur
- (15) SCHMID G.P. — The global distribution of Lyme disease. *Rev.infect. Dis.*, 1985, 7, 41-50.
- (16) TANGHE M. —*Atlas de Belgique, Commentaires des planches 19A et 19B Phytogéographie*, Comité National de Géographie, 1975, Bruxelles
- (17) THIRION A., PIERARD-FRANCHIMONT C., DENIS F., BERGILEZ C., DEBART F., OLIVIER C., BIGAIGNON G., PIERARD G.E. —Borrélioses à type d'érythème centrifuge et de maladie de Pick-Herxheimer (observations en pays hutois). *Rev. méd. Liège*, 1987, 42, 959-961.