

**Proposition d'un projet de thèse**  
**financement LABEX-IBEID Projet Co-infection 2021 WP1**

**1. Titre de la thèse**

Français : Etude des co-infections chez les tiques et les mammifères.

Anglais : Co-infections in ticks and mammals

**2. Direction de thèse**

Directrice de thèse

Nom : MOUTAILLER

Prénom : Sara

Mail : [sara.moutailler@anses.fr](mailto:sara.moutailler@anses.fr)

Doctorat (année d'obtention) : 2007

HDR (année d'obtention) : 2017

Organisme ou établissement de rattachement : ANSES – Lab Santé Animale - UMR BIPAR (Anses INRAE, EnvA)

Co-encadrants

Nom : Lagrée

Prénom : Anne-Claire

Mail : [anne-claire.lagree@vet-alfort.fr](mailto:anne-claire.lagree@vet-alfort.fr)

Doctorat (année d'obtention) : 2017

Nom : Deshuillers

Prénom : Pierre

Mail : [pierre.deshuillers@vet-alfort.fr](mailto:pierre.deshuillers@vet-alfort.fr)

Doctorat (année d'obtention) : 2018

**3. Nom de l'Unité – Equipe d'accueil : UMR BIPAR, Equipe MiTick**

Adresse complète : Anses – Lab Santé Animale, UMR BIPAR, 14 Rue P. et M. Curie, 94700 Maisons-Alfort

Nom et coordonnées du responsable d'unité : Sara Moutailler, 0149774650, [sara.moutailler@anses.fr](mailto:sara.moutailler@anses.fr)

**4. Les dernières publications du (des) directeur(s) de thèse**

1. Ghania Boularias, Naouelle Azzag, Clemence Galon, Ladislav Šimo, Henri-Jean Boulouis and Sara Moutailler. High-Throughput Microfluidic Real-Time PCR for the Detection of Multiple Microorganisms in Ixodid Cattle Ticks in Northeast Algeria. *Pathogens*, 2021, 10, 362. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030362>
2. Lourdes Mateos-Hernández, Natália Pipová, Eléonore Allain, Céline Henry, Clotilde Rouxel, Anne-Claire Lagrée, Nadia Haddad, Henri-Jean Boulouis, James J Valdés, Pilar Alberdi, José de la Fuente, Alejandro Cabezas-Cruz, Ladislav Šimo. Enlisting the *Ixodes scapularis* embryonic ISE6 cell line to investigate the neuronal basis of tick-pathogen interactions. *Pathogens*, 2021, 10. doi: 10.3390/pathogens10010070.
3. Silvia-Diana Borșan, Angela Monica Ionică, Clémence Galon, Andra Toma-Naic, Cosmin Peștean, Attila D Sándor, Sara Moutailler and Andrei Daniel Mihalca. High diversity, prevalence, and (co)-infection rates of tick-borne pathogens in ticks and wildlife hosts in an urban area in Romania. *Front. Microbiol.* 2021, 12:645002. doi: 10.3389/fmicb.2021.645002
4. Camille Victoire Migné, Sara Moutailler, Houssam Attoui. Strategies for assessing arbovirus genetic variability in vectors and/or mammals. *Pathogens* 2020, 9, 915; doi:10.3390/pathogens9110915
5. Laure Bournez, Gerald Umhang, Marie Moinet, Céline Richomme, Jean-Michel Demerson, Christophe Caillot, Elodie Devillers, Jean-Marc Boucher, Yves Hansmann, Franck Boué, Sara Moutailler. Tick-borne encephalitis virus: seasonal and annual variation of epidemiological parameters related to nymph-to-larva transmission and exposure of small mammals. *Pathogens* 2020, 9, 518; doi:10.3390/pathogens9070518.
6. Consuelo Almazán, Lisa Furniol, Clotilde Rouxel, Pilar Alberdi, Christelle Gandoin, Anne-Claire Lagrée, Henri-Jean Boulouis, José de la Fuente, Sarah I Bonnet. Experimental *Ixodes ricinus*-sheep cycle of *Anaplasma phagocytophilum* NV2Os propagated in tick cell cultures. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, 7:40. doi: 10.3389/fvets.2020.00040.

7. Mathilde Gondard, Sabine Delannoy, Valerie Pinarello, Rosalie Aprelon, Elodie Devillers, Clemence Galon, Jennifer Pradel, Muriel Vayssier-Taussat, Emmanuel Albina, Sara Moutailler. Upscaling surveillance of tick-borne pathogens in the French Caribbean islands. *Pathogens* 2020, 9, 176; doi:10.3390/pathogens9030176.

8. Anne-Claire Lagrée, Clotilde Rouxel, Maëllys Kevin, Thibaud Dugat, Guillaume Girault, Benoît Durand, Martin Pfeffer, Cornelia Silaghi, Marion Nieder, Henri-Jean Boulouis, Nadia Haddad. Co-circulation of different *A. phagocytophilum* variants within cattle herds and possible reservoir role for cattle. *Parasites & Vectors*, 2018, 11:163. doi: 10.1186/s13071-018-2661-7.

9. Thibaud Dugat, Agnès Leblond, Nicolas Keck, Anne-Claire Lagrée, Isabelle Desjardins, Aurélien Joulié, Sophie Pradier, Benoit Durand, Henri-Jean Boulouis, Nadia Haddad. One particular *Anaplasma phagocytophilum* ecotype infects cattle in the Camargue, France. *Parasites & Vectors*, 2017, 10:371. doi: 10.1186/s13071-017-2305-3.

## 5. Résumé de la proposition obligatoire dans les deux langues

### Français

Les tiques sont les premiers vecteurs d'agents pathogènes en Europe et constituent un facteur de risque majeur pour la santé humaine et animale en transmettant une grande variété de microorganismes pathogènes (bactéries, parasites et virus). La plupart d'entre eux sont zoonotiques (transmissibles de l'animal à l'Homme), cependant certains n'affectent que les animaux mais avec un impact économique très important et d'autres sont découverts chaque année. En Europe, les principales maladies transmissibles par les tiques sont la borréliose de Lyme, l'anaplasmose granulocytaire et l'encéphalite à tiques, et leur vecteur est la tique *Ixodes ricinus*, qui présente une très large répartition géographique. Au sein de notre laboratoire et dans diverses études, il a été mis en évidence que les co-infections des tiques (plusieurs microorganismes présents dans l'organisme d'une même tique) pouvaient être très fréquentes. Chez l'Homme, des études portant sur des patients présentant une maladie de Lyme chronique, rapportent également des co-infections par d'autres bactéries ou d'autres parasites. Enfin, en laboratoire, il a été démontré que, chez des souris co-infectées par deux bactéries des genres *Borrelia* et *Anaplasma*, on constatait un impact sur leur réponse immunitaire et sur la pathogénicité de l'infection par ces bactéries mais également sur la transmission de ces agents pathogènes par les tiques comparativement à des infections simples. Dans notre projet, nous souhaitons étudier les co-infections par deux bactéries (*Borrelia afzelii* et *Anaplasma phagocytophilum*) et un virus (le Virus de l'encéphalite à tiques TBEV) chez les tiques *Ixodes ricinus* et chez l'animal (souris principalement). L'objectif principal de ce projet de thèse sera de mettre en place des modèles de co-infection chez les tiques et l'animal, afin d'étudier comment ces co-infections modulent la multiplication, la pathogénicité et la transmission de ces agents pathogènes comparativement à des modèles d'infection simple par ces mêmes agents pathogènes. Cette thèse s'intègre dans un projet plus large financé pour 4 ans par le Labex-Ibeid (Institut Pasteur, ANSES, EnvA).

### Anglais

Ticks are the primary vectors of pathogens in Europe and constitute a major risk to human and animal health by transmitting the greatest variety of microorganisms (bacteria, parasites and viruses). Most of the pathogens transmitted by ticks are zoonotic (transmissible from animals to humans), some affect only animals but with a very important economic impact and others are discovered every year. The main tick-borne diseases in Europe are Lyme Borreliosis, Anaplasmosis and Tick-borne Encephalitis, and their vector is the tick *Ixodes ricinus*, which has a very wide geographical distribution. In our laboratory and in various studies it has been shown that co-infections in ticks (several microorganisms present in the same tick) can be very frequent. In humans, the majority of patients with chronic Lyme disease also report co-infections with other bacteria or other parasites. Finally, in the laboratory, it has been shown that in mice co-infected with two bacteria from the genus *Borrelia* and *Anaplasma*, there was an impact on their immune response and the pathogenicity of the bacteria, but also an impact on the transmission of these pathogens by ticks compared to single infections. In our project we aim at studying co-infections by two bacteria (*Borrelia afzelii* and *Anaplasma phagocytophilum*) and a virus (Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV)) in *Ixodes ricinus* ticks and in animal (mouse). The main objective of this thesis project will be to set up co-infection models in ticks and animals, in order to study how these co-infections modulate the replication, pathogenicity and transmission of these pathogens compared to single infection models by these same pathogens. This thesis is part of a larger project funded by Labex-Ibeid (Institut Pasteur, ANSES, EnvA) for 4 years.

## 6. Champs disciplinaires de la thèse et mots-clés (français et anglais)

Co-infections, Tiques, Entomologie médicale, Microbiologie, Virologie

Co-infections, Ticks, Medical Entomology, Microbiology, Virology

## 7. Introduction et contexte permettant de cadrer le sujet

(Préciser la valeur ajoutée du sujet sur le plan scientifique et l'intérêt économique ou sociétal ainsi que sa place au regard des thèmes de recherche de l'unité).

Les tiques sont l'un des principaux vecteurs d'agents pathogènes pour l'Homme et l'animal et sont capables de transmettre un large éventail de bactéries, de parasites et de virus [1]. Parmi les 900 espèces de tiques dans le monde, *Ixodes ricinus* est l'espèce la plus répandue et la plus abondante en Europe. Cette espèce de tique est capable de s'attaquer à de nombreux hôtes vertébrés différents [2, 3] et transmet des agents pathogènes d'importance médicale et vétérinaire. Il s'agit notamment de bactéries du genre *Borrelia* qui provoquent la borréliose de Lyme et les fièvres récurrentes à tiques, du genre *Anaplasma* comme *A. phagocytophilum* responsable de l'anaplasmose granulocytaire chez l'Homme et les espèces animales domestiques, et du genre *Rickettsia* comme *R. conorii*, responsable de la fièvre boutonneuse méditerranéenne chez l'Homme, de parasites du genre *Babesia*, responsables de la piroplasmose, et de virus transmis par les tiques (TBV pour Tick-Borne Viruses) responsables d'encéphalites chez l'Homme, comme notamment le virus de l'encéphalite à tiques (TBEV), le virus Louping ill (LIV) et le virus Kemerovo [4,5,6,2], ....

Les co-infections des tiques [7-13] et la co-transmission d'agents pathogènes par celles-ci [14-23] peuvent avoir des implications potentielles importantes et sont donc très importantes pour la santé publique [24]. Chez l'Homme, des études portant sur des patients présentant une maladie de Lyme chronique rapportent également des co-infections par d'autres bactéries ou d'autres parasites [25]. La co-infection la plus fréquemment rapportée chez *I. ricinus* est celle entre *Borrelia* sp. et *A. phagocytophilum* ou *Rickettsia* sp. ainsi qu'entre différentes espèces de *Borrelia* incluses dans le groupe des bactéries responsables de la borréliose de Lyme [24-33]. Ce résultat reflète bien sûr la forte prévalence de *Borrelia* sp. dans les tiques par rapport à d'autres agents pathogènes transmis par les tiques, mais il pourrait également s'agir d'un biais résultant de la grande quantité de projets de recherche axés sur les bactéries susmentionnées. En fait, seules quelques publications sont disponibles concernant les co-infections par des bactéries et des parasites ou des bactéries et des virus ou des parasites et des virus chez les tiques [34-39]. La co-infection chez l'Homme et l'animal pourrait accroître la gravité de la maladie, comme cela a été rapporté en cas de babésiose et maladie de Lyme concomitantes [40-41], et pourrait également avoir des conséquences importantes en termes de traitement et de diagnostic des maladies transmissibles par les tiques [39]. En revanche, on sait peu de choses sur les associations synergiques ou antagonistes qui pourraient exister entre les agents pathogènes chez les tiques ou chez les animaux lors d'une co-infection, et qui doivent donc être étudiées. Enfin, en laboratoire, il a été démontré que, chez des souris co-infectées par deux bactéries (*Borrelia* et *Anaplasma*), on constatait un impact sur leur réponse immunitaire et sur la pathogénicité de l'infection par ces bactéries mais également sur la transmission de ces agents pathogènes par les tiques comparativement à des infections simples [28, 42]. De la même manière, les modalités de co-infection des tiques doivent être mieux comprises. Il y a plusieurs possibilités : (1) des stades immatures s'étant nourris sur deux animaux infectés différents, (2) l'acquisition des deux agents pathogènes pendant l'alimentation sur un seul animal co-infecté, (3) l'acquisition lors de co-alimentation (co-feeding), impliquant dans ce cas une proximité temporelle et spatiale avec une autre tique infectée lors du repas sanguin sur un animal sain...

Dans le cadre de ce projet de thèse nous souhaitons étudier les co-infections par deux bactéries (*Borrelia afzelii* et *Anaplasma phagocytophilum*) et un virus (le virus de l'encéphalite à tiques TBEV) chez les tiques *Ixodes ricinus* et chez l'animal (souris). Les objectifs principaux de ce projet de thèse seront : (1) de mettre en place des modèles de co-infections chez les tiques et l'animal, (2) afin d'étudier les modalités d'acquisition de ces co-infections et comment ces co-infections modulent la multiplication, la pathogénicité de l'infection et la transmission de ces agents pathogènes comparativement à des modèles d'infection simple par ces mêmes agents pathogènes. Cette thèse s'intègre dans un projet plus large financé par le LABEX-IBEID (Institut Pasteur, ANSES, EnvA) pour 4 ans.

Dans un premier temps le/la doctorant(e) infectera : (1) des tiques avec 2 ou 3 agents pathogènes simultanément ou de manière séquentielle afin de développer des modèles de co-infection chez les tiques ; (2) des souris avec 2 ou 3 agents pathogènes simultanément ou de manière séquentielle afin de développer des modèles de co-infection chez les souris. Par la suite, nous étudierons comment les tiques co-infectées peuvent transmettre les agents pathogènes : (1) entre tiques par le phénomène de « co-feeding » ; (2) à l'animal sain lors de leur gorgement (transmission horizontale). Pour les souris co-infectées, nous étudierons comment des tiques saines sont capables d'acquérir les différents agents pathogènes et si certains agents pathogènes infectent préférentiellement les tiques en cas de gorgement sur des souris co-infectées. Au cours du suivi de ces infections, des cinétiques de multiplication des agents

pathogènes dans les organes des tiques et des souris seront réalisées pour comprendre les phénomènes de synergie ou d'antagonisme qui pourraient exister.

## 8. Méthodologie

(Présenter et justifier le choix des méthodes utilisées)

Le/la doctorant(e) travaillera sur les tiques du genre *I. ricinus*, vecteur majeur d'agents pathogènes en Europe et les 3 principaux agents pathogènes zoonotiques transmis par cette tique en Europe : *Borrelia* (*B. afzelii*), *A. phagocytophilum* et TBEV.

Le premier objectif de la thèse sera de mettre en place les modèles de co-infection chez les tiques et les souris.

Dans un premier temps, 4 souches de souris seront testées afin d'évaluer le modèle le plus réceptif à nos différents agents pathogènes. En effet, dans la littérature, selon l'agent pathogène utilisé (un seul agent pathogène à la fois : *Borrelia afzelii*, *Anaplasma phagocytophilum* ou TBEV), plusieurs souches de souris semblent réceptives à l'infection, mais différentes voies d'inoculation et différentes doses ont été utilisées. Il faudra donc tout d'abord tester la cinétique de multiplication de ces 3 agents pathogènes, durant 14 jours, dans 4 modèles de souris : C3H/He, CD1, BalbC, C57BL/6 par 3 voies d'inoculation (IP, SC, ID) avec différentes doses d'agents pathogènes (*Borrelia* =  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  spirochètes/souris ; *Anaplasma* =  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  cellules infectées/souris ; TBEV =  $10^2$  à  $10^5$  pfu/souris). Nous espérons ainsi mettre en évidence un modèle de souris (ou deux) réceptive aux 3 agents pathogènes que nous pourrons utiliser dans les étapes suivantes. Cela nous permettra également de connaître la dose et la voie d'inoculation des agents pathogènes à utiliser chez les souris.

### Modèles de co-infections chez la souris :

Dans un deuxième temps, nous mettrons en place les modèles de co-infection par deux ou trois agents pathogènes (en utilisant le(s) meilleur(s) modèle(s) de souris, ainsi que la dose et la voie d'inoculation définis précédemment). Deux types d'infection seront réalisés : (A) inoculation simultanée des agents pathogènes (5 types de co-infection testés), durée d'expérimentation 14j ; (B) inoculation séquentielle des 2 ou 3 agents pathogènes (7 types de co-infection seront testés selon l'ordre des agents pathogènes), durée d'expérimentation maximale de 28 j avec 2 agents pathogènes ou de 42 j avec 3 agents pathogènes. Nous suivrons la cinétique de multiplication des agents pathogènes et vérifierons la co-infection de nos souris par des méthodes de biologie moléculaire (RTqPCR) et par détection *in situ* (microscopie optique ou confocale après marquage des bactéries sur coupes histologiques) des agents pathogènes dans les organes/sang des souris.

Enfin nous testerons l'efficacité de transmission des agents pathogènes des modèles de co-infections mis en place à des tiques saines *I. ricinus* de notre élevage. Nous comparerons donc le succès de transmission des modèles de co-infection avec celui des modèles d'infection simple. Pour cela, 9 types d'infection (co-infection par 2 ou 3 agents pathogènes et infection simple) seront testés. Les tiques gorgées au stade larvaire seront conservées afin de vérifier la transmission trans-stadiale, après métamorphose, de ces agents pathogènes. Là aussi nous utiliserons les deux types d'infection (simultanée *versus* séquentielle) décrites précédemment. A/ Lors de l'infection simultanée, les tiques saines (100 larves ou 30 nymphes) seront déposées dans une capsule sur le dos de l'animal à J+14 post-infection, puis les tiques gorgées seront récupérées entre J18 et J26, à J28 les souris seront mises à mort. B/ Lors de l'infection séquentielle, les tiques saines (100 larves ou 30 nymphes) seront déposées dans une capsule sur le dos de l'animal à J28 (si 2 agents pathogènes) ou J42 (si 3 agents pathogènes), puis les tiques gorgées seront récupérées entre J32-J40 ou J46-J54, et les souris mises à mort à J42 ou J56 selon le nombre d'agents pathogènes testés.

### Modèles de co-infection chez la tique :

En parallèle du développement des modèles de co-infection chez les souris, nous infecterons artificiellement là aussi de manière simultanée ou de manière séquentielle des tiques *I. ricinus* par 2 ou 3 agents pathogènes *via* un système de gorgement artificiel développé au sein de notre laboratoire. Des larves saines (~400 par gorgeur) seront mises à gorger sur un système artificiel utilisant des peaux de gerbille/lapin et du sang de mouton additionné des agents pathogènes d'intérêt : soit de manière simultanée (2 ou 3 agents pathogènes mélangés dans le sang du gorgeur), soit de manière séquentielle (1 agent pathogène lors du repas du 1<sup>er</sup> stade de vie (larve) et un 2<sup>ème</sup> agent pathogène lors du repas du 2<sup>ème</sup> stade de vie (nymphe)). Nous suivrons la cinétique de multiplication des agents pathogènes et vérifierons la co-infection des tiques par des méthodes de biologie moléculaire (RTqPCR) et par détection *in situ*

(microscopie optique ou confocale après marquage des bactéries sur coupes histologiques) des agents pathogènes dans la tique entière et dans les organes des tiques.

Enfin, nous comparerons l'efficacité de transmission des agents pathogènes par des tiques co-infectées par rapport à des tiques infectées par un seul agent pathogène à des souris saines. Puis des tiques infectées ou co-infectées seront déposées sur le dos de souris saines à J0. Les tiques se gorgeront durant un maximum de 14j, et les souris seront mises à mort à J21 au plus tard. Neuf types de tiques infectées seront testées (infection simple, co-infection par 2 ou 3 agents pathogènes). Selon le type de co-infections, des nymphes ou des adultes seront utilisées.

## 9. Résultats attendus et perspectives

(Préciser notamment l'originalité des résultats attendus par rapport à l'état de l'art détaillé au paragraphe 7)

Dans la littérature, peu de données sont disponibles sur des modèles de co-infection chez les souris et les tiques, notamment chez *I. ricinus*. En effet, les données disponibles impliquent la tique Nord-Américaine *I. scapularis*. De plus les modèles développés portent uniquement sur des bactéries et non sur des modèles bactérie/virus.

Dans ce projet le/la doctorant(e) établira des modèles de co-infections bactérie/bactérie mais aussi bactérie/virus. Ces modèles nous permettront de comprendre les effets synergiques/antagonistes qui peuvent exister entre ces agents pathogènes lors des co-infection chez les tiques et les mammifères.

Enfin, nous aurons une meilleure compréhension de l'acquisition et de la transmission des agents pathogènes lors des phénomènes de co-infection par les tiques.

De plus, ces modèles permettront sans aucun doute d'initier des collaborations nationales et internationales avec des équipes travaillant sur les tiques et les agents pathogènes vectorisés par les tiques, ce qui pourra être bénéfique au (à la) doctorant(e) pour établir son réseau.

## 10. Calendrier prévu

Année 1 : Mise en place des modèles de co-infection chez les tiques et les souris, étude de la cinétique de multiplication des agents pathogènes dans ces modèles. Rédaction d'une revue sur l'état des lieux des études portant sur les co-infections chez les tiques et les mammifères.

Année 2 : Test de transmission et d'acquisition des agents pathogènes par les tiques co-infectées et les souris co-infectées. Rédaction d'un article sur le développement des modèles de co-infection chez les souris.

Année 3 : Finalisation des essais de transmission/acquisition. Rédaction d'articles sur le développement des modèles de co-infection chez les tiques, ainsi que sur la modulation de la multiplication/ pathogénicité et de la transmission de ces agents pathogènes lors des co-infections comparativement à des modèles d'infection simple. Rédaction du manuscrit de thèse.

### Gant chart

	Année 1	Année 1	Année 2	Année 2	Année 3	Année 3
Cinétique de multiplication agents pathogènes en souris	■					
Modèles de co-infection tiques	■	■	■			
Modèles de co-infections souris	■	■	■			
Essai de transmission tique co-infectée → souris saine			■	■	■	
Essai de transmission souris co-infectée → tique saine			■	■	■	
Rédaction articles			■	■	■	■
Rédaction manuscrit de thèse						■

## 11. Collaborations nécessaires pour le sujet

Daniel Ruzek et Ryan Rego : Institute of Parasitology, Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic and Faculty of Science, University of South Bohemia (Czech Republic). Collaboration concernant TBEV et *Borrelia afzelii*.

Houssam Attoui, Sandrine Lacour, Jennifer Richardson : UMR de Virologie. Collaboration concernant les cellules de tiques, les virus de tiques et la réponse immunitaire aux infections virales.

Lesley Bell-Sakyi : Université de Liverpool (UK). Collaboration concernant les cellules de tiques.

## 12. Conditions de réalisation de la thèse (moyens financiers, techniques, humains) et opportunités de professionnalisation pour le doctorant (débouchés professionnels prévisibles).

Le(a) doctorant(e) bénéficiera du support scientifique et technique de l'équipe MiTick, qui porte le projet Labex, et notamment des scientifiques et techniciens impliqués dans le WP1 et du personnel technique en charge du tiquarium.

Le projet ne nécessitera pas d'investissements dans de nouveaux équipements car un « Tiquarium » regroupant tous les équipements nécessaires aux élevages de tiques a été financé par le DIM-OneHealth en 2020 : enceintes climatiques, gorgers artificiels, loupes binoculaires et microscope à fluorescence, PSM ... Nous utiliserons également les autres équipements disponibles sur le site de l'Anses : (1) Laboratoire Icube Zone Zoonose (culture cellulaire et gorgement artificiel de tiques *I. ricinus* avec virus TBEV), (2) Animalerie A3 Bressou (ENVA-UMR VIRO) et Animalerie A2/A3 Anses (Lab de Santé Animale), (3) Microtome (UMR BIPAR), (4) Microscope Confocal (UMR BIPAR). Le coût du projet portera essentiellement sur des dépenses de fonctionnement entièrement prises en charge par le projet LABEX-IBEID portant sur les co-infections dans le cadre du WP1 auquel ce projet de thèse sera rattaché.

Le/la doctorant(e) bénéficiera des réseaux de collaborateurs de sa directrice et de ses encadrants de thèse afin de trouver un contrat postdoctoral. Il/elle participera également à des congrès nationaux, européens et internationaux qui lui permettront de créer son propre réseau afin de trouver des opportunités de contrats postdoctoraux.

## 13. Financement

Le projet de thèse de 3 ans est entièrement financé par le projet LABEX-IBEID (Institut Pasteur, Anses, EnvA) et l'étudiant(e) sera affilié(e) à l'Ecole doctorale ABIES.

## 14. Bibliographie annexe (1 page maxi)

1. Gulia-Nuss M, Nuss AB, Meyer JM et al. Genomic insights into the *Ixodes scapularis* tick vector of Lyme disease. *Nat Comms* 2016;7: 10507
2. Rizzoli A, Silaghi C, Obiegala A et al. *Ixodes ricinus* and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe: new hazards and relevance for public health. *Front Public Health* 2014;2: 251.
3. Egyed L. Difference in susceptibility of small rodent host species to infestation by *Ixodes ricinus* larvae. *Exp Appl Acarol* 2017;72: 183–189
4. de la Fuente J, Estrada-Pena A, Venzal JM et al. Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Front Biosci* 2008;13: 6938–6946.
5. Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective [published correction appears in *Trends Parasitol.* 2013 Oct;29(10):516]. *Trends Parasitol.* 2012;28(10):437–446. doi:10.1016/j.pt.2012.07.003
6. Nuttall PA. Tick-borne viruses. In: Sonenshine, DE (ed). *Biology of Ticks*, Vol. 2 New York: Oxford University Press, 2014, 180–210.
7. Cosson JF, Michelet L, Chotte J, Le Naour E, Cote M, et al. (2014) Genetic characterization of the human relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in vectors and animal reservoirs of Lyme disease spirochetes in France. *Parasit Vectors* 7: 233. doi: 10.1186/1756-3305-7-233 PMID: 24886071
8. Halos L, Jamal T, Maillard R, Beugnet F, Le Menach A, et al. (2005) Evidence of *Bartonella* sp. in questing adult and nymphal *Ixodes ricinus* ticks from France and co-infection with *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Babesia* sp. *Vet Res* 36: 79–87. PMID: 15610725
9. Andersson M, Bartkova S, Lindestad O, Raberg L (2013) Co-infection with 'Candidatus *Neoehrlichia mikurensis*' and *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* ticks in southern Sweden. *Vector Borne Zoonotic Dis* 13: 438–442. doi: 10.1089/vbz.2012.1118 PMID: 23590321
10. Schicht S, Junge S, Schnieder T, Strube C (2011) Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and co-infection with *Borrelia burgdorferi sensu lato* in the hard tick *Ixodes ricinus* in the city of Hanover (Germany). *Vector Borne Zoonotic Dis* 11: 1595–1597. doi: 10.1089/vbz.2011.0699 PMID: 21919727
11. Steiner FE, Pinger RR, Vann CN, Grindle N, Civitello D, et al. (2008) Infection and co-infection rates of *Anaplasma phagocytophilum* variants, *Babesia* spp., *Borrelia burgdorferi*, and the rickettsial endosymbiont in *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) from sites in Indiana, Maine, Pennsylvania, and Wisconsin. *J Med Entomol* 45: 289–297. PMID: 18402145
12. Swanson KI, Norris DE (2007) Co-circulating microorganisms in questing *Ixodes scapularis* nymphs in Maryland. *J Vector Ecol* 32: 243–251. PMID: 18260514
13. Castro LR, Gabrielli S, Iori A, Cancrini G (2015) Molecular detection of *Rickettsia*, *Borrelia*, and *Babesia* species in *Ixodes ricinus* sampled in northeastern, central, and insular areas of Italy. *Exp Appl Acarol* 66: 443–452. doi: 10.1007/s10493-015-9899-y PMID: 25784072
14. Horowitz HW, Aguero-Rosenfeld ME, Holmgren D, McKenna D, Schwartz I, et al. (2013) Lyme disease and human granulocytic anaplasmosis co-infection: impact of case definition on co-infection rates and illness severity. *Clin Infect Dis* 56: 93–99. doi: 10.1093/cid/cis852 PMID: 23042964
15. Tijssse-Klasen E, Sprong H, Pandak N (2013) Co-infection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Rickettsia* species in ticks and in an erythema migrans patient. *Parasit Vectors* 6: 347. doi: 10.1186/1756-3305-6-347 PMID: 24326096
16. Mayne PJ (2015) Clinical determinants of Lyme borreliosis, babesiosis, bartonellosis, anaplasmosis, and ehrlichiosis in an Australian cohort. *Int J Gen Med* 8: 15–26. doi: 10.2147/IJGM.S75825 PMID: 25565883
17. Moniuszko A, Dunaj J, Swiecicka I, Zambrowski G, Chmielewska-Badora J, et al. (2014) Co-infections with *Borrelia* species, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in patients with tick-borne encephalitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 33: 1835–1841. doi: 10.1007/s10096-014-2134-7 PMID:

18. Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Qurollo BA, Saito TB, Maggi RG, et al. (2014) Intravascular persistence of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Ehrlichia ewingii* DNA in the blood of a dog and two family members. *Parasit Vectors* 7: 298. doi: 10.1186/1756-3305-7-298 PMID: 24984562
19. Maggi RG, Mascarelli PE, Havenga LN, Naidoo V, Breitschwerdt EB (2013) Co-infection with *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* in a veterinarian. *Parasit Vectors* 6: 103. doi: 10.1186/1756-3305-6-103 PMID: 23587235
20. Carpenter CF, Gandhi TK, Kong LK, Corey GR, Chen SM, et al. (1999) The incidence of ehrlichial and rickettsial infection in patients with unexplained fever and recent history of tick bite in central North Carolina. *J Infect Dis* 180: 900–903. PMID: 10438390
21. Knapp KL, Rice NA (2015) Human Co-infection with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* in the United States. *J Parasitol Res* 2015: 587131. doi: 10.1155/2015/587131 PMID: 26697208
22. Nieto NC, Foley JE (2009) Meta-analysis of co-infection and coexposure with *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in humans, domestic animals, wildlife, and *Ixodes ricinus*-complex ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis* 9: 93–102. doi: 10.1089/vbz.2008.0072 PMID: 18789001
23. Swanson SJ, Neitzel D, Reed KD, Belongia EA (2006) Co-infections acquired from ixodes ticks. *Clin Microbiol Rev* 19: 708–727. PMID: 17041141
24. Diuk-Wasser MA, Vannier E, Krause PJ (2016) Co-infection by *Ixodes* Tick-Borne Pathogens: Ecological, Epidemiological, and Clinical Consequences. *Trends Parasitol* 32: 30–42. doi: 10.1016/j.pt.2015.09.008 PMID: 26613664
25. Johnson L, Wilcox S, Mankoff J, Stricker RB. (2014) Severity of chronic Lyme disease compared to other chronic conditions: a quality of life survey. *PeerJ* 2014 Mar 27;2:e322. doi: 10.7717/peerj.322. eCollection 2014.
26. Moutailler S, Valiente Moro C, Vaumourin E, Michelet L, Tran FH, Devillers E, et al. Co-infection of ticks: The rule rather than the exception. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2016;10(3):e0004539. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004539
27. Raileanu C, Moutailler S, Pavel I, Porea D, Mihalca AD, Savuta G, et al. *Borrelia* diversity and co-infections with other tick-borne pathogens in ticks. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2017;7:36. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00036
28. Thomas V, Anguita J, Barthold SW, Fikrig E. Co-infection with *Borrelia burgdorferi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis alters murine immune responses, pathogen burden, and severity of Lyme arthritis. *Infection and Immunity*. 2001;69(5): 3359-3371. DOI: 10.1128/IAI.69.5.3359-3371.2001
29. Cattadori IM, Boag B, Hudson PJ. Parasite co-infection and interaction as drivers of host heterogeneity. *International Journal for Parasitology*. 2008;38(3–4):371-380. DOI: 10.1016/j.ijpara.2007.08.004
30. Levin ML, Fish D. Acquisition of co-infection and simultaneous transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* ticks. *Infection and Immunity*. 2000;68(4):2183-2186
31. Jensen PM, Christoffersen CS, Moutailler S, Michelet L, Klitgaard K, Bodker R. Transmission differentials for multiple pathogens as inferred from their prevalence in larva, nymph and adult of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Experimental & Applied Acarology*. 2017;71:171-182. DOI: 10.1007/s10493-017-0110-5
32. Gonçalves LR, Filgueira KD, Ahid SM, Pereira JS, Vale AM, Machado RZ, et al. Study on coinfecting vector-borne pathogens in dogs and ticks in Rio Grande do Norte, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2014;23:407-412. DOI: 10.1590/S1984-29612014071
33. Sytykiewicz H, Karbowiak G, Chorostowska-Wynimko J, Szpechcinski A, Supergan-Marwicz M, Horbowicz M, et al. Coexistence of *Borrelia burgdorferi* s.l. genospecies within *Ixodes ricinus* ticks from central and eastern Poland. *Acta Parasitologica*. 2015;60:654-661. DOI: 10.1515/ap-2015-0093
34. Svitalkova ZH, Harustiaková D, Mahriková L, Mojsova M, Berthova L, Slovak M, et al. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* in ticks and rodents from urban and natural habitats of SouthWestern Slovakia. *Parasites & Vectors*. 2016;9:2. DOI: 10.1186/s13071-015-1287-2
35. Xu G, Mather TN, Hollingsworth CS, Rich SM. Passive surveillance of *Ixodes scapularis* (Say), their biting activity, and associated pathogens in Massachusetts. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 2016;16:520-527. DOI: 10.1089/vbz.2015.1912
36. Zhang H, Sun Y, Jiang H, Huo X. Prevalence of severe febrile and thrombocytopenic syndrome virus, *Anaplasma* spp. and *Babesia microti* in hard ticks (Acari: Ixodidae) from Jiaodong Peninsula, Shandong Province. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 2017;17(2):134-140. DOI: 10.1089/vbz.2016.1978
37. Dedkov VG, Simonova EG, Beshlebova OV, Safonova MV, Stukolova OA, Verigina EV, et al. The burden of tick-borne diseases in the Altai region of Russia. *Ticks and Tickborne Diseases*. 2017;8:787-794. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2017.06.004
38. Zajac V, Wojcik-Fatla A, Sawczyn A, Cisak E, Sroka J, Kloc A, et al. Prevalence of infections and co-infections with 6 pathogens in *Dermacentor reticulatus* ticks collected in eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2017;24: 26-32. DOI: 10.5604/12321966.1233893
39. Moutailler S, Popovici I, Devillers E, Vayssier-Taussat M, Eloit M. Diversity of viruses in *Ixodes ricinus*, and characterization of a neurotropic strain of *Eyach* virus. *New Microbes and New Infections*. 2016;11:71-81. DOI: 10.1016/j.nmni.2016.02.012
40. Grunwaldt E, Barbour AG, Benach JL (1983) Simultaneous occurrence of babesiosis and Lyme disease. *N Engl J Med* 308: 1166.
41. Golightly LM, Hirschhorn LR, Weller PF (1989) Fever and headache in a splenectomized woman. *Rev Infect Dis* 11: 629–637. PMID: 2772469
42. Holden K, Hodzic E, Feng S, Freet KJ, Lefebvre RB, Barthold SW (2005). Co-infection with *Anaplasma phagocytophilum* alters *Borrelia burgdorferi* population distribution in C3H/HeN mice. *Infect Immun* 2005 Jun;73(6):3440-4. doi: 10.1128/IAI.73.6.3440-3444.2005.