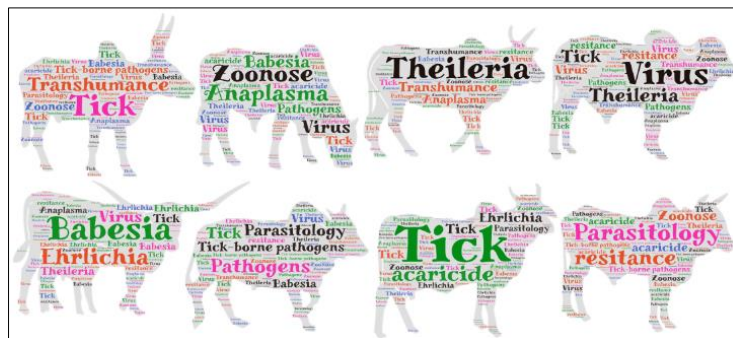


UNIVERSITE DE LIEGE
FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE
DEPARTEMENT DES MALADIES INFECTIEUSES ET PARASITAIRES
SERVICE DE PARASITOLOGIE ET PATHOLOGIE DES MALADIES PARASITAIRES

La transhumance bovine en Afrique de l'Ouest: les risques liés à la dispersion des tiques et des agents pathogènes associés et l'évaluation de leurs implications zoonotiques

Cattle transhumance in West Africa: risks associated with ticks and tick-borne pathogens dissemination and their zoonotic implications assessment



OUEDRAOGO Sougrinoma Achille

**THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE DE
Docteur en Sciences Vétérinaires**

ANNEE ACADEMIQUE 2020-2021

Dédicace

Je dédie cette thèse à la mémoire de mon cher père,

Feu **OUEDRAOGO Sibiri Prosper**.

Il a toujours été mon modèle d'homme honnête, travailleur et courageux. Aucune dédicace ne suffirait à exprimer l'admiration, le respect et la reconnaissance que j'ai toujours eu pour lui. Ce travail est l'aboutissement de tous les sacrifices qu'il a consentis pour m'assurer la meilleure éducation et la meilleure formation possible. "Donne lui Seigneur le repos éternel, et que brille sur lui la lumière de ta face".

Je rends hommage à ma mère **SANOU Chantal**

Elle a été ma "première institutrice" en guidant mes premiers pas dans l'acquisition de la connaissance. Elle m'a assuré un encadrement au cours de mon cursus primaire, et m'a donné des bases solides qui ont facilité tout le reste de mon parcours. Quelques mots ne suffiraient pas à lui traduire l'expression de ma profonde reconnaissance. Maman, merci pour l'éducation et pour l'instruction.

Remerciements

Je traduis ma profonde gratitude aux personnes suivantes pour leur contribution à la réalisation de ce travail :

-Au Docteur Laetitia LEMPEREUR, ma promotrice de thèse : votre rigueur dans le travail, votre disponibilité et votre grand désir d'excellence m'ont emmené à me surpasser, à repousser nombreuses de mes limites. J'en veux pour preuve, la note de 19/20 que j'ai obtenue à la défense de mon mémoire de Formation Doctorale. Je vous en serai infiniment reconnaissant. Aussi, voudrais-je vous traduire ma gratitude pour votre dévouement et votre promptitude à la gestion administrative de mon doctorat. En un mot, ce fût une fierté et un honneur pour moi d'être formé par vous. Recevez ma reconnaissance infinie

-Au Dr Abel BIGUEZOTON, mon co-promoteur de thèse et coordinateur Sud du projet TransTicks: votre sens élevé de l'organisation m'a été d'un grand apport dans la réalisation de cette thèse ; soyez remercié pour votre encadrement

-Au Professeur Claude SAEGERMAN, mon co-promoteur de thèse et coordinateur Nord du projet TransTicks: votre grande expérience et votre science bien établie ont contribué à orienter et encadrer cette thèse. Auprès de vous, j'ai bénéficié d'un encadrement de haute qualité. Soyez infiniment remercié

-Aux Professeurs Adrien M.G. BELEM, Souaïbou FAROUGOU, Bertrand LOSSON, membres de mon comité de thèse, et au Professeur Kouassi Patrick Yao : je vous adresse ma profonde gratitude pour votre contribution inestimable à la réalisation de cette thèse. J'ai acquis de nombreuses connaissances à vos côtés. Infiniment merci pour votre disponibilité

-Au Professeur Marinda Oosthuizen de la Faculté des sciences vétérinaires de l'Université de Pretoria, (Afrique du Sud) pour avoir accepté de me recevoir en stage au sein de ladite faculté, et pour sa contribution à la réalisation de cette thèse. Ma reconnaissance va également à l'endroit de tous les membres de cette faculté, notamment au Professeur Luis Neves, à la technicienne de laboratoire, Milana Troskie pour l'encadrement rapproché

-Au Professeur Rémi Charrel de l'unité des virus émergents, de la faculté de médecine de l'université de Marseille, France, pour avoir accepté de me recevoir en stage au sein de ladite unité, et pour sa contribution à la réalisation de l'étude sur les virus

-Au Docteur Valentine YAPI-GNAORE, Directrice Générale du Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES), pour m'avoir accepté comme stagiaire au CIRDES. Mes sincères remerciements à tout le personnel du CIRDES, à l'ensemble des stagiaires, aux techniciens de laboratoire, notamment Sébastien ZOUNGRANA et Adrien ZOUNGRANA pour l'encadrement rapproché et pour leur participation active à la réalisation de nos travaux de laboratoire

-À l'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur (ARES), qui m'a octroyé une bourse d'étude, à travers le financement du projet de Recherche-Développement TransTicks, qui est le cadre dans lequel cette thèse a été réalisée

-Aux Professeurs Gustave B. KABRE et Moussa Zongo de l'Université Ouaga I, Pr Joseph Ki Zerbo, qui m'ont assuré une formation de qualité respectivement en parasitologie et en embryologie à l'Université Joseph Ki Zerbo, et qui m'ont permis de candidater à la bourse de l'ARES à travers des lettres de recommandation. Ma profonde gratitude va également à l'endroit de l'ensemble de mes enseignants de l'Université Ouaga I, Pr Joseph Ki Zerbo, notamment aux docteurs Adama OUEDA, Awa GNEME, Magloire N'BOUNGOU qui ont guidé mes premiers pas dans le monde de la recherche. Soyez infiniment remerciés.

-À Monsieur Olivier Mahuton ZANNOU, deuxième doctorant impliqué dans le projet TransTick, pour la collaboration et pour l'amitié vécue tout au long de cette thèse

-À Françoise Maréchal, technicienne de laboratoire à la faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, Belgique, pour les soutiens multiformes et pour la sympathie vécue au cours de mes différents séjours en Belgique

-Aux éleveurs, bouviers et interprètes de l'Est du Burkina Faso et du Nord Bénin, pour avoir accepté que des prélèvements de tiques et de sang soient effectués sur leurs bovins et pour leur contribution à nos travaux d'échantillonnage

-À mon épouse Rosalie Wend Dabo ILBOUDO

-À mes enfants Sougrinoma Chantal Maëlys et Pegdwende Toussiane Grâce Divine

-À mes frères/sœurs Boudounoma Jacques, Patoignimba Carine, Kiswendsida Camille Beranadette

-À mes amis

Recevez l'expression de ma profonde reconnaissance

Abréviations

AIC	: Akaike Information Criterion
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
ARES	: Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
BPSV	: Bovine Papular Stomatitis Virus
Ca	: California
CCHFV	: Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus
CEDEAO	: Communauté Economique Des Etats de l'Afrique de l'Ouest
CIRDES	: Centre International de Recherche Développement sur l'Elevage en zone Subhumide
CO1	: Cytochrome Oxydase 1
DE	: Direction de l'Elevage
DNA	: Deoxyribonucleic acid
DRC	: Dose Response Curve
EDTA	: Ethylène Diamine Tétra-Acétique Acide
ED50	: Effective Dose
FAO	: Food and Agricultural Organization
FAOSTAT	: Food and Agricultural Organization Statistics
FTA	: Flinders Technology Associates
GLM	: Generalized Linear Models
GPS	: Global positioning System
LC ₅₀	: Lethal Concentration
LPT	: Larval Packet Test
Ma	: Massachusetts
MRAH	: Ministère des Ressources Animales et Halieutiques
NGS	: Next Generation Sequencing
ORF	: Orf Virus
PCA	: Principal Component Analysis
PCPV	: Pseudocowpox Virus
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PIB	: Produit Intérieur Brut
PNB	: Produit National Brut
PAFILAV	: Projet d'Appui aux Filières Lait et Viande

RLB	:	Reverse Line Blot
RR	:	Resistance Ratio
RVFV	:	Rift Valley Fever Virus
TBP	:	Tick-Borne Pathogen
UEMOA	:	Union Economique Monétaire Ouest Africaine
UK	:	United Kingdom
USA	:	United States of America
UVE	:	Unité des Virus Emergents
WMW	:	Wilcoxon Man and Witney

Table des matières

Dédicace	i
Remerciements	ii
Abréviations	iv
Table des matières	vi
Résumé	x
Summary	x
Préambule	xv
Introduction générale	2
1. L'élevage en Afrique de l'Ouest.....	2
1.1. Importance de l'élevage dans l'économie des pays ouest Africains.....	2
1.2. La transhumance en Afrique de l'Ouest.....	4
1.3. Impacts économiques et sanitaires des tiques sur le bétail.....	6
2. Généralités sur les <i>Ixodidae</i>	7
2.1. Systématique.....	7
2.2. Caractéristiques des <i>Ixodidae</i>	7
3. Les espèces de tiques de bétail en Afrique de l'Ouest	10
3.1. Le genre <i>Amblyomma</i>	11
3.2. Le genre <i>Hyalomma</i>	13
3.3. Le genre <i>Rhipicephalus</i>	15
3.4. Le genre <i>Haemaphysalis</i>	16
4. Les agents pathogènes transmis par les tiques en Afrique de l'ouest	17
4.1. Les infections parasitaires : <i>Babesia</i> spp et <i>Theileria</i> spp.....	17
4.2. Les infections bactériennes : <i>Anaplasma</i> spp., <i>Ehrlichia</i> spp.	23
4.3. Risques zoonotiques associés aux tiques et aux agents pathogènes transmis.....	27
5. Contrôle des populations de tiques	28
5.1. Groupes d'acaricides, modes d'action et mécanismes de résistance des tiques.....	29
5. 2. Autres méthodes de contrôle des tiques.....	31

OBJECTIFS	34
Préambule	37
Etude 1: Cattle ticks and associated tick-borne pathogens in Burkina Faso and Benin: apparent northern spread of <i>Rhipicephalus microplus</i> in Benin and first evidence of <i>Theileria velifera</i> and <i>Theileria annulata</i>	38
1. Introduction	39
2. Materials and methods.....	40
3. Results	42
4. Discussion	43
5. Conclusion.....	47
References	48
Préambule	51
Etude 2: Cross border transhumance involvement in ticks and tick-borne pathogens dissemination and first evidence of <i>Anaplasma centrale</i> in Burkina Faso	52
1. Introduction	54
2. Materials and Methods	55
3. Results	56
4. Discussion	58
5. Conclusions	62
References	62
Préambule	65
Etude 3: Detection of two species of the genus parapoxvirus (Bovine papular stomatitis virus and pseudocowpox virus) in ticks infesting cattle in Burkina Faso	66
1. Introduction	67
2. Materials and Methods	68
3. Results	71
4. Discussion	74
References	74
Préambule	78

Etude 4: Efficacy of two commercial synthetic pyrethroids (cypermethrin and deltamethrin) on <i>Amblyomma variegatum</i> and <i>Rhipicephalus microplus</i> strains of the south-western region of Burkina Faso	79
1. Introduction	80
2. Materials and methods.....	81
3. Results	82
4. Discussion	83
References	84
Discussion générale.....	88
Conclusion.....	95
Recommandations et Perspectives	96
Bibliographie générale	99
Annexe	165

Résumé - Abstract

Résumé

En Afrique de l'ouest, l'élevage occupe une place importante dans l'économie des pays et dans le quotidien des populations. Le système d'élevage est généralement de type extensif, à faible intrants et basé sur une exploitation des ressources naturelles librement accessibles. De ce fait, la transhumance transfrontalière s'est imposée aux éleveurs comme une véritable stratégie de production animale, provoquant le brassage des troupeaux dans des pâturages et autours des points d'eau d'abreuvement communs. Ces regroupements favorisent de potentiels échanges d'ectoparasites tels que les tiques, vectrices de nombreux agents pathogènes qui induisent de nombreuses infections (babésiose, théilériose, anaplasmose, cowdriose), constituant une contrainte majeure à l'essor de l'élevage. Au Burkina Faso (BF) et au Bénin (BN), ces échanges d'animaux sont particulièrement intenses respectivement aux frontières Est et Nord, qui demeurent des localités très peu explorées en dépit du contexte d'invasion des deux pays par la tique *Rhipicephalus microplus*. Cette thèse a pour objectif d'analyser l'infestation du bétail par les tiques, à travers l'identification des différentes espèces, la caractérisation moléculaire des agents pathogènes transmis ainsi que l'évaluation de leurs implications zoonotiques dans les zones frontalières à ces deux pays. Quatre études ont été réalisées : (i) une enquête transversale pour étudier l'épidémiologie des tiques et des agents pathogènes associés chez les bovins, afin de caractériser (tiques et hémoparasites), la région de l'est du BF, zone de départ de la transhumance, et le nord du BN, zone d'arrivée, (ii) une enquête longitudinale, visant à évaluer les états parasitologiques (tiques et hémoparasites) d'un échantillon de bovins sur une saison de transhumance, (iii) une recherche de potentiels arbovirus circulant à l'est du BF (iv) une détermination du statut de résistance de deux espèces de tiques d'intérêt vétérinaire, aux acaricides commerciaux, les plus couramment utilisées par les éleveurs du sud-ouest du BF. Des tiques et du sang périphérique de bovins ont été collectés. Les tiques ont été morphologiquement identifiées à la loupe binoculaire. Les extraits d'ADN provenant aussi bien du sang des bovins que des broyats (pools) de tiques, ont été analysés par la technique du Reverse Line Blot Hybridization (RLB), suivi de séquençage (méthode de Sanger), pour la détection moléculaire des agents pathogènes. La caractérisation des virus hébergés par les tiques a été effectuée par le Next Generation Sequencing (Ion Torrent). Le statut de résistance de *Amblyomma variegatum* et de *R. microplus* aux pyréthrinoïdes de synthèse (deltaméthrine et cyperméthrine) a été déterminée par le Larval Packet Test (LPT). Au cours de l'étude transversale, un total de 2856 tiques (huit espèces) a été collecté sur 490 bovins (46 troupeaux) à l'est du BF, tandis que 3583 tiques (neuf espèces) ont été collectées sur 456 bovins (44 troupeaux) au nord du BN. La tique *A. variegatum* était l'espèce la plus abondante et la plus largement répandue dans les deux zones avec une abondance relative de 49,2% à l'est du BF, et 31% au nord BN. La tique *R. microplus*, n'a pas été identifiée dans les échantillons collectés à l'est du BF, mais son expansion dans d'autres localités du nord BN, par rapport aux travaux antérieurs, a été mise en évidence. Six espèces d'agents pathogènes transmis par les tiques ont été détectés dans le sang des bovins aussi bien à l'est du BF qu'au nord BN. Les plus prévalents étaient : *T.*

mutans (91,1%) et *T. velifera* (77,8%). *Theileria annulata* et *T. velifera* ont été détectés pour la première fois dans la zone d'étude. Un total de 210 bovins a été suivi au cours de l'étude longitudinale. Un premier échantillonnage codé "T0BF" a été effectué au départ de la transhumance à l'est BF, un deuxième échantillonnage (T1BN) dans la zone d'arrivée au nord du BN, puis un troisième échantillonnage (T2BF) au retour des bovins à l'est du BF. Un total de 1027 tiques (7 espèces), 1006 tiques (11 espèces) et 1211 tiques (9 espèces) ont été respectivement collectés à T0BF, T1BN et T2BF. Certaines espèces ont été identifiées sur les trois temps de l'échantillonnage sans une différence significative dans leurs abondances relatives. Cependant, d'autres espèces sont apparues uniquement à T1BN et/ou T2BF. Les espèces d'agents pathogènes retrouvés aux trois points étudiés étaient *Theileria annulata*, *T. mutans*, *T. velifera*, *Babesia bigemina* et *Anaplasma marginale*. La plus prévalente était *T. mutans* avec 166/210 (79%), 159/210 (75,7%) et 78/210 (37%) bovins positifs respectivement à T0BF, T1BN et T2BF. L'espèce *Anaplasma centrale* a été mise en évidence pour la première fois dans la zone à T0BF et T2BF. Une partie des échantillons de tiques collectés à T2BF (N=663) soumise à la recherche de virus n'a permis la détection d'aucun arbovirus. Cependant, cette étude a mis en évidence la présence de pseudocowpox virus (PCPV) (8,2 %) et du virus de la stomatite papuleuse bovine (BPSV) (5,8 %) dans des pools de tiques. La souche de *R. microplus* testée a montré une résistance à la deltaméthrine et à la cyperméthrine, avec des concentrations létales (CL) élevées, et des ratios de résistances (RR) supérieures à 4 (Deltaméthrine : $RR_{50} = 28,18$ et $RR_{90} = 32,41$; Cyperméthrine : $RR_{50} = 8,79$ et $RR_{90} = 23,15$). A l'opposé, la souche d'*A. variegatum* s'est révélée être très sensible aux acaricides testés, avec les concentrations létales et les ratios de résistances les plus faibles (Deltaméthrine $RR_{50} = 0,5$ et $RR_{90} = 0,48$; Cyperméthrine : $RR_{50} = 0,68$ et $RR_{90} = 0,79$).

La diversité des espèces de tiques et les hautes prévalences des agents pathogènes mises en évidence au Nord du BN, révèlent un risque parasitaire plus élevé dans cette zone comparativement à l'Est du BF. En conséquence, les éleveurs du BF exposent leurs bovins à de nouvelles infestations de tiques du fait de la transhumance, dont l'influence se combine à celle de la variation saisonnière des populations de tiques. En saison pluvieuse, l'utilisation récurrente des trypanocides aussi bien en soin prophylactique qu'en soin curatif, induit une baisse des prévalences de certains hémoparasites détectés chez les bovins. La première mise en évidence des espèces *T. annulata*, *T. velifera* et *A. centrale* constitue une contribution majeure à la connaissance des agents pathogènes associés aux tiques au BF et au BN. La découverte du PCPV et du BPSV dans des tiques met en évidence des risques de zoonoses virales associés à l'élevage bovin à l'Est du BF. De plus, la résistance de *R. microplus* aux pyréthrinoïdes de synthèse indique que l'inefficacité de certaines molécules acaricides dans le contrôle des populations de tiques demeure une préoccupation majeure au BF. Certains de ces résultats pourront servir de repère dans l'élaboration de protocole de lutte efficace contre les tiques et les agents pathogènes transmis, tandis que d'autres ouvrent de nouvelles pistes de recherches, qui, lorsqu'elles seront explorées, permettront une meilleure compréhension du phénomène de dispersion des tiques, et des processus d'infestation du bétail.

Summary

In West Africa, livestock production represents an important part of the country's economy and the daily life of the population. The livestock production system is generally extensive, with low inputs, and based on the freely accessible natural resources exploitation. As a result, cross-border transhumance has become a real animal production strategy, leading to the mixing of herds in common pastures and around common watering points. Such situation favors potential exchanges of exoparasites such as ticks, vectors of numerous pathogens inducing infections (babesiosis, theileriosis, anaplasmosis, cowdriosis), constituting a major constraint to the livestock industry's development. In Burkina Faso (BF) and Benin (BN), these animal exchanges are particularly important at the eastern and northern borders respectively, which remain poorly explored localities despite the context of invasion of the two countries by *Rhipicephalus microplus*. The aim of this thesis is to analyze tick infestation in livestock, through the identification of the different species, the molecular characterization of transmitted pathogens and the evaluation of their zoonotic implications in the border areas of these two countries. Four studies were carried out : (i) a cross-sectional survey to study the epidemiology of ticks and associated pathogens in cattle, in order to characterize (ticks and hémoparasites) the eastern region of BF, the departure zone of transhumance, and the northern part of BN, the arrival zone, (ii) a longitudinal survey to evaluate the parasitological status (ticks and hemoparasites) of a sample of cattle over a transhumance season, (iii) a research of arboviruses circulating in eastern BF, (iv) a determination of the resistance status of two tick species (of veterinary interest) to commercial acaricide compounds, most commonly used by farmers in southwestern BF. Ticks and peripheral bovine blood were collected. Ticks were morphologically identified using a binocular magnifying glass. DNA extracts from both cattle blood and tick pools were analyzed by Reverse Line Blot Hybridization (RLB) process, followed by sequencing (Sanger method) for molecular detection of pathogens. Tick-borne viruses (arbovirus) characterization was performed by Next Generation Sequencing (Ion Torrent). *Amblyomma variegatum* and *Rhipicephalus microplus* resistance status to synthetic pyrethroids (deltamethrin and cypermethrin) was determined by Larval Packet Test (LPT). In the cross-sectional study, a total of 2,856 ticks (eight species) were collected from 490 cattle (46 herds) in eastern BF, while 3,583 ticks (nine species) were collected from 456 cattle (44 herds) in northern BN. *Amblyomma variegatum* was the most abundant and widely distributed tick species in both areas with a relative abundance of 49.2% in eastern BF, and 31% in northern BN. The *R. microplus* tick was not identified in the samples collected in eastern BF, but its expansion in others northern areas in BN was evidenced. Six tick-borne pathogens species were detected in cattle blood in both eastern BF and northern BN. The most prevalent were *T. mutans* (91.1%) and *T. velifera* (77.8%). *Theileria annulata* and *T. velifera* were detected for the first time in the study area. A total of 210 cattle were followed during the longitudinal study. A first sampling coded "T0BF" was implemented at the transhumance departure in eastern BF, a second sampling (T1BN) in the arrival area in northern BN,

and a third sampling (T2BF) at the return of cattle in the eastern BF. A total of 1027 ticks (7 species), 1006 ticks (11 species) and 1211 ticks (9 species) were respectively found at T0BF, T1BN and T2BF. Some species were collected at the three times of sampling without any significant difference in their relative abundances. However, other tick species appeared only at T1BN and/or T2BF. The tick-borne pathogens (TBP) species found at the three points surveyed were *T. annulata*, *Theileria mutans*, *T. velifera*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale*. The most prevalent was *Theileria mutans* with 166/210 (79%), 159/210 (75.7%) and 78/210 (37%) cattle positive respectively at T0BF, T1BN and T2BF. The species *Anaplasma centrale* was highlighted for the first time in the area at T0BF and T2BF. A sample of ticks collected at T2BF (N=663) was tested for viruses and no arboviruses were detected. However, pseudocowpox virus (PCPV) (8.2%) and bovine papular stomatitis virus (BPSV) (5.8%) were evidenced in tick pools. The *Rhipicephalus microplus* strain tested showed resistance to deltamethrin and cypermethrin, with high lethal concentrations (LC), and resistance ratios (RR) higher than 4 (Deltamethrin: $RR_{50} = 28.18$ and $RR_{90} = 32.41$; Cypermethrin: $RR_{50} = 8.79$ and $RR_{90} = 23.15$). On the contrary, the *A. variegatum* strain was very sensitive to the acaricides tested, with the lowest lethal concentrations and resistance ratios (Deltamethrin $RR_{50} = 0.5$ and $RR_{90} = 0.48$; Cypermethrin: $RR_{50} = 0.68$ and $RR_{90} = 0.79$).

The diversity of tick species and the high prevalence of pathogens found in northern Benin indicate a higher parasite risk in this area compared to eastern Burkina Faso. As a result, herders in Burkina Faso expose their cattle to new tick species infestations, due to transhumance, which influence is combined with the seasonal variation of tick populations. In the rainy season, the recurrent use of trypanocides for both prophylactic and curative care of animals, leads to a decrease in the prevalence of certain hemoparasites detected in cattle. The first detection of *T. annulata*, *T. velifera* and *A. centrale* species is a significant contribution to the knowledge of tick-borne pathogens in BF and BN. The discovery of PCPV and BPSV in ticks highlights viral zoonotic risks associated with cattle breeding in eastern BF. Furthermore, the resistance of *R. microplus* to synthetic pyrethroids indicates that the inefficiency of some acaricide molecules in tick populations control remains a concern in BF. Some of these results can be used as guidelines for the development of effective control protocols against ticks and transmitted pathogens, while others open new research lines, which, when explored, will enable a better understanding of tick spreading phenomenon and livestock infestation process.

Préambule

Préambule

Dans les pays d’Afrique de l’Ouest, l’élevage représente une part importante du PIB agricole. Il peut atteindre environ 50% dans les pays sahélo-soudaniens comme la Mauritanie, le Mali, le Burkina Faso, le Niger et le Tchad (CEDEAO, 2010). La pratique de l’élevage est l’activité principale ou secondaire et constitue une source de revenus pour environ 70% de la population active ouest-africaine (CEDEAO, 2010). Le cheptel est en forte croissance dans cette région pour répondre notamment à une demande de lait et de viande en hausse (Thornton, 2010 ; Tabassum-Abbasi et al., 2016). Pour répondre à ces demandes, le Bénin a entrepris en 1999, un projet d’appui aux secteurs du lait et de la viande (Acronyme : PAFILAV). Dans la phase préparatoire de ce projet, l’une des activités pilotes était l’installation d’un noyau laitier de bovins de race exotique à Kpinnou, département du Mono, situé au Sud du Bénin. De ce fait, un troupeau de 107 bovins de race Girolando a été importé du Brésil le 24 novembre 2004. Ce projet visait à évaluer la capacité de production laitière de cette race bovine dans les conditions locales, avant d’engager une importation à grande échelle. L’objectif final étant de favoriser un brassage génétique entre cette race exotique (connu pour sa grande capacité de production laitière (13-28 litres de lait/jour (Carvalho et al., 2015)) et les races locales, pour ainsi obtenir une amélioration de la production laitière nationale. Cette importation a été reconnue comme l’origine probable de l’introduction d’une espèce invasive de tique, *Rhipicephalus microplus* au Bénin (Madder et al., 2012). Cette situation est similaire à celle observée en Côte d’Ivoire, où l’importation de Girolando a abouti également à l’introduction, l’établissement et l’expansion de *R. microplus* dans plusieurs régions du pays (Madder et al., 2011). L’invasion de la sous-région ouest africaine (Bénin, Burkina Faso, Côte d’Ivoire, Mali, Togo) par cette espèce de tique a suscité de nombreuses préoccupations. En effet, cette espèce de tique est connue comme vecteur principal de *Babesia bovis* et *Babesia bigemina*, agents de la babésiose (tropicale) bovine, l’une des plus graves infections parasitaires des régions sub-sahariennes (Lempereur et al., 2017). De plus, ce vecteur a présenté un haut degré de résistance à de nombreuses molécules acaricides utilisées par les éleveurs pour le contrôle des populations de tiques (Guerrero et al., 2012 ; Abbas et al., 2014 ; Adehan et al., 2016). Par ailleurs, dans cette partie de l’Afrique, d’autres espèces de tiques appartenant aux genres *Amblyomma*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, et dans une moindre mesure, *Haemaphysalis* (Farougou et al., 2013; Yao et al., 2016; Biguezoton et al., 2016a), sont responsables non seulement d’effets directs, à travers la spoliation sanguine, les pertes de poids, la diminution de la production laitière, des lésions cutanées favorisant d’autres infections, la perte des trayons, mais aussi d’effets indirects car vectrices de nombreux agents pathogènes, à l’origine des infections telles la cowdriose, la babésiose, l’anaplasmose, la theileriose, l’ehrlichiose... Outre les pertes économiques, certaines espèces de tiques présentent une importance en santé humaine, car impliquées dans la transmission d’agents pathogènes induisant des pathologies à caractère zoonotique. L’invasion de la sous-région ouest africaine par *R. microplus* a motivé l’initiation de nombreux projets de recherche dont TickRisk (Assessing Ecological suitability for the spread of *R. microplus* in West Africa) (2011–

2013) mis en œuvre au BN pour déterminer l'expansion de *R. microplus* et modéliser les aires de répartition favorables à cette espèce ; WECATiC (Assessment of Emerging livestock ticks and tickborne diseases threats and integrated control strategies in West and Central Africa) (2011–2014) incluant le BN, le BF et le Cameroun, pour étudier la résistance de *R. microplus* aux produits acaricides et développer des stratégies de contrôle adaptées. Cependant, l'influence de la transhumance transfrontalière sur la dissémination des tiques et des agents pathogènes associés, l'implication de ces pathogènes dans les infections à caractère zoonotique dans le contexte ouest africain restaient jusque-là encore peu étudiées.

Introduction

Introduction générale

1. L'élevage en Afrique de l'Ouest

1.1. Importance de l'élevage dans l'économie des pays ouest Africains

Avec une population de 350 millions d'habitants, les pays d'Afrique de l'Ouest ont une économie principalement rurale, reposant sur les potentialités du secteur primaire. L'élevage représente environ 35% du PIB et fournit dans les pays du Sahel, en moyenne 30% des recettes agricoles (CEDEAO, 2010). Le cheptel bovin était estimé à environ 80 millions de têtes en 2019 (FAOSTAT, 2019). Le bétail seul contribue à 25% du PNB des pays comme le BF, le Mali, la Mauritanie et le Niger. La contribution de l'élevage au PIB agricole passe à près de 50%, si la valeur de la traction animale et de la fumure organique dans les systèmes mixtes agriculture-élevage est prise en compte. A l'échelle des populations, le sous-secteur de l'élevage assure la sécurité alimentaire et nutritionnelle des ménages ruraux tout en servant de moyen de lutte contre la pauvreté. Il assure un emploi et un revenu à environ 80% de la population active ouest africaine (CEDEAO, 2010). Au Burkina Faso, le secteur de l'élevage représente environ 40% de la valeur ajoutée agricole et environ 30% des recettes d'exportation. Le cheptel bovin y est en constante augmentation (Fig. 1) avec une concentration principalement dans les régions des Hauts Bassins, du Sahel et de l'Est (Fig. 3). Avec 10 millions de têtes en 2019 (FAOSTAT, 2019), il se place au second rang des pays de l'UEMOA, après celui du Mali (12 millions de têtes, FAOSTAT, 2019). La balance commerciale est excédentaire pour la viande, mais le pays débourse d'énormes devises pour combler ses besoins en lait et produits laitiers (50 à 100 millions USD/an). La consommation de viande et de lait par habitant est respectivement d'environ 12 kg et 17-18 litres par an. L'élevage repose sur un système majoritairement extensif, soit 87 à 98% des exploitations. On y trouve également des fermes pratiquant un élevage de type semi-intensif (2 à 11%) et intensif (1 à 2%) (FAO, 2019).

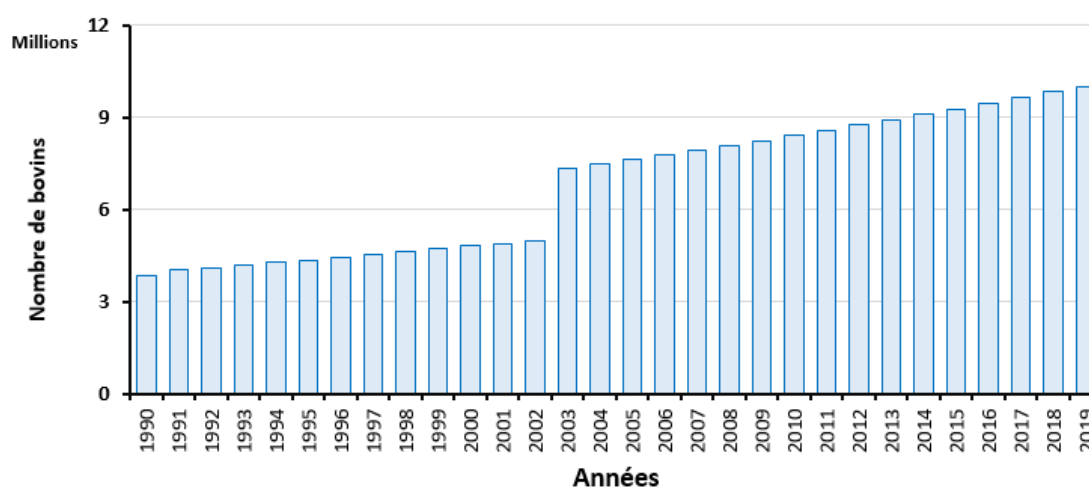


Fig. 1 : Evolution du cheptel bovin au Burkina Faso de 1990 à 2019 (Données : FAOSTAT, 2019)

Au Bénin l'élevage représente la deuxième activité économique de la population rurale après les productions végétales. Il a contribué au PIB agricole à hauteur de 13,44 % en 2016 (DE, 2017). Depuis une trentaine d'années, le cheptel bovin est en croissance (Fig. 2) et a été estimé à 2,5 millions de têtes en 2019 (FAOSTAT, 2019). La production de viande était de 70327 tonnes en 2016. Le Nord du pays concentre la majorité du cheptel national. Les Départements du Borgou et de l'Alibori (Fig. 3) concentrent environ 60 % du cheptel bovin (DE, 2017).

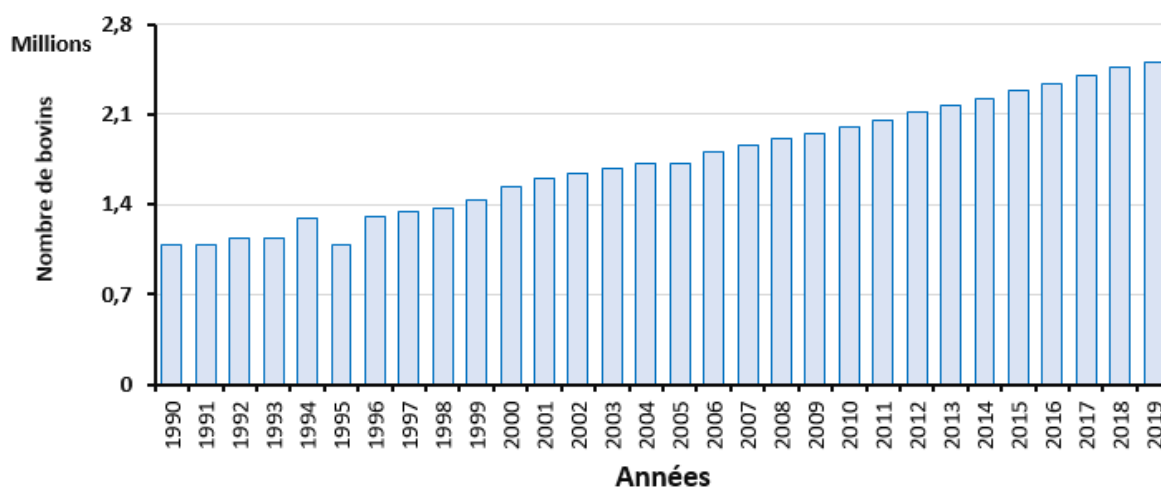


Fig. 2 : Evolution du cheptel bovin au Benin de 1990 à 2019 (Données : FAOSTAT, 2019)

En dépit de cette importance majeure, dans la plupart des pays d'Afrique de l'Ouest, l'élevage est caractérisé par des pratiques de production encore traditionnelles, à faible intrant (Lesse et al., 2015, Santoze and Gicheha, 2019). Il est dominé par un système extensif, l'essentiel de la ration alimentaire provenant de l'exploitation des pâturages naturels (MRAH, 2018). Par ailleurs, l'explosion démographique a entraîné une augmentation des surfaces cultivées, et par conséquent une réduction des aires de pâturage. Les crises climatiques survenant depuis les années 70 et se traduisant par de longues périodes de sécheresse, ont également contraint les éleveurs des pays du Sahel à adopter la transhumance comme une stratégie de production animale (Abdourazakou, 2016; Alidou, 2016).

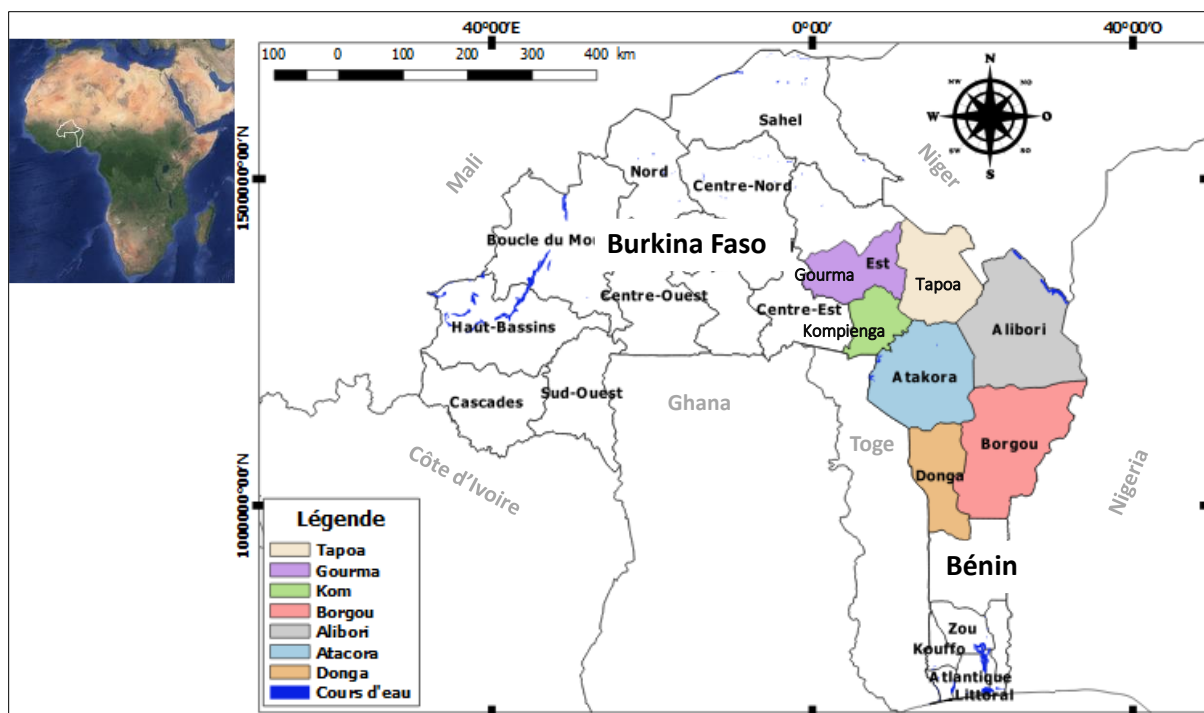


Fig.3 : Provinces et départements prospectés au Burkina Faso et au Bénin

1.2. La transhumance en Afrique de l'Ouest

Selon Alidou (2016), la transhumance est une pratique de production animale caractérisée par des déplacements saisonniers réguliers entre des zones écologiques complémentaires, où quelques individus accompagnent les troupeaux tandis que la plus grande partie des éleveurs reste sédentaire. Les troupeaux quittent généralement un environnement aride, où les pâturages se sont raréfiés, pour se diriger vers des zones où les pâturages semblent encore abondants. Dans ce contexte, la transhumance en Afrique de l'Ouest peut être considérée comme une forme d'adaptation à ces milieux, mettant à profit la complémentarité écologique entre les zones sahélienne et soudanienne. Elle est basée sur une stratégie de gestion viable, opportuniste et écologique des ressources pastorales (Bouslikhane, 2015). On distingue d'une part la transhumance de courte distance; elle s'effectue dans le même pays ou entre deux pays (Bouslikhane, 2015) et qui a pour but de parvenir à un compromis entre l'agriculture et l'élevage en termes d'utilisation des terres, et en termes d'exploitation des résidus de récolte. D'autre part, il existe la transhumance transfrontalière longue distance qui s'étale de la saison sèche à la saison pluvieuse entre deux pays. Historiquement, elle a permis aux communautés pastorales africaines de survivre à des crises climatiques majeures. Outre les contraintes climatiques, la transhumance est sous-tendue par d'autres facteurs telle que l'explosion démographique. Selon Abdourazakou (2016), la croissance des populations dans le sahel ouest africain a entraîné une augmentation des surfaces cultivées, et par conséquent une réduction des aires de pâturage. La transhumance revêt aussi un enjeu économique majeur. Selon Zina et al. (non publié), l'installation des pasteurs dans la zone d'accueil est souvent guidée par la proximité d'un marché de bétail. Ce qui leur permet de commercialiser leurs animaux,

pour générer des revenus afin de subvenir à leurs besoins et assurer des soins vétérinaires à leurs troupeaux. La pratique de la transhumance est également expliquée par des considérations d'ordre socio-culturel. En effet, selon l'enquête socio-épidémiologique de Zannou et al. (2021.), le groupe ethnique majoritaire pratiquant l'élevage à l'Est du BF et au BN, est représenté par la communauté Fulani, soit 79% (N=90) des éleveurs. Dans cette communauté, la transhumance est perçue non seulement, comme un moyen d'affirmer son identité culturelle, mais aussi, comme un canal d'acquisition de vertus (bienséance, politesse...) à travers les contacts avec d'autres communautés (Poncet, 1999). Elle représenterait une occasion pour les jeunes garçons "peulh" (nom de l'ethnie), d'échapper à l'autorité des aînés et/ou des parents, conférée par la structure sociale très hiérarchisée (Paul, 2016). Dans la pratique de la transhumance, certains pays servent de zone de transit, tandis que d'autres servent de zone d'arrivée. En Afrique de l'Ouest, le pastoralisme transhumant est le moyen de production animale le plus important, impliquant 70 à 90% de bovins (Bouslikhane 2015). Les troupeaux effectuent des migrations saisonnières entre des pâturages au Nord où le fourrage est d'excellente qualité mais où la saison des pluies, c'est-à-dire, la période végétative est relativement courte, et des pâturages plus au Sud où la pluviométrie est plus élevée et où le fourrage est abondant (Brottem et al., 2014). Le Bénin, par sa position géographique, est une destination de transhumance pour les pasteurs venant principalement du Niger, du Burkina Faso, du Nigéria et du Mali (Lesse et al., 2015). On observe un mouvement saisonnier régulier du bétail, vers le Sud pendant la saison sèche en réponse à la pénurie de pâturages et d'eau, puis vers le Nord pendant la saison humide (Fig. 4). C'est dans cette dynamique que s'inscrit les mouvements de transhumance saisonnière pratiqués par les éleveurs de l'Est du BF vers le Nord du BN (Bouslikhane 2015). Ils parcourent environ 150-200 km en 1-3 semaines (en fonction de leur localité d'origine) à la recherche de pâturage au Nord du BN. Au-delà de la migration des animaux sur des territoires parfois étendus, cette transhumance, contribue au brassage des troupeaux d'origines diverses, dans des pâturages et autours des points d'eau d'abreuvement communs. Ce qui contribue à de potentiels échanges d'ectoparasites telles que les tiques.

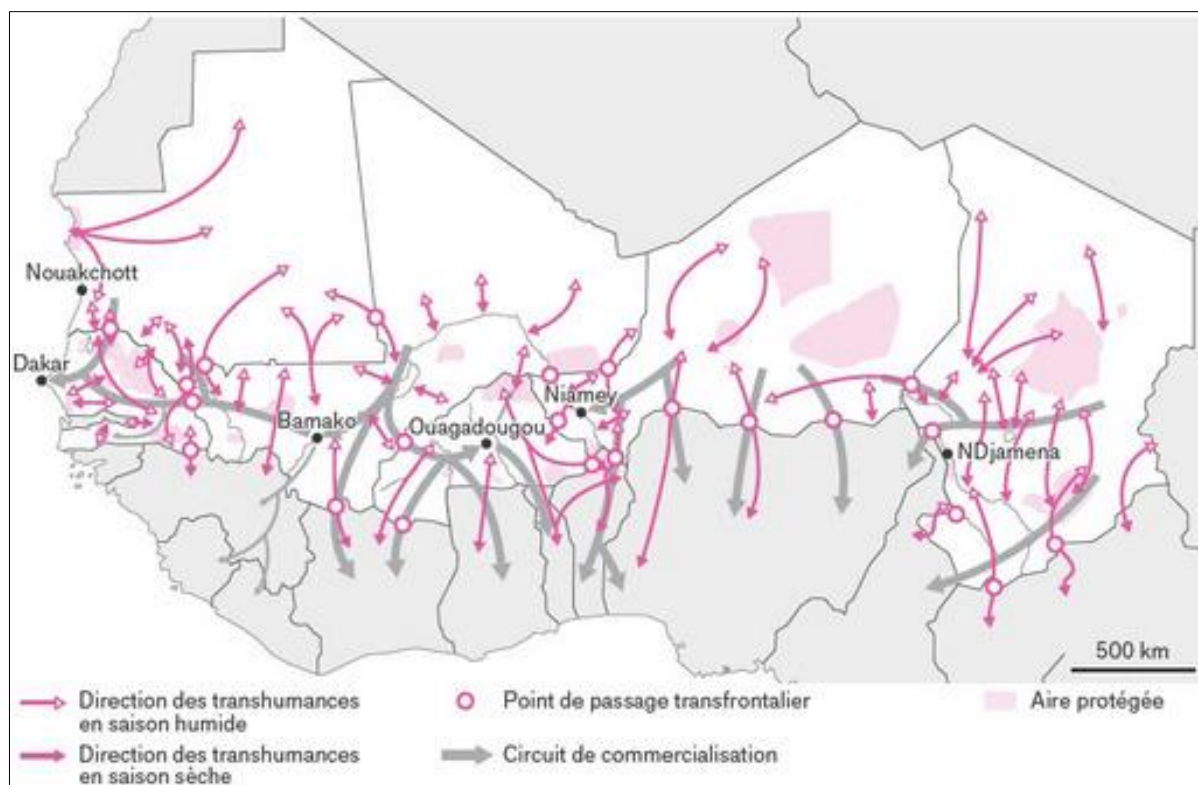


Fig. 4: Couloirs de transhumance dans le sahel (Source : http://www.afrique-contemporaine.info/numero_revue/2014-1-les-dynamiques-du-pastoralisme-au-sahel)

1.3. Impacts économiques et sanitaires des tiques sur le bétail

Les tiques sont reconnues, avec les moustiques, comme les principaux arthropodes vecteurs d'agents pathogènes pour les humains et les animaux domestiques dans le monde entier (Piesman and Eisen, 2008 ; Nicholson et al., 2010). La babésiose, la theilériose et l'anaplasmose sont les principales maladies causées par des agents pathogènes transmis par les tiques et qui induisent d'importantes pertes économiques dans la production bovine à travers le monde (Demessie and Derso, 2015), particulièrement en Asie, en Amérique latine et en Afrique (Jongejan and Uilenberg, 2004) . L'impact économique des tiques peut être réparti en pertes directes et indirectes. L'effet direct sur la production se traduit par des lésions cutanées dues aux morsures, en particulier chez les bovins fortement infestés (Rodriguez-Vivas et al., 2018), des pertes de sang associées à des charges parasitaires élevées et à l'anémie (Abubakar and Perera, 2019), un stress permanent qui affecte le comportement et le bien-être de l'animal (Abubakar and Perera, 2019) et qui entraîne également une dépression de la fonction immunitaire (Abbas et al., 2014) ; une perte d'énergie associée aux mouvements constants qui se produisent en réponse à l'infestation. Les pertes indirectes sont liées aux effets des hémoparasites transmis, et autres maladies associées (Abbas et al., 2014; Rodriguez-Vivas et al., 2018), le coût du traitement des cas cliniques; les dépenses engagées dans la lutte contre les tiques (Abubakar and Perera, 2019). A titre d'exemple, les pertes occasionnées par l'infestation par *R. microplus*, les maladies associées et le contrôle de celle-ci ont été estimées à 13,9-18,7 milliards de dollars US par an dans le

monde, dont 3,24 milliards de dollars et 573,61 millions de dollars respectivement au Brésil (Grisi et al., 2014) et au Mexique (Rodríguez -Vivas et al., 2017). En moyenne, chaque tique femelle gorgée de *R. microplus* est responsable de la perte de 1,37 g de poids corporel chez les bovins *Bos taurus*, tandis que chez les métisses *Bos taurus* x *Bos indicus*, elle est de 1,18 g par femelle gorgée (Jonsson, 2006). Les animaux infestés par les tiques réduisent leur consommation alimentaire (4,37 kg) par rapport aux animaux non exposés aux tiques (5,66 kg) (Rodríguez-Vivas et al., 2014). Dans les régions tropicales, particulièrement en Afrique de l'Ouest, les pertes économiques induites par les tiques et les agents pathogènes associés, sont surtout liées à la mortalité du bétail, la baisse de la valeur marchande des animaux due à la perte de poids, la baisse de la production laitière, le coût du contrôle des populations de tiques largement dominé par la chimiothérapie (Kivaria, 2006 ; Homewood et al., 2006). Ces tiques font partie de la famille des Ixodidae, qui ont fait l'objet des études réalisées.

2. Généralités sur les Ixodidae

Les Ixodidae, communément appelés "tiques dures" sont des arthropodes hématophages, ectoparasites de vertébrés. Elles appartiennent à la classe des Arachnides, au sous-ordre des Ixodida. En tant que groupe taxonomique, le nombre d'espèces de tiques est d'environ 900, dont environ 700 dans la famille des Ixodidae (tiques dures) et 200 dans la famille des Argasidae (tiques molles).

2.1. Systématique

Au cours de la dernière décennie, la systématique des tiques (Ixodida) a fait l'objet de nombreuses controverses. Selon Lecointre et Guyader, (2006), les tiques appartiennent à l'embranchement des Arthropodes, renfermant des organismes caractérisés par la présence d'un exosquelette et d'appendices articulés. Au sein des arthropodes, deux sous-embranchements sont reconnus: les Mandibulates et les Chélicérates, dont les appendices buccaux sont appelés chélicères. Les Chélicérates se divisent en deux classes : les Mérostomes et les Arachnides. La classe des Arachnides comprend 11 sous-classes dont les Acariens chez qui le prosoma et l'opisthosome sont fusionnés. La sous-classe des Acariens est ensuite divisée en deux ordres : les Acariformes et les Parasitiformes. Quatre sous-ordres sont reconnus au sein des Parasitiformes : les Opilioacarida, les Mesostigmata, les Holothyrida et les Ixodida communément appelés "Tiques". Dans le sous-ordre des Ixodida, on distingue la famille des Nuttalliellidae, des Ixodidae ou tiques dures, et des Argasidae ou tiques molles.

2.2. Caractéristiques des Ixodidae

Morphologie externe : le corps des Ixodidae est divisé en deux parties : le capitulum ou gnatosome qui porte les pièces buccales et l'idiosome sur lequel les pattes sont fixées. Ce sont des acariens de grande taille (Fig. 5) qui présentent trois stases séparées par des métamorphoses vraies : larve, nymphe, adulte. Exception faite des larves (qui ont 3 paires de pattes), les nymphes et adultes possèdent 4 paires de pattes. Les adultes se distinguent des nymphes par la présence d'un orifice génital ou gonopore, situé à la même place aussi bien chez les femelles que chez les mâles. Les Ixodidae possèdent un tégument dur, le scutum ou conscutum qui recouvre toute la face dorsale chez les mâles, et seulement une partie chez

les femelles (Walker et al., 2014). Une dissection réalisée en soulevant le scutum ou conscutum d'une tique, permet d'observer les glandes salivaires, l'intestin moyen, le sac rectal et les ovaires (Edwards, K. T et al., 2009) (Fig. 6).

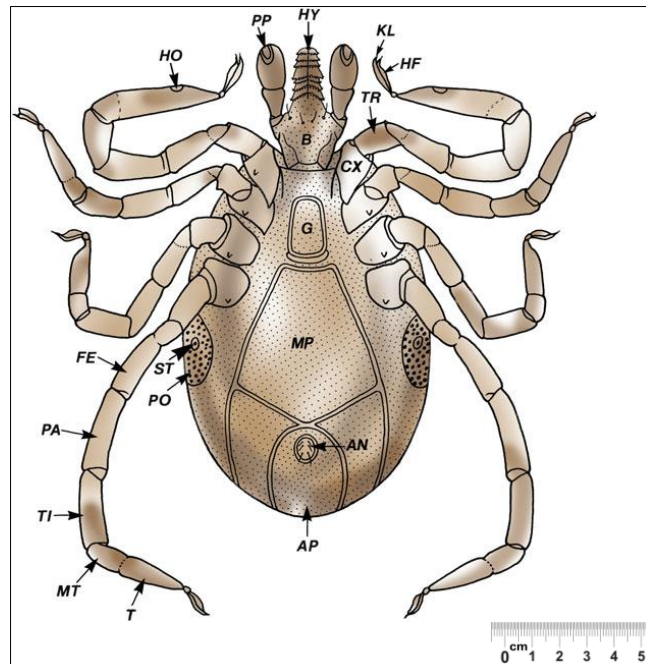


Fig. 5: Représentation schématique de la face ventrale d'un Ixodidae, (Source : Mehlhorn, 2016)

AN: anus; AP: plaque anale; B: base du capitulum; CX: coxa; G: plaque génitale; FE: femur; HF: papille d'accrochage des pattes; HO: organe de (sens) Haller; HY: hypostome; KL: griffe; MP: plaque median; MT: métatarse; PA: rotule; PO: plaque poreuse; PP: pedipalpes; ST: stigmate (ouverture respiratoire); T: tarse; TI: tibia; TR: trochanter

Système circulatoire : les organes internes baignent dans l'hémolymphe, dont la circulation est assurée par un cœur relativement simple, une aorte, de courts vaisseaux artériels et plusieurs sinus. L'hémolymphe est constituée d'un plasma et d'une variété de cellules : les hémocytes qui interviennent dans l'immunité de la tique par la sécrétion de peptides antimicrobiens (Grubhoffer et al., 2014).

Système respiratoire : Les Ixodidae possèdent une paire de pores respiratoires (ostia) située sur les plaques stigmatiques à chaque partie latérale du corps. Au-dessous de chaque plaque, se trouve de nombreux sacs à air reliés à de larges trachées qui forment ensuite de nombreuses ramifications. C'est à travers ces ramifications que le corps de la tique est ravitaillé en oxygène, et le dioxyde de carbone éliminé (Fielden and Duncan, 2013).

Système nerveux : il est composé d'une masse de cellules ganglionnaires appelée synganglion (cerveau) situé dans la région antérieure et ventrale du corps. Le synganglion est divisé en régions pré et post-oesophagiennes par l'oesophage. La région pré-oesophagienne innerve les photorécepteurs et le gnathosoma, tandis que la région post-oesophagienne innerve le reste du corps (Mothes and Seitz, 1981).

Système reproducteur : chez les femelles on trouve un ovaire, une paire d'oviductes, un utérus, le vagin et un réceptacle séminal. Chez les femelles non gorgées, l'ovaire apparaît comme une fine bande de cellules, tandis que les femelles gorgées présentent un ovaire sous forme d'organe large, avec de nombreux oocystes à de variables stades de développement. Chez les mâles adultes, on trouve une paire

de testicules, le canal déférent, la vésicule séminale, le conduit d'éjaculation et une glande accessoire mâle, complexe et multilobée. La paire de testicules qui semble être fusionnée en une seule glande est située dans la partie postérieure du corps. Deux canaux déférents courts et enroulés s'étendent des testicules à la vésicule séminale commune située juste au-dessous de la glande accessoire mâle (Dhooria, 2016).

Système digestif : l'intestin présente trois régions principales : l'intestin antérieur et l'intestin postérieur qui sont d'origine ectodermique, et l'intestin moyen (présentant souvent des diverticules) qui est endodermique. Au niveau du canal alimentaire bien développé, la cavité orale s'ouvre sur un pharynx musculueux, suivi par l'œsophage qui passe à travers le synganglion (Walker, 2003).

Les glandes salivaires : les glandes salivaires appariées sont constituées d'acini localisés dans les régions antérolatérales du corps. La salive est expulsée des glandes d'abord à travers les conduits salivaires, le salivarium, puis par le canal préoral et est injectée dans la lésion d'alimentation. C'est de cette manière que des agents pathogènes sont transmis à l'hôte (Agbede and Kemp, 1985).

Système excréteur : les tubes de Malpighi qui débouchent dans l'intestin postérieur sont présents dans plusieurs groupes d'acariens et servent à éliminer de nombreux déchets azotés. Chez les acariens qui ne possèdent pas de tubes de Malpighi, une portion de l'intestin moyen est utilisée pour assurer la fonction d'excrétion. L'équilibre de l'eau et des ions implique de nombreuses glandes telles que les glandes coxales, salivaires, les papilles génitales et les organes de Claparede. Chez les Ixodidae, l'excès d'eau contenu dans le repas sanguin est réinjecté dans l'hôte par les glandes salivaires (Romoser, 2004) (Fig. 7).

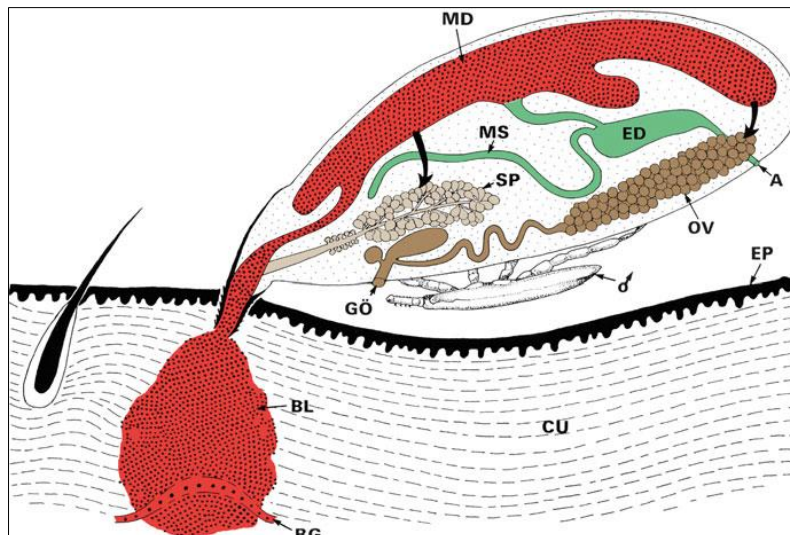


Fig. 6: Représentation schématique de la prise de sang d'une tique femelle Ixodidae, le mâle étant en position de copulation, (Source: Mehlhorn, 2016)

A: anus; BG: vaisseaux sanguins; BL: lacune de sang; CU: cuticule; ED: intestin postérieur; EP: épiderme; GO: orifice génital; MD: intestin rempli de sang; MS: canaux de Malpighi; OV: tube ovarien contenant des ovocytes; SP: glandes salivaires

Cycles biologiques: Chez les Ixodida, le cycle biologique comprend 3 stases de développement (larve-nymphé-adulte) séparés par des métamorphoses. A chaque stase, la tique se nourrit une seule fois. Ce repas sanguin peut durer 4 à 10 jours, et les femelles gorgées pondent une fois. Le nombre d'œufs varie de 1000 à 20 000 selon l'espèce de tique et la quantité de sang ingérée. Suivant le nombre d'hôtes, on distingue (i) des cycles triphasiques : où la phase parasitaire des 3 stases se déroulent sur 3 hôtes vertébrés distincts, (ii) des cycles diphasiques : où la larve et la nymphe se gorgent sur un même hôte. La nymphe gorgée se laisse tomber, réalise la métamorphose dans l'environnement et l'adulte parasite un deuxième hôte, (iii) des cycles monophasiques : où, après s'être gorgée, la larve se métamorphose et se refixe sur le même hôte. La nymphe se gorge à son tour, se détache, réalise la métamorphose et l'adulte se fixe à nouveau pour l'accouplement (Apanaskevich et al., 2013).

3. Les espèces de tiques de bétail en Afrique de l'Ouest

Les tiques sont présentes dans pratiquement toutes les régions du globe, certains genres étant plus fréquents dans les zones froides et tempérées (e.g. *Ixodes* et *Dermacentor*), et d'autres dans les zones chaudes ou intertropicales (e.g. *Hyalomma* et *Amblyomma*) (Bonnet et al., 2016). Les espèces de tiques associées au bétail recensées en Afrique de l'Ouest appartiennent principalement aux genres *Amblyomma*, *Hyalomma* et *Rhipicephalus* (y compris le sous-genre *Boophilus*) (Barker et Murrell, 2004; Biguezoton et al., 2016; Kouassi et al., 2016; Diarra et al., 2017). Elles sont vectrices de divers agents pathogènes (virus, parasites, bactéries) à l'origine d'infections telles que la babésiose, la théilériose, l'anaplasmose, la cowdriose, le virus de la fièvre hémorragique Crimée-Congo (CCHF)... (Tableau 1) (Jongejan et Uilenberg, 2004). Cette thèse a surtout porté sur les agents pathogènes des genres *Theileria/Babesia* et *Ehrlichia/Anaplasma* au vue de leur importance pour les bovins dans la zone d'étude.

Tableau 1 : Tiques et agents pathogènes associés en Afrique de l'Ouest

Espèces de tiques	Agents pathogènes transmis	Maladies	Hôtes infectés	
<i>A. variegatum</i>	<i>Rickettsia africae</i>	African tick-bite fever	Humains	
	<i>Ehrlichia ruminantium</i>	Ehrlichiose	Bovins, Caprins, Ovins	
	<i>Ehrlichia bovis</i>	Ehrlichiose		
	<i>Theileria mutans</i>	Theileriose	Bovins	
	<i>Theileria velifera</i>	Theileriose		
<i>Haemaphysalis leachi</i>	<i>Babesia canis</i>	Babésiose	Canidés	
<i>Hyalomma</i> spp.	<i>H. dromedarii</i>	<i>Theileria annulata</i> (CE)	Bovins	
	<i>H. impressum</i>	-----	-----	
	<i>H. impeltatum</i>	<i>Theileria annulata</i> (CE)	-----	Bovins
		CCHFV (CE)	CCHF	Humains
	<i>Anaplasma marginale</i>	Anaplasmose	Bovins	

	<i>H. m. rufipes</i>	CCHFV	CCHF	Humains
		<i>Rickettsia conorii</i>	African tick-borne fever	Humains
		<i>Babesia occultans</i>	Babésiose	Bovins
	<i>H. nitidum</i>	-----	-----	-----
	<i>H. truncatum</i>	<i>Babesia caballi</i>	Babésiose	Equins
		<i>Rickettsia conorii</i>	African tick-borne fever	Humains
<i>Rhipicephalus</i> spp.	<i>R. evertsi.</i>	<i>Babesia caballi</i>	Babésiose	Equins
		<i>Theileria equi</i>	Babésiose	
		<i>Anaplasma marginale</i>	Anaplasmose	Bovins
	<i>R. lunulatus</i>	-----	-----	-----
	<i>R. muhsamae</i>	-----	-----	-----
	<i>R. sanguineus</i>	<i>Ehrlichia canis</i>	Ehrlichiose	Canins
		<i>Rickettsia conorii</i>	African tick-borne fever	Humains
		<i>Babesia canis</i>	Babésiose	Canins
		<i>Babesia gibsoni</i>	Babésiose	
	<i>R. senegalensis</i>	-----	-----	-----
<i>R. sulcatus</i>	-----	-----	-----	
<i>R. (Boophilus)</i> spp	<i>R. (B.) annulatus</i>	<i>Babesia bigemina</i>	Babésiose	Bovins
		<i>Babesia bovis</i>	Babésiose	Bovins
		<i>Anaplasma marginale</i>	Anaplasmose	
	<i>R. (B.) decoloratus</i>	<i>Babesia bigemina</i>	Babésiose	Bovins
		<i>Anaplasma marginale</i>	Anaplasmose	Bovins
		<i>Borrelia theileri</i>	Spirochétose	Bovins, Ovins, Caprins, Equins
	<i>R. (B.) geigy</i>	<i>Babesia bigemina</i>	-----	-----
		<i>Babesia bovis</i>	-----	-----
	<i>R. (B.) microplus</i>	<i>Babesia bigemina</i>	Babésiose	Bovins
		<i>Babesia bovis</i>	Babésiose	
<i>Anaplasma marginale</i>		Anaplasmose		
<i>Borrelia theileri</i>		Spirochétose	Bovins	

Légende : CE : Conditions expérimentales, ----- : pas de donnée disponible, A : *Amblyomma*, B. *Boophilus* ; H : *Hyalomma*, R. : *Rhipicephalus*, CCHFV : Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, (Plowright, 1956; Akinboade and Dipeolu, 1981 ; Dohm et al., 1996 ; Zintl et al., 2003, Bock et al., 2004 ; Walker et al., 2003 ; Haghi et al., 2017; Ristic, 2018)

3.1. Le genre *Amblyomma*

De toutes les espèces d'*Amblyomma* décrites, *A. variegatum* est l'espèce la plus largement répandue (Walker and Olwage 1987). En Afrique et dans les Caraïbes, elle est la cause de pertes économiques importantes chez les ruminants domestiques (Barré et al. 1995; Camus and Barré, 1995 ; Molia et al. 2008).

Morphologie : Appelée couramment « tique tropicale colorée » *A. variegatum* se caractérise par sa grande taille (6-7mm), un scutum émaillé d'ornementations colorées du rose à l'orange, la présence d'ocelles et de festons non colorés et bien visibles, des pièces buccales allongées, des pattes marquées d'anneaux pâles (Fig. 7). Chez les femelles, la forme de la lèvre supérieure de l'ouverture de l'orifice génitale est en "U" (Walker et al., 2014).

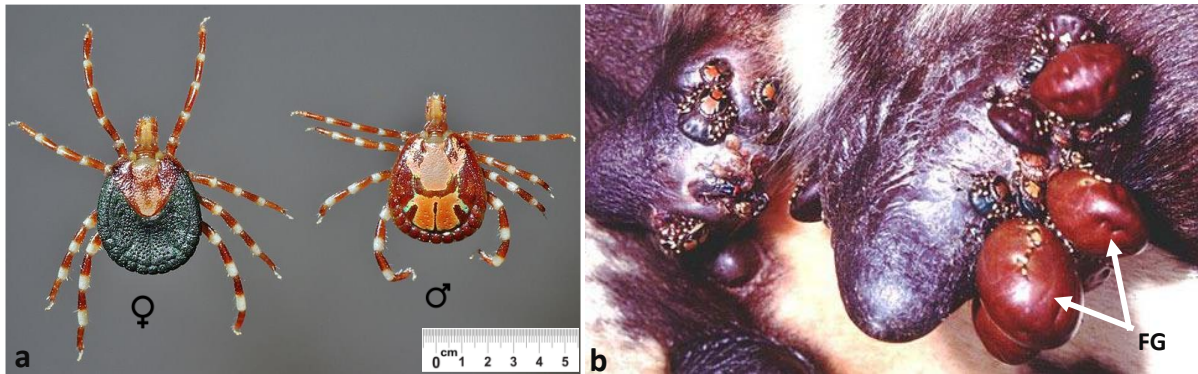


Fig. 7: a-*Amblyomma variegatum*, b-*Amblyomma variegatum* infestant les trayons d'une vache (Source : <https://commons.wikimedia.org>) FG : Femelles gorgées

Cycle biologique : le cycle de *A. variegatum* est triphasique (Fig. 8) et lié à l'alternance des saisons en zone tropicale. Les tiques adultes infestent les ruminants en début de saison des pluies, les larves infestent leurs hôtes en fin de saison des pluies et les nymphes sont observées en début de saison sèche (Stachurski, 2006). Elle est la principale vectrice de *Ehrlichia ruminantium* (anciennement appelée *Cowdria ruminantium*) à l'origine de la cowdriose (*heartwater*) chez les bovins, les ovins et les caprins. Elle transmet *Ehrlichia bovis*, *Theileria mutans*, *Theileria velifera* et *Rickettsia africae*, l'agent pathogène responsable de "African tick bite fever" (*fièvre à tique africaine*) chez l'homme (Kelly et al. 1996; Kelly et al. 2010).

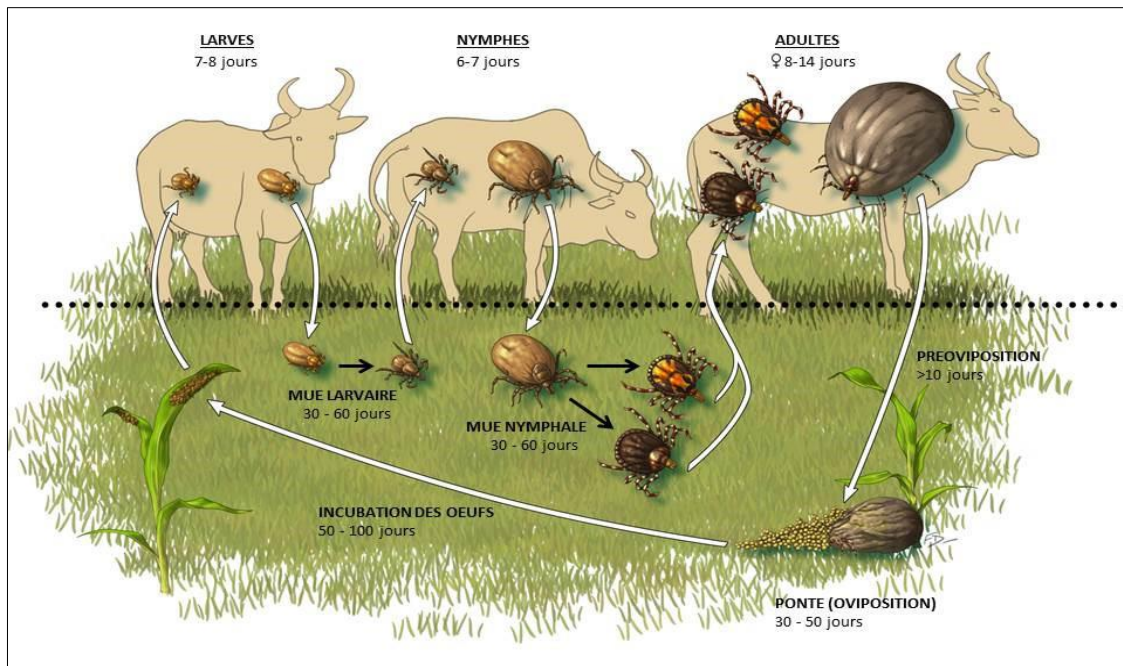


Fig. 8: Cycle biologique de *A. variegatum* (Source : Bournez, 2014)

Distribution : *A. variegatum* est la seule espèce d'*Amblyomma* présente en Afrique de l'Ouest et est largement répartie dans les Caraïbes et en Afrique Sub-Saharienne. On la retrouve dans différents écosystèmes séparés par d'importantes barrières géographiques; (Estrada-peña and Venzal, 2007). Sa répartition sur le continent Africain va des pays de l'Afrique de l'Ouest (ex : Sénégal, Burkina Faso, Bénin) en passant par la République Centrafricaine, le Sud du Soudan, et de l'Ethiopie jusqu'à l'extrême nord-ouest de la Somalie (Walker and Olwage a., 1987).

3.2. Le genre *Hyalomma*

Comptant 27 espèces identifiées à nos jours, le genre *Hyalomma* est considéré comme un genre mondial. On y trouve de nombreuses espèces parasites de bovins, de camelidés, d'ovins et de caprins. Les espèces du genre *Hyalomma* ont une grande importance médicale et vétérinaire à travers le monde (Nabeth et al., 2004; Mathison et al., 2015).

Morphologie : à jeun, les espèces du genre *Hyalomma* ont une taille comprise entre 5 et 6 mm. Elles se caractérisent par des pièces buccales allongées (tiques longirostres), des pattes bicolores présentant des anneaux pâles. Le scutum chez la femelle et le conscutum chez le mâle sont bruns et sans ornementation (excepté *H. lusitanicum*) (Fig. 9). En fonction des espèces, le scutum (ou conscutum) présente de fines ou grosses, denses ou rares punctuations. Le mâle possède des festons, mais ceux-ci ne sont pas distincts chez la femelle gorgée. Seul le mâle possède des plaques ventrales (généralement 3 paires distinctes). On trouve une paire d'éperons allongés sur le coxae 1.



Fig. 9: a-*Hyalomma* sp, b-*Hyalomma* sp infestant un hôte
(Sources : <https://influentialpoints.com/Gallery> ; <https://commons.wikimedia.org/wiki>)

Cycle biologique : Exemple de *H. marginatum rufipes* : c'est une sous espèce communément appelée hairy *Hyalomma* (*Hyalomma* poilue), considérée comme originaire du continent africain (Hoogstraal, 1956). Les stases immatures de *H. marginatum rufipes* peuvent rester fixés sur les oiseaux pendant plus de 16 jours. Ce qui favorise leur propagation sur de grandes distances. Cette tique est vectrice principale du virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (Hoogstraal, 1979). Elle est aussi vectrice de *T. annulata*, protozoaire parasite, agent de la theilériose tropicale chez les bovins (d'Oliveira et al., 1997). C'est une tique à deux hôtes (Fig. 10) avec une génération par an dans les conditions naturelles (Hoogstraal, 1979). En régions tropicales, les adultes sont abondants au début et au cours de la saison pluvieuse. Les stases immatures sont fréquentes pendant la saison sèche (Walker, 2003).

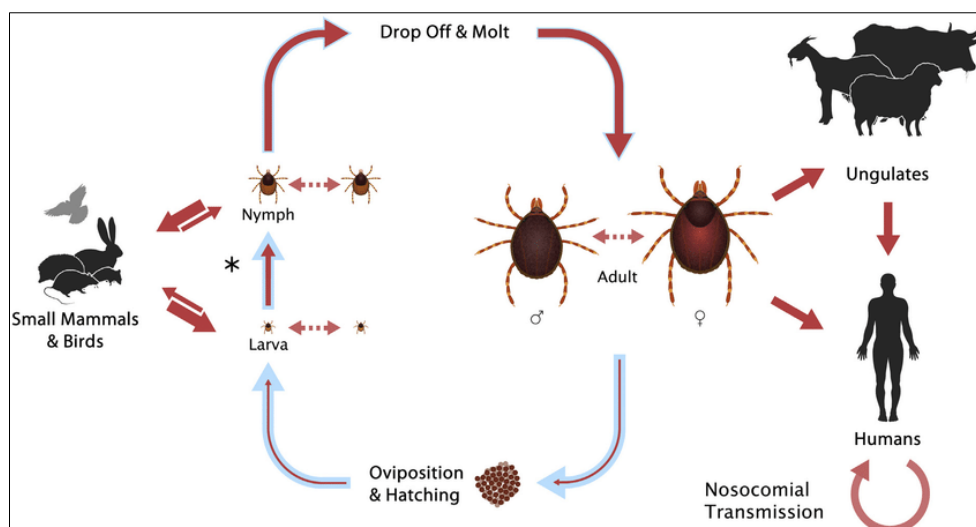


Fig. 10: Cycle biologique de *Hyalomma marginatum rufipes* (Source : Spengler et al., 2016)

Distribution : Les tiques du genre *Hyalomma* sont présentes en Europe du Sud, en Asie Mineure, en Arabie, en Asie centrale, du Sud et du Sud-Est, et en Afrique (Apanaskevich and Horak, 2008).

3.3. Le genre *Rhipicephalus*

En 2000, Walker et collaborateurs ont classé 77 espèces appartenant au genre *Rhipicephalus*, tandis que 6 espèces de *Rhipicephalinae* (*Boophilus microplus*, *B. geigy*, *B. annulatus*, *B. decoloratus*, *B. kohlsi*, *B. australis*) formaient le genre *Boophilus* à part. Les travaux de Murrell et al., (2000), Beati and Keirans, (2001) et de Murrell et al., (2001) ont démontré que le genre *Rhipicephalus* était paraphylétique incluant le genre *Boophilus* ; ce dernier étant monophylétique. Ainsi, Murrell et al., (2001) et Murrell and Barker, (2003) suggérèrent que le genre *Boophilus* soit considéré comme un sous genre de *Rhipicephalus* tout en conservant ses caractéristiques propres. Par conséquent, la nouvelle classification des tiques du genre *Rhipicephalus* présentée par Guglielmo et collaborateurs en 2010 considère 5 des espèces (anciennement) *Boophilus* dans le genre *Rhipicephalus*. Ces auteurs reconnurent alors 82 espèces dont 77 dans le genre *Rhipicephalus*, et 5 dans le sous-genre *Boophilus*. Estrada-Peña et al., (2012) firent une nouvelle description et un rétablissement de *B. australis* qui avait été confondue avec *B. microplus*.

Morphologie : Les espèces du genre *Rhipicephalus* sont caractérisées par un hypostome et des palpes courts, la base des pièces buccales (*Basis capituli*) est généralement hexagonale. Les mâles possèdent des plaques adanales. Exception faite de *R. dux*, *R. humeralis*, *R. maculatus* et *R. pulchellus*, leur scutum ne porte pas de dessins colorés (Fig. 11), d'où leur appellation "tiques brunes" (walker, 2003).

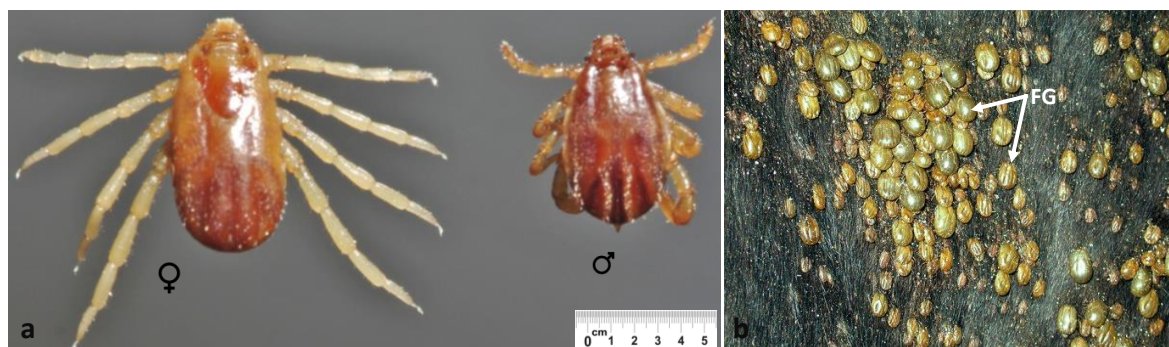


Fig. 11: a-*Rhipicephalus microplus*, b-*Rhipicephalus microplus* infestant un bovin, FG : Femelles gorgées (Source : <https://upload.wikimedia.org>; <http://coo.fieldofscience.com/2012/02/>)

Cycle biologique: Certaines espèces de *Rhipicephalus* (ex : *R. bursa*, *R. evertsi*) sont diphasiques obligatoires ou facultatives. De nombreuses autres espèces, plus celles du sous genre *Boophilus* (*B. microplus*, *B. geigy*, *B. annulatus*, *B. decoloratus*, *B. kohlsi*, *B. australis*) sont monophasiques obligatoires (Fig. 12) (Walker, 2003 ; Apanaskevich et al., 2013) . Les espèces du sous genre *Boophilus* présentent un grand intérêt économique et vétérinaire, du fait de leur résistance (notamment *R. microplus*) à de nombreuses molécules acaricides et à cause de leur implication dans la transmission de nombreux agents pathogènes. Dans les régions tropicales, *R. microplus* est reconnue comme la principale tique vectrice de *B. bovis*, et *B. bigemina*, agents de la babésiose tropicale. *R. annulatus* et *R. geigy* sont également impliqués dans la transmission de ces agents pathogènes, tandis que *R.*

decoloratus est associé à *B. bigemina* (Tableau 1) (Bock et al., 2004 ; Walker et al., 2003 ; Hagi et al., 2017; Ristic, 2018).

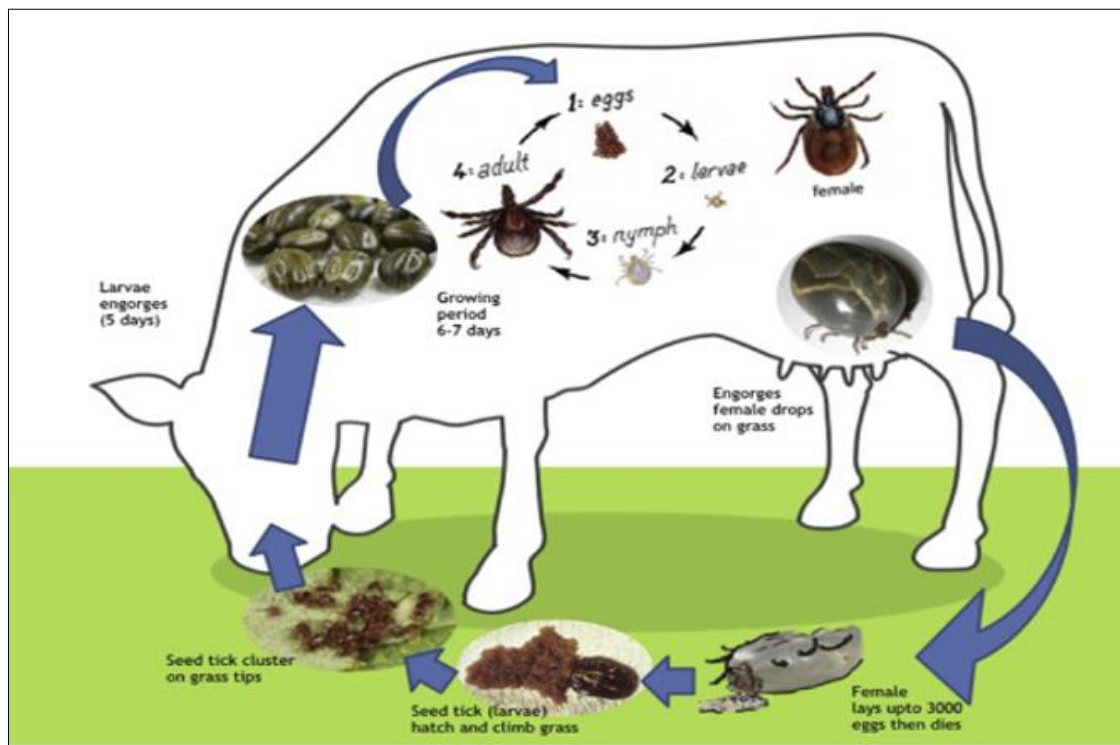


Fig. 12: Cycle biologique de *Rhipicephalus microplus* (Source : Jain et al., 2020)

Distribution : Des 82 espèces de *Rhipicephalus* décrites, environ 10 ont été retrouvées en Afrique de l’Ouest. *R. microplus*, récemment introduite en Afrique de l’Ouest, est présente dans de nombreuses autres parties du monde. Elle s’est répandue (majoritairement aux bovins) depuis le sud-est de l’Asie jusqu’en Amérique du Sud. En Afrique elle s’est établie surtout au sud et à l’est du continent, et est largement répandue à Madagascar.

3.4. Le genre *Haemaphysalis*

C’est le seul genre de la sous-famille des Haemaphysalinae, avec 168 espèces reconnues. Les connaissances sur les espèces du genre *Haemaphysalis* en Afrique de l’Ouest sont faiblement documentées.

Morphologie : La distinction entre le genre *Haemaphysalis* et les autres Ixodidae n’est pas encore totalement élucidée (Klompen et al., 1997). Ce sont des tiques de petite taille (moins de 3 mm) avec des pièces buccales courtes. Les yeux sont absents. La coxa I possède un seul éperon. Elles n’ont pas d’ornementations sur le scutum (Fig.13), les articles 2 des pédipalpes forment un triangle vers l’avant, le sillon anal est postérieur à l’anus (Walker et al., 2014).



Fig. 13: a-*Haemaphysalis* sp ; Infestation d'un hôte par *Haemaphysalis* sp, FG : femelles gorgées (Source : <https://www.google.com/imgres?imgurl=https>, *Haemaphysalis* sp.)

Cycle biologique : le cycle des *Haemaphysalis* est triphasique et peut durer de 1 à 3 ans, dépendant des espèces et des conditions climatiques. Les larves et les nymphes infestent le plus souvent les petits mammifères ; seulement quelques espèces infestent les animaux d'élevage (Jongejan and Uilenberg, 2004). Des espèces du genre *Haemaphysalis* sont vectrices de nombreux agents pathogènes. C'est le cas de *Haemaphysalis longicornis*, vectrice de *Babesia ovata*, *Babesia gibsoni*, *Rickettsia japonica*, *Theileria* spp. (Ohta et al., 1996; Jongejan and Uilenberg, 2004).

Distribution : le genre *Haemaphysalis* a une distribution cosmopolite. Il est particulièrement présent au sud-est de l'Asie avec 52 espèces soit 31% de la faune des *Haemaphysalis* dans le monde et faiblement représenté en Amérique (Petney et al., 2007).

4. Les agents pathogènes transmis par les tiques en Afrique de l'ouest

4.1. Les infections parasitaires : *Babesia* spp et *Theileria* spp.

Les genres *Babesia* spp. et *Theileria* spp. (phylum des Apicomplexa, ordre des Piroplasmida) sont des protozoaires parasites qui infestent les érythrocytes d'une variété d'hôtes vertébrés (Tableau 1). Certaines espèces de *Babesia* (e.g : *Babesia divergens*, *Babesia microti*) sont zoonotiques. Ces agents pathogènes sont transmis à leurs hôtes par des tiques de la famille des Ixodidae (Uilenberg and Goff, 2006 ; Hunfeld et al., 2008). Les maladies causées (Babésiose et Theileriose) aux animaux d'élevage suite aux infections par ces parasites sont d'une grande importance économique (Bock et al., 2004).

Le genre *Babesia* : les *Babesia* sont des parasites Apicomplexa, du sous-ordre des Piroplasmidea et de la famille des Babesiidae. Ils infectent exclusivement les érythrocytes sans production d'hémozoine (Hunfeld et al., 2008). La babésiose bovine (également appelée "fièvre à tiques", "fièvre du bétail", "fièvre du Texas", *red water disease*, piroplasmose...) est causée par six espèces de parasites : *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens*, *B. major*, *B. occultans* et *B. argentina*. *B. bigemina* (*African red water*) est l'espèce la plus répandue, et *B. bovis* (*Asiatic red water*) étant la plus pathogène (Ibrahim et al., 2013; Elsify et al., 2015). *B. bovis* et *B. bigemina* sont distribuées en Asie, en Afrique, en Australie, en Amérique centrale et du Sud, et en Europe du Sud (Criado-Fornelio et al., 2003; Altay et al., 2008; Silva

et al., 2009), tandis que *Babesia divergens* est plus répandue en Europe (Zintl et al., 2003; Bock et al., 2004). Les tiques vectrices des espèces tropicales les plus importantes sont *R. annulatus* et *R. microplus*, tandis que *R. decoloratus* ne transmet que *B. bigemina*. Une tique femelle infectée transmet l'infection à sa descendance (transmission transovarienne). De ce fait, les parasites du genre *Babesia* sont à même d'être transmis à l'hôte vertébré par toutes les stases (Chauvin et al., 2009).

Morphologie : Les *Babesia* ont été réparties en deux groupes selon leurs hôtes et selon la taille des mérozoïtes sur frottis sanguins colorés et observés au microscope photonique. Les petites formes de *Babesia* dont la taille des mérozoïtes est comprise entre 0,5-2,5 μ m ; et les grandes formes de taille comprise entre 3-5 μ m (Yabsley and Shock, 2013). L'observation microscopique d'un frottis sanguin coloré au Giemsa permet une visualisation intra-érythrocytaire des mérozoïtes. Ceux-ci sont en position (sub) centrale du globule rouge, mesurent de 1 à 4 μ m de diamètre et peuvent présenter diverses formes (Fig. 14). Les formes les plus courantes sont uniques ou multiples, arrondies ou piriformes et géminées avec la présence d'un noyau foncé périphérique. Parfois, des formes en tétrade, dites en croix de Malte peuvent être observées (Meliani et al., 2006).

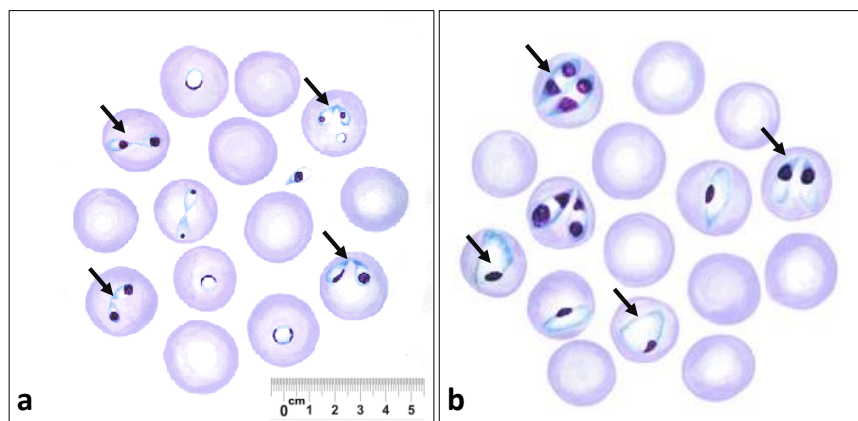


Fig. 14: Morphologie du genre *Babesia*, a-*Babesia bovis* ; b-*Babesia bigemina* (Source : <https://www.msdtvetmanual.com/en-au/circulatory-system/blood-parasites/babesiosis>)

Cycle biologique : On distingue deux phases : (i) la phase sexuée : elle se déroule chez la tique. La fusion des gamètes mâles et femelles (gamogonie) donne un zygote, qui évolue en ookinète dans la lumière du tube digestif. L'ookinète se développe dans des cellules diverses (épithélium digestif, muscles, hémocytes) pour former des sporokinètes (sporogonie) dont certaines infectent de nouvelles cellules, et d'autres qui migrent dans les glandes salivaires et forment des sporozoïtes, (ii) la phase asexuée : elle se déroule chez l'hôte vertébré. Les sporozoïtes infectent directement les érythrocytes, à l'intérieur desquels ils font une multiplication asexuée et forment des mérozoïtes (mérogonie) en forme de poire; ceux-ci éclatent les érythrocytes. Certains infectent de nouveaux érythrocytes, d'autres évoluent en gamontes qui seront absorbés par la tique lors d'un repas sanguin et le cycle reprend (Hunfeld et al., 2008) (Fig. 15).

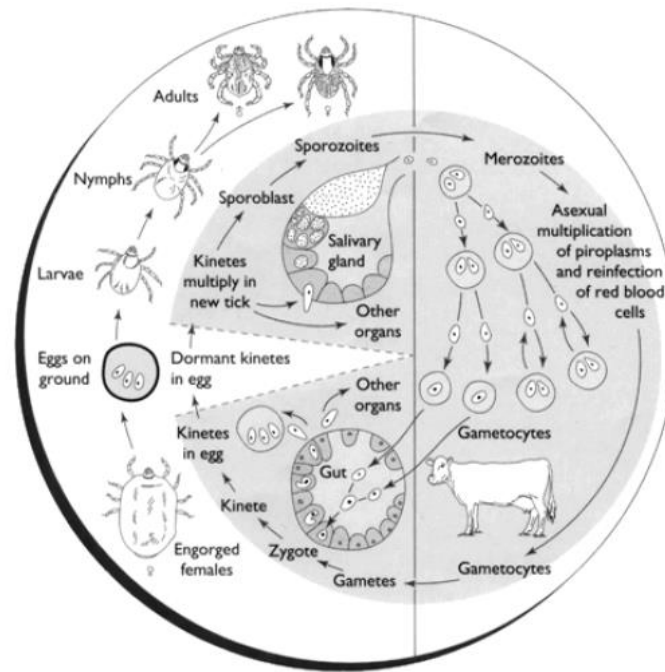


Fig. 15 : Cycle de *Babesia* spp (Source : Mehlhorn and Schein, 1998)

Symptômes : les animaux sauvages (e.g. buffles) et les bovins atteints de babésiose présentent une augmentation de température atteignant 40-41°C, une perte d'appétit, un arrêt de la rumination, une respiration laborieuse, différents degrés d'ictère allant de la pâleur dans les cas légers à une décoloration jaune sévère. L'hémoglobinurie, une anémie hémolytique progressive, l'accélération des rythmes cardiaque et respiratoire, la faiblesse et la réticence à bouger sont les symptômes développés surtout dans les cas les plus prolongés. La fièvre pendant les infections provoque dans certains cas des avortements chez les femelles gestantes (Mohamed and Ebied, 2014).

Le genre *Theileria* : Les espèces du genre *Theileria* infectent une large gamme d'animaux domestiques et sauvages et sont transmises par les Ixodidae des genres *Amblyomma*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma* et *Rhipicephalus* (Mans et al., 2015) (Tableau 1). Les *Theileria* sont uniquement transmises par voie transtadiale. Les larves ne sont donc pas infectieuses. Cependant, si elles acquièrent l'infection lors d'un repas sanguin, elles peuvent transmettre l'agent pathogène aux stases nymphale et adulte (Mehlhorn and Schein, 1998). Une classification basée sur la capacité des *Theileria* à transformer les leucocytes de leurs hôtes, permet de les regrouper en espèces "transformantes" et "non transformantes". Les espèces transformantes sont celles du groupe de *T. taurotragi*. La prolifération incontrôlée des schizontes aboutit à des pathologies telles que l'*East coast fever* (*T. parva*) et la theileriose tropicale (*T. annulata*) chez les bovins. Les *Theileria* "non transformantes" sont considérées comme étant bénignes, mais sont pourtant capables de causer des maladies résultant d'anémie induite par le stade de piroplasma (Sivakumar et al., 2014).

Morphologie : Dans les érythrocytes, les mérozoïtes de *Theileria* sont principalement en forme de bâtonnet, pouvant atteindre 2 μm de long et 1 μm de large (Fig. 16). On peut également observer des formes rondes, ovales ou en anneau. Il est fréquent d'observer plusieurs parasites par érythrocyte. Dans le cytoplasme des lymphocytes, deux types de schizontes peuvent être distingués : les macroschizontes et les microschizontes, tous deux d'une taille approximative de 8 μm , contenant respectivement jusqu'à 36 et 8 petits noyaux.

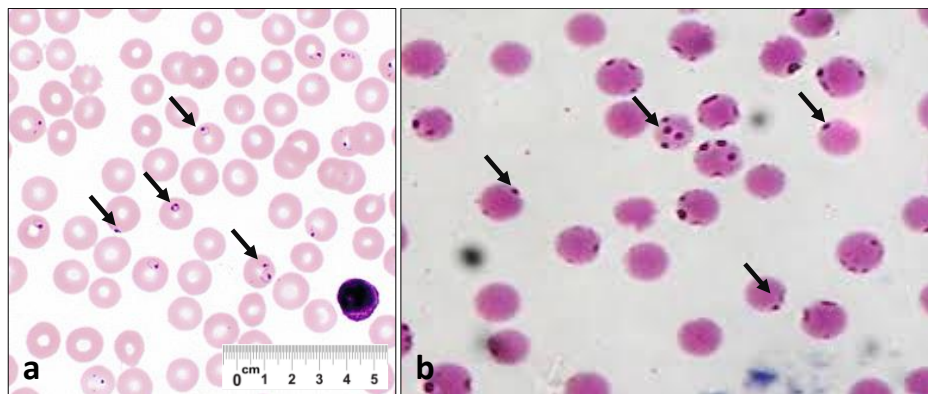


Fig. 16: Morphologie du genre *Theileria* a-*Theileria annulata* ; b-*Theileria* spp. (Source : Salih et al., 2015; Ahmed, 2016)

Cycle biologique : le cycle biologique des *Theileria* spp est semblable à celui des *Babesia* spp. Cependant une différence importante subsiste. Une fois dans l'organisme de l'hôte vertébré, les *Babesia* spp infectent directement les érythrocytes, tandis que les *Theileria* spp passent d'abord par une phase de vie pré-érythrocytaire shizogonique à l'intérieur des leucocytes (lymphocytes), avant la phase mérogonique dans les érythrocytes (Uilenberg and Goff, 2006 ; Hunfeld et al., 2008) (Fig. 17).

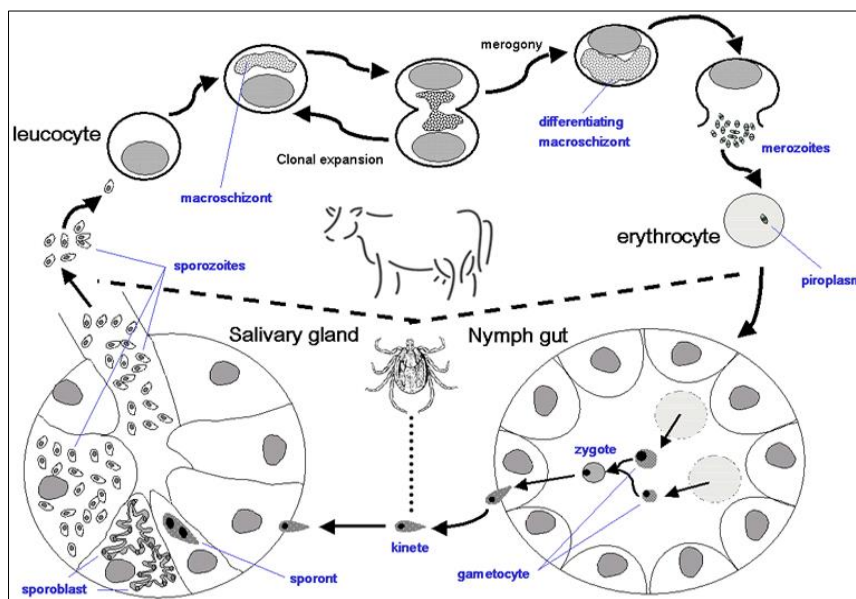


Fig. 17: Cycle biologique de *Theileria annulata* (Source : <http://www.theileria.org/ahdw/background.htm>)

Symptômes : les signes cliniques de la theileriose comprennent la fièvre, l'immunodépression, l'anorexie, la lymphadénopathie et une infection respiratoire bactérienne secondaire. On observe également un larmolement, une opacité cornéenne, un écoulement nasal et une diarrhée. Elle peut conduire à la mortalité chez les bovins si un traitement approprié n'est pas administré (Muhanguzi et al., 2014). Les bovins peuvent également développer une maladie extrêmement mortelle appelée *turning sickness* ou "Maladie de rotation". Dans ce cas, les capillaires du système nerveux central sont bloqués par les cellules infectées et entraînent des symptômes neurologiques (Rocchi et al., 2006). L'infection par *T. annulata* se caractérise par une forte fièvre, une faiblesse, une perte de poids, un manque d'appétit, une pétéchie conjonctivale, des ganglions lymphatiques hypertrophiés et une anémie. Le décubitus latéral, la diarrhée et la dysenterie sont également associés aux derniers stades de l'infection (Radostits et al., 2007).

Méthodes de diagnostic des *Babesia* spp. et *Theileria* spp. : (i) : A partir de frottis sanguins colorés au Giemsa : la sensibilité et la spécificité de l'identification des parasites à partir de l'observation microscopique des frottis sanguins dépendent de l'expérience et du professionnalisme de l'observateur. La grande difficulté est l'identification des parasites hors des cellules hôtes avec la présence de nombreux artefacts. Les espèces qui se concentrent dans les capillaires et les tissus (telle que *B. bovis*) sont plus facilement détectées dans le sang périphérique (collecté à partir de la pointe de l'oreille, du lit de l'ongle ou de la veine caudale), ou dans les frottis d'écrasement de certains organes tel que le cerveau (substance grise du cortex cérébral), la rate, le foie, ou les reins (Lefevre et al., 2010). Toutes les autres espèces sont mieux diagnostiquées à partir du sang veineux sédimenté (Lempereur et al., 2017). Cette méthode se base sur la reconnaissance des caractères morphologiques décrits plus haut. (ii) A partir de l'observation microscopique des glandes salivaires : *Babesia* spp et *Theileria* spp peuvent être détectées dans les glandes salivaires de la tique en utilisant la technique de Feulgen ou dans des coupes histologiques des glandes salivaires après coloration à l'aide d'un colorant basique. Cependant elles peuvent être différenciées uniquement par la polymérase chain reaction (PCR) (Lempereur et al., 2017). (iii) : A partir d'analyses moléculaires : les échantillons doivent être stockés à -20°C sauf s'ils sont utilisés dans les 72 h, auquel cas ils devraient être réfrigérés à 4°C. Les échantillons de rate peuvent aussi être stockés dans de l'éthanol 70%. Le sang peut être séché sur des cartes FTA (Flinders Technology Associations), ce qui permet un transport facile et un stockage à long terme (Rahikainen et al., 2016). L'extraction d'ADN des tissus et du sang peut être effectuée en utilisant les kits d'extraction d'ADN commerciaux. L'extrait d'ADN peut être stocké à 4°C pour un usage à court terme, et à -20°C à long terme. De nombreuses techniques de PCR conventionnelle et real-time PCR existent pour la détection de *Babesia* et *Theileria*. La sensibilité de ces techniques dépend des gènes cibles et de leur taille et peut permettre l'identification des genres et des espèces. De nombreuses amorces sont utilisées (Lempereur et al., 2017) et les gènes cibles sont 18S rRNA, HSP70, ITS1, CCTeta, Ema-1, et Tams. Le 18S est de loin le gène cible le plus communément utilisé (Chae et al., 1998; Katzer et al., 1998 ; Allsopp and Allsopp, 2006). (iv) : Le reverse line blot (RLB) : c'est une technique moléculaire qui peut

être utilisée pour amplifier, entre autres, des séquences communes aux genres *Babesia/Theileria* (18S rRNA gene) par des amorces génériques (RLB-F2/RLB-R2). Les amplicons sont ensuite dénaturés (ramenés sous forme simples brins) et des sondes spécifiques sont utilisées pour réaliser l'identification des espèces par hybridation (Nijhof et al., 2003 ; Nijhof et al., 2005). (v) A partir de méthodes indirectes tels que les tests sérologiques permettant de détecter des anticorps signalant un contact antérieur avec l'agent pathogène : le "Indirect Fluorescent Antibodies Test" (IFAT) reste le test de référence recommandé par l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE) pour la plupart des parasites d'importance économique. Cependant, l'inconvénient majeur de l'IFAT demeure le problème de spécificité, se traduisant par des réactions croisées entre des espèces proches. Cela a été observé entre les antigènes et les antiséras de *T. parva* et *T. taurotragi* (Mans et al., 2015) entre *B. bovis* et *B. bigemina* (Maharana et al., 2016). Un autre inconvénient est que les résultats dépendent d'une interprétation subjective de l'opérateur (Alvarez et al., 2019). Différents types d'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) sont utilisés pour détecter les anticorps de *B. bovis*, *B. bigemina* et *B. divergens*. Pour exemple, le *competitive Enzyme-linked immunosorbent assay* (cELISA) est basé sur la capacité des anticorps du serum à inhiber des anticorps monoclonaux (Goff et al., 2003). Le *immunochromatographic test* (ICT), ainsi que le *complement fixation Test* (CFT) sont également utilisés pour détecter les anticorps de *B. bovis* et *B. bigemina* (Madruga et al., 2000, Rhemrev-Boom et al., 2001, Alvarez et al., 2019) (vi). Des méthodes d'identification telles que la culture in vitro et le xénodiagnostic sont de moins en moins utilisées du fait que les techniques moléculaires connaissent une forte expansion (Lempereur et al., 2017).

Traitement de la babésiose et de la theileriose

Le contrôle de la babésiose bovine implique la lutte contre les tiques vectrices, l'immunisation des bovins (vaccin), l'utilisation des médicaments anti-babesia ou la combinaison de ces approches (Suarez and Noh, 2011). Les animaux malades doivent être traités le plus rapidement possible avec un médicament antiparasitaire. Le succès du traitement dépend d'un diagnostic précoce et de l'administration rapide de médicaments efficaces (Vial and Gorenflot, 2006). Un grand nombre de composés chimiques ont été rapportés comme étant efficaces contre les *Babesia* des bovins. Pendant de nombreuses années, les babésiacides : le sulfate de quinuronium, l'amicarbalide, l'acéturate de diminazène et le dipropionate d'imidocarbe ont été utilisés contre la babésiose bovine dans la plupart des pays européens. Le diminazène est largement utilisé dans les pays tropicaux à la fois comme babésiacide et trypanocide (Zintl et al., 2003; Vial and Gorenflot, 2006).

Diverses mesures prophylactiques rentables sont utilisées pour contrôler la theileriose et minimiser les pertes économiques des exploitations laitières à l'échelle mondiale. Un traitement antibiotique est généralement recommandé pour limiter ces infections secondaires (Minjauw et McLeod, 2003). La tétracycline a probablement été le premier composé chimiothérapeutique utilisé contre les theilerioses (et les babesioses). Cet antibiotique n'est efficace qu'aux premiers stades de l'infection et ne peut être

utilisé aux stades ultérieurs. Dans les années 1970, on a découvert le parvaquone et le buparvaquone (composés de naphtoquinone) qui sont plus efficaces et ont un large index thérapeutique (Gachohi et al., 2012). Ces composés de naphtoquinone sont non seulement efficaces pour guérir la theilériose mais peuvent également être utilisés en prophylaxie (Qayyum et al., 2010).

4.2. Les infections bactériennes : *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp.

Le genre *Anaplasma* : l'anaplasmose bovine est une maladie principalement causée par *Anaplasma marginale*, une bactérie Gram-négatif intracellulaire obligatoire (Rickettsiales: Anaplasmataceae), vectorisée par de nombreuses espèces de tiques. C'est l'une des maladies les plus nuisibles aux bovins, répandue dans l'Afrique subsaharienne (Rar and Golovljova, 2011 ; Debeila, 2013 ; Sisson et al., 2017). Au moins 20 espèces de tiques ont été signalées comme vectrices d'*A. marginale* dans le monde (Davidson et al., 2001; Kocan et al., 2004). En Afrique, les plus connues sont *Rhipicephalus* spp., et *Amblyomma* spp. (Harrison et al., 2011; walker et al., 2014) (Tableau 1).

Morphologie : sur les frottis sanguins colorés par les méthodes de Romanowsky, les *Anaplasma* apparaissent dans les érythrocytes sous forme d'inclusions rondes denses, homogènes, pourpre-bleuâtre, de 0,3-1,0 μm de diamètre. Chaque inclusion contient de 1 à 8 sous-unités ou corps initiaux, chacune ayant 0,3-0,4 μm de diamètre. Les corps d'inclusion de certaines espèces d'*Anaplasma* ont des appendices (Fig. 18).

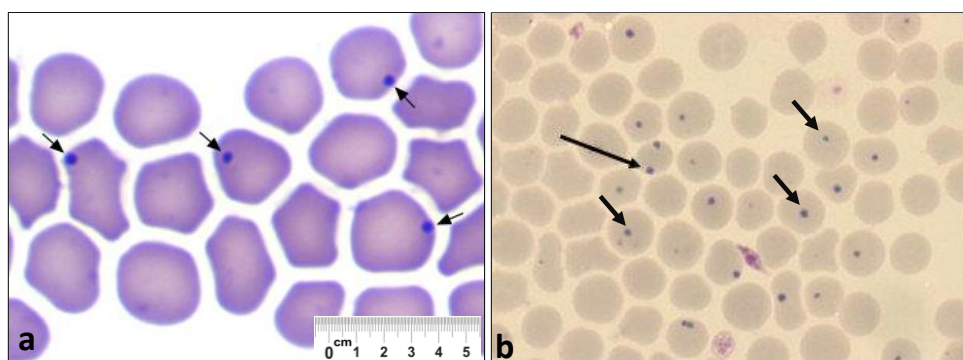


Fig. 18: Morphologie du genre *Anaplasma*, a-*Anaplasma marginale*, b-*Anaplasma centrale* (Source : Bell-Sakyi et al., 2015; <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/anaplasma-marginale>)

Cycle biologique : Chez la tique, le cycle de *A. marginale* est influencé par les repas sanguins (Kocan et al., 1992). Les érythrocytes infectés ingérés par la tique lors d'un repas sanguin, constituent la source de l'infection des cellules du tube digestif. *A. marginale* se réplique dans l'intestin. Ensuite, plusieurs tissus de la tique sont infectés y compris les glandes salivaires à partir desquelles il est transmis à un autre bovin au cours d'un repas sanguin (Kocan et al., 2004). Chez l'hôte vertébré, les érythrocytes sont le seul site d'infection connu de *A. marginale*. Dans les érythrocytes, les inclusions liées à la membrane (également appelées corps initiaux) contiennent entre 4 et 8 Rickettsiae et plus de 70% des érythrocytes

peuvent être infectés (Palmer et al., 1987). L'incubation dépend de la dose infectieuse et varie de 7 à 60 jours avec une moyenne de 28 jours (Kocan et al., 2010) (Fig. 19).

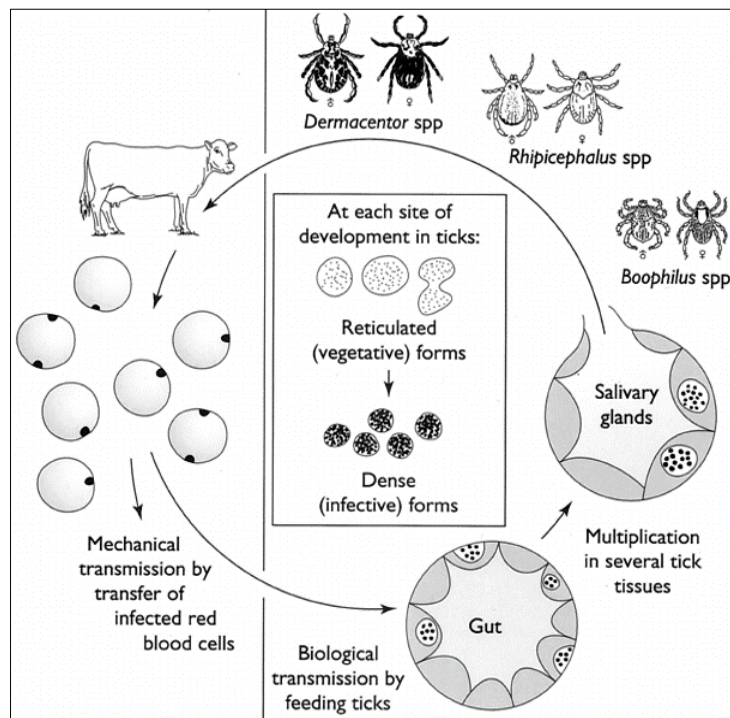


Fig. 19: Cycle d'*Anaplasma marginale* (Source : Kocan et al., 2003)

Symptômes : *A. marginale* est l'agent étiologique le plus courant de l'anaplasmose bovine. Il est hautement pathogène et provoque une maladie clinique caractérisée par la fièvre, l'anémie hémolytique, l'ictère, la baisse de la production laitière, l'anorexie, la dépression, l'avortement et la mort (Kocan et al., 2010). Les vaches laitières sont les plus touchées par l'anaplasmose pendant la lactation et la période péri-parturiente (Aubry and Geale, 2011 ; da Silva and da Fonseca, 2014). Ces symptômes peuvent être liés à une immunosuppression transitoire (Kehrli et al., 1989). Les bovins qui survivent à la maladie aiguë deviennent infectés de manière persistante et servent de réservoirs pour le maintien et la propagation de l'infection dans un troupeau (French et al., 1999). *A. marginale* est transmise biologiquement par des tiques Ixodidae ou par transfert direct de sang contaminé par des mouches piqueuses (e.g *Stomoxys calcitrans*) ou par du matériel chirurgical associé à l'écornage, la castration ou le tatouage, ainsi que par voie transplacentaire chez l'hôte vertébré (Raoult and Parola, 2007 ; Aubry and Geale, 2011).

Le genre Ehrlichia, exemple de Ehrlichia ruminantium : Rickettsia intracellulaire obligatoire, *E. ruminantium* est l'agent causal de la cowdriose, répandue en Afrique subsaharienne, dans les îles des Caraïbes et de l'océan Indien (Dumler et al., 2001). *E. ruminantium* est transmise de façon trans-stadiale chez les tiques du genre *Amblyomma*, mais une transmission transovarienne est observée uniquement chez *Amblyomma hebraeum* (Bezuidenhout and Jacobsz, 2014) et chez *R. microplus* (Biguezoton et al., 2016b).

Morphologie : *E. ruminantium* est une bactérie Gram-négatif, qui donne une coloration bleu-violacée au contact du Giemsa (Cowdry, 1925). De la même manière que chez toutes les espèces d'Anaplasmataceae, le développement a lieu dans une vacuole intracellulaire délimitée par une membrane bicouche lipidique, dérivée de la membrane de la cellule eucaryote hôte (Dumler et al., 2001). Les bactéries sont majoritairement sous forme de coques de taille variable allant de petite taille (0,4 nm), passant par taille moyenne (0,76 nm), à grande taille (1,04nm) ; et parfois très grande (>1,04nm). Dans les colonies contenant de grands organismes, on peut observer des formes pléomorphes (en fer à cheval, en anneau et bacillaire) (Pienaar, 1970).

Cycle de développement : *E. ruminantium* se reproduit principalement par scission binaire des corps réticulés (Pienaar, 1970; Prozesky and Plessis, 1985) tandis que les corps élémentaires représentent la phase infectieuse (Jongejan, 1991). Dans les cellules hôtes de la tique, l'observation au microscope électronique de *E. ruminantium* cultivé *in vitro* a révélé la présence des corps réticulés intracellulaires 2 à 4 jours après l'infection, des corps intermédiaires 4 à 5 jours après infection. Un grand nombre de corps élémentaires est observé après la rupture des cellules endothéliales 5 à 6 jours après infection (Jongejan, 1991). Chez l'hôte mammifère, les bactéries se reproduisent initialement dans les cellules réticulo-endothéliales dans les ganglions lymphatiques. La rupture de ces cellules libère des corps élémentaires qui infectent alors d'autres cellules endothéliales (Du Plessis, 1970). Après leur pénétration dans la cellule endothéliale par un processus semblable à la phagocytose, chaque bactérie se développe à l'intérieur d'une vacuole pour former une colonie, ce qui aboutit à la rupture de la cellule. Cela favorise la dissémination des corps élémentaires dans la circulation sanguine et le cycle continue (Prozesky and Plessis, 1985) (Fig. 20).

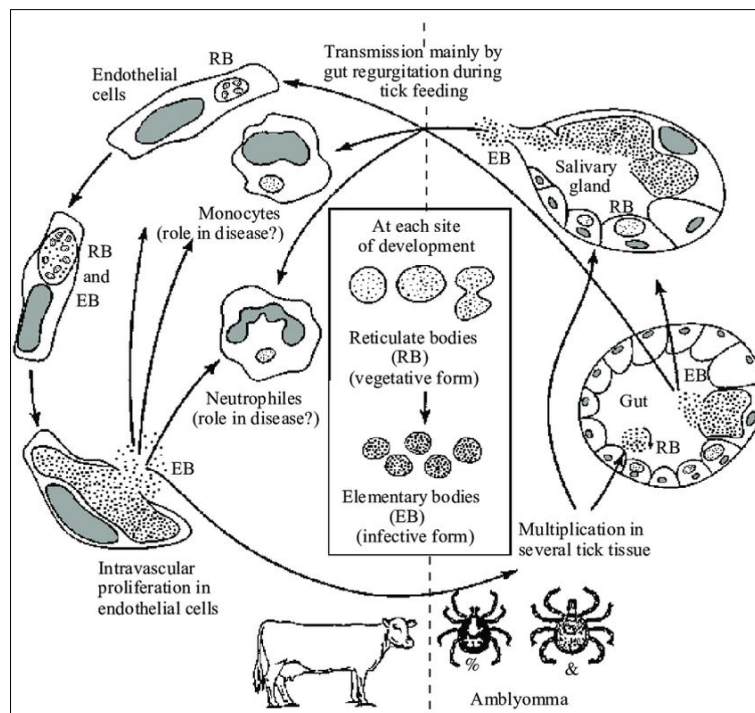


Fig. 20: Cycle biologique de *Ehrlichia ruminantium* (Source : Bekker, 2002)

Symptômes : La période d'incubation de la cowdriose est de 2 à 3, parfois 4 semaines. Plusieurs formes de la maladie ont été décrites. La gravité des symptômes et des lésions dépend fortement de l'espèce, de la race, de l'âge du ruminant infecté, ainsi que de la souche d'*E. ruminantium*. Dans la forme aiguë, la mort peut survenir dans les 24 heures sans autres symptômes qu'une hyperthermie et peut-être une certaine modification du comportement. Dans les formes aiguës et subaiguës, le premier symptôme est la modification du comportement et la détérioration de l'état général : le ruminant reste longtemps couché le matin, se tient à l'écart, a le poil ébouriffé, mange moins et présente une respiration rapide. La température corporelle peut atteindre rapidement 41°C et parfois 42°C (Stewart, 1987). Après cette période de faiblesse générale et de prostration, on observe généralement des difficultés respiratoires et des symptômes nerveux. Ces derniers (hypersensibilité, position couchée latérale, pédalage, convulsions) surviennent pendant quelques minutes en alternance avec des périodes de prostration calme. Dans la forme aiguë, l'animal meurt dans les 3 à 6 jours et la guérison n'intervient généralement pas dès lors que les symptômes nerveux sont observés. Des formes inhabituelles sont parfois observées, avec une diarrhée et sans symptômes nerveux, ou avec une faible hyperthermie. Dans la forme subaiguë, la modification de l'état général (prostration, perte d'appétit, et donc perte de poids) peut être le seul symptôme observé. Dans les 7 à 10 jours, en l'absence de symptômes nerveux, l'animal peut récupérer et les symptômes disparaissent. Une forme légère peut être observée avec seulement une pyrexie transitoire et même des cas sans aucun symptôme chez les animaux immunisés ou les races résistantes. Les formes ci-dessus décrites sont généralement observées chez les petits ruminants. Chez les bovins, les symptômes sont similaires mais la diarrhée est plus fréquente. Aucune lésion n'est pathognomonique bien qu'un hydropéricarde et un hydrothorax (transsudation de liquide jaune dans les cavités) soient souvent observés (Kardjadj et al., 2019).

Méthodes de diagnostic de *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp.

Exemple d'*A. marginale* : l'identification d'*A. marginale* peut se faire par l'observation microscopique de frottis de sang périphérique colorés au Giemsa. Cela permet la détection de corps intraérythrocytaires qui pourraient être différenciés par des propriétés morphologiques. Cependant cette méthode est appropriée à la détection d'*Anaplasma* chez les animaux suspectés de maladie clinique aiguë, mais elle n'est pas applicable dans le cas des animaux présymptomatiques (Carelli et al., 2007a). Plusieurs tests sérologiques ont été mis au point. En raison de la réactivité croisée des antigènes, ces tests ne permettent pas de distinguer les différentes espèces d'*Anaplasma* (Bradway et al., 2001 ; Dreher et al., 2005 ; Fuente et al., 2005). Les méthodes moléculaires, avec un haut degré de sensibilité et de spécificité, ont été développées pour distinguer l'ADN d'*A. marginale* (Carelli et al., 2007b ; Molad et al., 2006), de celui d'espèces proches telle que *A. centrale*. Par exemple la Nested-PCR et la PCR-RFLP qui utilise des amorces dérivées du gène 16S de l'ARN ribosomal et l'enzyme de restriction, l'endonucléase Bst1107 I (Noaman et al., 2009). Il y a également le RLB qui utilise des oligonucléotides spécifiques pour identifier les différentes espèces (Bekker et al., 2002) par hybridation selon la complémentarité des bases.

Exemple de *E. ruminantium* : seules les techniques de diagnostic moléculaire basées sur la PCR ont permis une identification fiable de *E. ruminantium*. Trois groupes de sondes peuvent être utilisés pour cibler la séquence génétique pCS20, le gène srRNA et le gène map1. La séquence génétique pCS20 était le premier gène cible à avoir été identifié particulièrement pour la détection de *E. ruminantium* (Waghela et al., 1991). Elle serait la plus sensible des sondes disponibles pour la détection de *E. ruminantium* et son usage a été étendu à la détection de la bactérie chez les animaux domestiques, sauvages et dans les tiques. Par ailleurs, il y a le RLB (cf diagnostic de *Theileria/Babesia*) qui cible le gène 16S rRNA avec des amorces génériques Ehr-F/Ehr-R (Bekker et al., 2002).

Traitement de l'anaplasmose et de l'ehrlichiose

Le traitement antimicrobien de l'anaplasmose bovine implique l'utilisation de la tétracycline et de l'imidocarbe (Richey, 1981), ainsi que de divers agents chimiothérapeutiques (e.g. des arsenicaux, des antipaludéens, des dérivés de l'antimoine...), qui ont peu ou pas d'effet sur l'anaplasmose aiguë (Potgieter et Stoltz, 2004). L'oxytétracycline et la chlortétracycline, utilisées aux doses thérapeutiques recommandées, sont efficaces pour réduire le niveau de bactériémie et limiter les effets cliniques mais n'éliminent pas les infections persistantes de manière fiable (Kocan et al., 2000).

Les tétracyclines, en particulier l'oxytétracycline est efficace pour traiter les infections à *E. ruminantium* si le traitement est précocement administré, c'est-à-dire, dès que la fièvre est observée, avant l'apparition des symptômes nerveux. Une seule injection intramusculaire d'une formulation d'oxytétracycline à action prolongée suffit à stopper la maladie et à guérir le ruminant qui sera ainsi immunisé et pourra devenir porteur asymptomatique de l'agent pathogène, au même titre que les animaux se rétablissant sans traitement. Il est nécessaire de prendre en compte le délai d'attente du médicament qui empêche la consommation des animaux traités. Si le traitement est mis en place trop tardivement, l'animal mourra et la viande ne sera pas comestible. Le traitement est parfois impossible lorsque des races trop sensibles sont infectées par des souches très virulentes d' *E. ruminantium* (Kardjadj et al., 2019). L'oxytétracycline est un antibiotique qui a une longue durée d'action et est également utilisée comme traitement prophylactique lorsque de nouveaux animaux sont introduits dans une zone endémique, afin d'assurer une protection tout en permettant aux animaux de développer une certaine immunité naturelle (Purnell et al., 1989).

4.3. Risques zoonotiques associés aux tiques et aux agents pathogènes transmis

Les techniques d'élevage pratiquées en Afrique de l'Ouest exposent les éleveurs à des risques de maladies zoonotiques causées par certains agents pathogènes transmis par les tiques. Du fait qu'ils fréquentent les biotopes propices aux tiques, les éleveurs sont exposés aux morsures des tiques non gorgées en recherche d'hôte. Les risques de maladies zoonotiques relatifs aux Piroplasmida sont peu documentés en Afrique de l'Ouest. Ces zoonoses sont surtout rapportées dans l'hémisphère nord. Les espèces zoonotiques de *Babesia* connues sont *B. divergens* en Europe, transmis par *Ixodes ricinus*, et *B. microti* principalement aux Etats-Unis transmis par *I. scapularis*. Récemment, plusieurs autres espèces

de *Babesia* (ex : *B. venatorum*) potentiellement pathogènes et phylogénétiquement apparentées à ces deux espèces principales ont été caractérisées chez des individus immuno-déprimés (Gray et al., 2009; Vannier and Krause, 2012). L'anaplasmose granulocytaire humaine et animale est due à *A. phagocytophilum*, présente dans les régions tempérées habitées par ces tiques vectrices *Ixodes* spp (Moutailler et al., 2015). L'ehrlichiose monocytaire humaine et canine, et l'ehrlichiose granulocytaire humaine et canine, sont respectivement induites par *E. chaffeensis* et *E. ewingii*. Leur principale tique vectrice est *A. americanum*, surtout présente aux Etats-Unis (Rar and Golovljova, 2011; Stuen et al., 2013). En Afrique de l'Ouest, les agents pathogènes à caractère zoonotique transmis par les tiques se rapportent surtout aux bactéries du genre *Rickettsia*, dont certaines espèces d'intérêt médical et vétérinaire ont été signalées dans cette zone. Au Sénégal, *Rickettsia conorii* et *Rickettsia felis* ont été mises en évidence chez des patients présentant une fièvre aigüe non malarique (Mediannikov et al., 2010a). D'autres espèces de *Rickettsia* (*R. africae*, *R. sibirica mongolitimonae*, *R. aeschlimannii*, *R. massiliae*) ont été identifiées dans différentes espèces de tiques (*H. marginatum rufipes*, *A. variegatum*, *R. annulatus*, *H. truncatum*...) au Sénégal, au Mali, au Niger, au Burkina Faso (Parola et al., 2001, Mediannikov et al., 2010a; Mediannikov et al., 2010b, Tomassone et al., 2016)

Depuis de nombreuses années, un nombre croissant d'arbovirus sont identifiés en Afrique, dont beaucoup sont connus pour induire des pathologies à caractère zoonotique, et fréquemment associés à des épidémies. Le virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (CCHFv) se caractérise par de petites épidémies d'infections potentiellement sévères et présente un risque d'infection émergente (Moutailler et al., 2015). Cette pathologie est considérée comme la maladie virale la plus importante et la plus répandue transmise à l'homme par les tiques (Bente et al., 2013). Le Thogotovirus (famille Orthomyxoviridae) responsable de méningo-encéphalites et d'hépatites, est vectorisé par *R. decoloratus*, *A. variegatum*, *Rhipicephalus* spp, *Hyalomma* spp. Le Nairovirus Dugbe (famille Bunyaviridae) est transmis par *A. variegatum* (Hubálek and Rudolf, 2012). Pourtant, l'étude des virus transmis par les tiques reste un domaine de recherche encore largement inexploré dans la sous-région ouest-africaine. La plupart des travaux sur les virus transmis par les tiques dans cette partie du continent ont été réalisés dans le cadre d'activités de recherche en santé humaine, et plus rarement en santé animale.

5. Contrôle des populations de tiques

Au cours des cent dernières années, la lutte contre les tiques a été essentiellement basée sur l'utilisation de composés acaricides (George et al., 2004). Les méthodes d'application varient en fonction de la nature des acaricides. Les bains détiqueurs arsenicaux furent utilisés dans la lutte contre *R. appendiculatus* en Afrique du Sud (George et al., 2004). Dans les années 1940s, les organochlorés (ex : DDT) puis les organophosphorés (coumaphos, diazinon, chlorpyrifos...) furent progressivement remplacés par l'amitraz, les pyrèthrinoïdes de synthèse, le fipronil ou les lactones macrocycliques (ivermectine, abamectine, sélamectine...). Ces produits étaient utilisés sous forme d'émulsions applicables par bain, douche ou pulvérisation. Plutard des formulations « pour-on » (produit à

application topique dorsale) furent développées, notamment avec la fluméthrine (Boulanger and Stachurski, 2015). En Afrique de l'Ouest, les éleveurs combattent les tiques généralement de façon empirique (détiquage manuel), puis de plus en plus par l'emploi d'acaricides appliqués avec des pulvérisateurs portatifs (Boulanger and Stachurski, 2015) ou manuels et par badigeonnage.

5.1. Groupes d'acaricides, modes d'action et mécanismes de résistance des tiques

Les organochlorés : les organochlorés correspondent à une large gamme de produits chimiques qui contiennent du carbone, du chlore (ex : DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane) et parfois plusieurs autres éléments. Ce sont des composés stables, liposolubles et bioaccumulables. Leur mode d'action impliquerait une liaison au complexe GABA (γ -aminobutyric acid) chloride ionophore des arthropodes. Ce qui inhibe le flux d'entrée des ions Cl^- à l'intérieur du nerf. Lorsque la fonction des neurones inhibiteurs est altérée, il en résulte une hyperexcitation qui finit par provoquer la mort de la tique (Hope et al., 2010).

Les organophosphates et les carbamates : les organophosphates sont des substances chimiques qui sont produites par le processus d'estérification entre l'acide phosphorique et l'alcool (ex : Diazinon). Les organophosphates sont en mesure de se lier de manière irréversible à l'acétylcholinestérase (AChE) et d'empêcher la dégradation de l'acétylcholine (ACh). Les carbamates sont semblables aux organophosphates. Ce sont des dérivés de l'acide carbamique (ex : Carbaryl) provoquant la carbamylation de l'AChE au niveau des synapses neuronales (Adeyinka et al., 2021). Au contact de ces composés, les tiques ne disposent plus d'AChE pour permettre la dégradation de l'acétylcholine. Alors le neurotransmetteur continue de provoquer l'excitation des neurones. Il en résulte une stimulation excessive du système nerveux et finalement, l'araignée meurt (Abbas et al., 2014, Nagar et al., 2018). Chez les arachnides, l'insensibilité de l'AChE est considérée comme le principal mécanisme d'émergence de la résistance aux organophosphates et aux carbamates. C'est le cas de la résistance de la souche mexicaine de *R. microplus* au coumaphos, au chlorpyrifos et au chlorphenvinphos (Rosario-Cruz et al., 2009, Pérez-González et al., 2014). Par ailleurs, il y a l'apparition de souches résistantes par suite de mutations. Par exemple, six mutations différentes ont été observées chez *R. microplus* (Temeyer et al., 2007). La substitution de la glutamine (Q) par l'arginine (R) à la position 86 de la séquence du gène BmAChE3 est la plus courante (Corley et al., 2013, Abbas et al., 2014).

Les amidines (Amitraz) : ce sont des analogues azotés des acides carboxyliques contenant deux atomes d'azote dans les groupes fonctionnels amide et imine. Structurellement, elles correspondent à l'équivalent aminé des esters carboxyliques (imidates d'acides carboxyliques) (Yang Quek et al., 2013). L'amitraz aurait un effet toxique sur l'octopamine, un récepteur du neuromodulateur. (Ducornez et al., 2005, Chen et al., 2007). Corley et al., (2013) ont découvert qu'il y avait deux substitutions de nucléotides dans le récepteur de l'octopamine chez les souches résistantes de tiques, donnant des acides aminés différents de ceux de toutes les souches sensibles. La découverte de ces mutations uniquement chez les tiques résistantes, suggère la modification du site d'action de l'amitraz comme mécanisme de résistance.

Cependant le mécanisme exact de la résistance des tiques à l'amitraz est encore méconnu (Guerrero et al., 2012, Pohl et al., 2012).

Les pyréthrinés/pyréthrinoides: les pyrethrines sont des composés naturels dérivés des plantes de la famille des chrysanthèmes. Elles ont un effet toxique rapide sur les arachnides, mais sont instables dans l'environnement et ne peuvent donc pas être actives assez longtemps pour neutraliser les tiques. Les pyréthrinoides sont des adaptations synthétiques des pyréthrinés, spécifiquement conçues pour être plus stables que les pyréthrinés et avoir un effet plus durable. Ils agissent sur les canaux ioniques sodiques et provoquent une excitation nerveuse en modifiant la perméabilité des membranes nerveuses aux ions sodium et potassium. Abbas et al., (2014) ont mis en évidence une mutation au niveau du canal des ions Na⁺. Cette mutation diminue considérablement la sensibilité du canal aux pyréthrinoides.

Les lactones macrocycliques : les lactones macrocycliques comprennent les avermectines et les milbémycines. Elles proviennent de la fermentation naturelle d'actinomycètes du genre *Streptomyces*. Les avermectines sont produites par le microorganisme du sol, *Streptomyces avermitilis* (Campbell et al., 1984), tandis que les milbémycines ont été décrites pour la première fois à partir d'une culture de *Streptomyces hygroscopicus* et sont structurellement similaires aux avermectines (Takiguchi et al., 1980). Les lactones macrocycliques bloquent la transmission de l'activité électrique dans les nerfs et les cellules musculaires en stimulant la libération et la liaison de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) au niveau des terminaisons nerveuses (Bloomquist, 2003). Cela provoque un afflux d'ions chlorure dans les cellules conduisant à une hyperpolarisation et à une paralysie des systèmes neuromusculaires (Bloomquist, 2003). En raison d'une utilisation intensive, une résistance partielle a été observée chez *R. microplus*, mais le mécanisme exact est encore méconnu (Perez-Cogollo et al., 2010, Lovis et al., 2013). Cependant, sur la base de l'hypothèse du mécanisme de résistance des nématodes aux lactones macrocycliques, Lovis et al., (2013) ont conclu que la résistance des tiques pourrait être due à l'insensibilité des canaux ioniques chlorure à l'action de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA).

Tableau 2 : Quelques cas de résistance de tiques de bétail

Acaricide	Pays	Espèce de tique	Référence
Organochlorines			
DDT	Sri Lanka	<i>R. m</i>	Bandara and Karunaratne, 2017
Dieldrin	Australia	<i>R. m</i>	Hope et al., 2010
	Ethiopia	<i>R.d; R.spp.</i>	Regassa and de Castro, 1993
Lindane	Uruguay	<i>R. m</i>	Castro Janer et al., 2019
	Brazil	<i>R. m</i>	Castro Janer et al., 2019
	Tanzania	<i>R. m; B.d; A.spp.; R.spp.</i>	Kagaruki, 1991
Toxaphene	Ethiopia	<i>R. d</i>	Regassa and de Castro, 1993
Organophosphates			
Dioxathion	Zimbabwe	<i>R. d</i>	Abbas et al., 2014
Dimethoate	Zambia	<i>R. d; R.spp.</i>	Luguru et al., 1987
Phenylpyrazole			

Fipronil	Uruguay	<i>R. m</i>	Castro Janer et al., 2019
	Brazil	<i>R. m</i>	Castro Janer et al., 2019
	Brazil	<i>R. m</i>	Klafke et al., 2017
Carbamates			
Carbaryl	Jamaica	<i>R. m</i>	Rawlins and Mansingh, 1978
Formamidines			
Amitraz	Mexico	<i>R. m</i>	Rodriguez-Vivas et al., 2013
	Bénin	<i>R. m</i>	Adehan et al., 2016a
	Brazil	<i>R. m</i>	Klafke et al., 2017
Pyrethroides			
Alpha cypermethrin	Bénin	<i>R. m</i>	Adehan et al., 2016a
Cypermethrine	Ouganda	<i>R. ap</i>	Vudriko et al., 2016
	Zimbabwe	<i>R. d</i>	Abbas et al., 2014
	Brazil	<i>R. m</i>	Klafke et al., 2017
Deltamethrine	Bénin	<i>R. m</i>	Adehan et al., 2016a
	Ouganda	<i>R. ap</i>	Vudriko et al., 2016
	Brazil	<i>R. m</i>	Martins Joao et al., 1995
Macrocyclic lactones			
Avermectine	Brazil	<i>R. m</i>	Abbas et al., 2014
Ivermectine	Mexico	<i>R. m</i>	Perez-Cogollo et al., 2010

R. m : *Rhipicephalus microplus*, *R. d* : *Rhipicephalus decoloratus*, *A. spp* : espèces de *Amblyomma*, *R. spp.* : espèces de *Rhipicephalus*, *H. spp.* : espèces de *Hyalomma*, *R. ap* : *Rhipicephalus appendiculatus*

Pour pallier les effets néfastes des acaricides (présence de résidus de produits chimiques dans le lait et la viande, destruction des organismes non-cibles, la pollution de l'environnement, émergence des souches de tiques résistantes) d'autres méthodes de lutte ont été développées.

5. 2. Autres méthodes de contrôle des tiques

Lutte écologique : elle vise à réduire les possibilités de contact entre les tiques et leurs hôtes. Les méthodes utilisées ont pour objet d'empêcher le développement de l'acarien par une action directe ou indirecte sur sa natalité ou sur sa mortalité sans utilisation d'acaricide (Cuisance et al., 1994). Exemple : il a été constaté que les femelles gorgées de *R. microplus* se détachent en grand nombre le matin, lorsque les bovins se remettent à bouger après une nuit de repos. On peut alors obliger les animaux à marcher pendant quelques dizaines de minutes dans un espace non propice à la survie des tiques et/ou à l'éclosion des œufs. Ce qui réduirait le nombre de femelle qui serait disséminées dans le milieu et limiterait l'infestation des prairies (Bianchi and Barré, 2003). Les adultes d'*A. variegatum* sont peu actifs pendant la nuit. Par conséquent, favoriser le pâturage nocturne dans les systèmes d'élevage où cela est possible réduirait l'infestation des animaux (Barré, 1988). Les nymphes d'*A. variegatum* se détachent de leurs hôtes pendant l'après-midi. Si les bovins sont, à ce moment-là, retirés des pâturages et placés dans des parcs ou dans des champs, milieux défavorables à la survie des tiques, l'infestation des savanes par les tiques adultes serait réduite et l'usage des acaricides limité (Stachurski and Adakal, 2010). Certaines plantes sont répulsives ou toxiques pour les tiques. Leur plantation pourrait permettre d'éliminer une partie des tiques disséminées par les hôtes (Cuisance et al., 1994).

Lutte génétique : elle peut se faire par la sélection des animaux naturellement résistants aux tiques. Des programmes de sélection de races bovines productives et résistantes à *R. microplus* ont été mis en place en Australie (Utech and Wharton, 1982 ; Reason, 1983 ; Alexander et al., 1984) où il a été montré que l'héritabilité de la résistance à cette tique était suffisamment importante pour permettre la sélection (Hewetson, 1972). C'est ainsi que des races comme la Frisonne Sahiwal australienne (AFS) ou le zébu laitier australien (AMZ) ont été conçues. En Afrique, d'importantes variations des niveaux d'infestation intra-races ont été observées (Rechav, 1992 ; Stachurski, 1993). Une tentative de sélection d'individus peu infestés par la tique *A. variegatum* n'a pas été concluante (Stachurski, 2007). En effet, dans le cas de la tique *R. microplus*, des infestations successives permettent le développement d'une immunité entraînant l'élimination d'une partie des tiques fixées, notamment les stases larvaires (Hewetson, 1972). Au contraire, des bovins régulièrement infestés par des adultes d'*A. variegatum* ne développent pas une telle immunité (Norval, 1992 ; Stachurski, 2000), les tiques se gorgeant même de mieux en mieux.

Lutte biologique: cette méthode implique l'utilisation de prédateurs. C'est le cas des oiseaux africains du genre *Buphagus* spp. (piquebœufs) qui peuvent ingérer 15 g de tiques en une journée (Bezuidenhout and Stutterheim, 1980). Elle peut aussi impliquer des parasitoïdes tels que les hyménoptères du genre *Ixodiphagus* connus comme des destructeurs naturels de tiques, certains microorganismes pathogènes pour les tiques comme la bactérie *Cedecea lepagei* vis-à-vis de *R. microplus*, des champignons et des nématodes entomopathogènes. Cependant cette méthode se heurte jusqu'à présent à de grandes difficultés de mise en œuvre pratique (Ginsberg, 2014).

Vaccination anti-tique : il existe une approche consistant à cibler uniquement les protéines de tique impliquées dans la prise du repas sanguin c'est-à-dire dans la transmission des agents pathogènes, et une autre approche combinant à la fois des protéines de tiques et celles des agents pathogènes (Bonnet et al., 2015). L'immunisation de bovins avec une forme recombinante d'une protéine du tube digestif de *R. microplus* (Bm86) perturbe la prise du repas sanguin et induit ainsi une très forte diminution de l'oviposition (Bonnet et al., 2015). Son efficacité est très variable en fonction des populations de *R. microplus* (de la Fuente and Kocan, 2013).

Objectifs

OBJECTIFS

Cette thèse s'inscrit dans le cadre du projet de recherche-développement « Appui aux réseaux d'épidémiosurveillance des maladies animales et aspects sociologiques associés en Afrique de l'Ouest » (Acronyme : Transticks) (financé par l'ARES) initié par l'Université de Liège (Belgique), en collaboration avec le Centre Internationale de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES) (Burkina Faso). Le volet parasitologique de ce projet constitue l'objectif général de notre étude, qui est d'élucider l'influence de la transhumance bovine, entre le BF et le BN, sur la dissémination des tiques et des agents pathogènes associés, et d'évaluer leurs implications zoonotiques. Les objectifs spécifiques sont : (i) Caractériser une zone de départ de la transhumance, Est du BF, et une zone d'arrivée, Nord BN, à travers la réalisation d'une étude transversale sur des échantillons de bovins de part et d'autre de ces deux zones frontalières. Le but étant d'y identifier les différentes espèces de tiques, leurs abondances, et de déterminer les prévalences des agents pathogènes associés à un temps "T". (ii) Déterminer l'influence de la transhumance saisonnière sur la dissémination des tiques et agents pathogènes associés, à travers un suivi longitudinal de bovins sur une saison de transhumance. L'objectif poursuivi est d'identifier les espèces de tiques transportées par les bovins depuis l'Est du BF vers le Nord BN et vice-versa, et de déterminer l'influence de ces échanges sur les prévalences des agents pathogènes circulant dans ces zones (iii) Réaliser la caractérisation moléculaire d'espèces virales hébergées par les tiques collectées à l'Est BF. Pour élucider les implications zoonotiques liées aux agents pathogènes transmis par les tiques, l'attention a été mise sur de potentiels arbovirus circulant dans la zone. Les tiques ont été utilisées comme organismes sentinelles. Un échantillon de tiques collectées sur des bovins a été soumis à la recherche de diverses espèces virales à caractère zoonotique et impliquées dans des problèmes de santé publique à travers le monde. (iv) Déterminer le statut de résistance de quelques espèces de tiques (d'intérêt vétérinaire) aux produits acaricides les plus couramment utilisés par les éleveurs du sud-ouest du BF. Il s'agissait d'étudier la résistance de *A. variegatum* et de *R. microplus* aux pyréthrinoïdes de synthèse (deltaméthrine, cyperméthrine). Le but étant de répondre aux préoccupations des éleveurs, liées à des cas d'inefficacité d'acaricides, rapportés suite à l'invasion de la région par la tique *R. microplus* à la fin de l'année 2011.

Ces quatre objectifs spécifiques ont fait l'objet de quatre publications scientifiques, présentées dans la section expérimentale, respectivement en étude 1,2,3 et 4.

Section expérimentale

Section expérimentale

Etude 1 :

Tiques et agents pathogènes associés au Burkina Faso et au Bénin : expansion apparente de *Rhipicephalus microplus* au Nord du Bénin et première mise en évidence de *Theileria velifera* et *Theileria*

Préambule

Le cheptel de la région du Sud-Ouest du BF a été envahi par la tique *R. microplus* suite à des mouvements de transhumance entre le sud du BF et le nord de la Côte d'Ivoire. Ensuite cette tique s'est progressivement disséminée jusqu'au centre du pays. Dans la région de l'Est, très peu d'informations sont disponibles sur les tiques et les agents pathogènes transmis, en dépit des mouvements de transhumance avec le Nord BN. Cette étude transversale a pour objectif de caractériser (tiques et agents pathogènes associés) une zone de départ de la transhumance (Est BF), et une zone d'arrivée (Nord BN) à un temps "T". Des prélèvements de tiques et de sang ont été effectués sur les bovins dans la même période de l'année (saison sèche, Décembre 2016-Février 2017). Au total, huit espèces de tiques ont été identifiées à l'Est BF et neuf au Nord BN. L'espèce *A. variegatum* était la plus abondante et la plus répandue dans les deux zones. C'est la seule espèce de tique pour laquelle des stades immatures (nymphe) ont été collectés. Il n'y avait pas de différence significative entre les charges en tiques portées par les bovins des deux zones. La tique *R. microplus* n'a pas été identifiée à l'Est BF, tandis qu'au Nord BN, c'était la deuxième espèce la plus collectée après *A. variegatum*. Notre collecte a montré que son expansion s'est davantage étendue vers le Nord BN, comparativement à sa distribution précédemment connue. Six espèces d'agents pathogènes transmis par les tiques ont été mises en évidence dans chacune des deux zones. *T. mutans* et *T. velifera* étaient les agents pathogènes les plus prévalents. La technique du reverse line blot (RLB) suivi de séquençage, nous a permis de mettre en évidence pour la première fois au BF et au BN, des séquences partielles du gène 18S de *T. velifera* (MT250264.1) et *T. annulata* (MT259958.1). Les départements du Borgou et de la Donga présentaient les prévalences d'agents pathogènes les plus élevées tandis que les plus faibles prévalences étaient enregistrées au niveau de la Tapoa et du Gourma. Les prévalences globales des agents pathogènes détectés étaient significativement plus élevées au Nord BN qu'à l'Est BF.

Section expérimentale

Etude 1 :

Cattle ticks and associated tick-borne pathogens in Burkina Faso and Benin: apparent northern spread of *Rhipicephalus microplus* in Benin and first evidence of *Theileria velifera* and *Theileria*

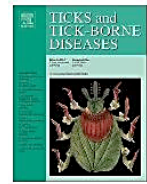
Ticks and Tick-borne Diseases, 2021,

Achille S. Ouedraogo, Olivier M. Zannou, Abel S. Biguezoton, Kouassi Patrick Yao, Adrien Belem, Souaïbou Farougou, Marinda Oosthuizen, Claude Saegerman, Laetitia Lempereur



Contents lists available at ScienceDirect

Ticks and Tick-borne Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ttbdis

Cattle ticks and associated tick-borne pathogens in Burkina Faso and Benin: Apparent northern spread of *Rhipicephalus microplus* in Benin and first evidence of *Theileria velifera* and *Theileria annulata*

Achille S. Ouedraogo^{a,b,*}, Olivier M. Zannou^{b,c}, Abel S. Biguezoton^b, Patrick Y. Kouassi^d, Adrien Belem^e, Souaibou Farougou^f, Marinda Oosthuizen^g, Claude Saegerman^c, Laetitia Lempereur^h

^a Center for Fundamental and Applied Research for Animal and Health (FARAH), Faculty of Veterinary Medicine, ULiège, 4000 Liège, Belgium

^b Vector-borne Diseases and Biodiversity Unit (UMaVeB), International Research and Development Centre on Livestock in Sub-humid Areas (CIRDES), 454 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

^c Research Unit in Epidemiology and Risk Analysis applied to veterinary sciences (UREAR-ULg), Fundamental and Applied Research for Animal and Health (FARAH) Center, Department of Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, ULiège, 4000 Liège, Belgium

^d UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny, BP V34, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

^e Institut du Développement Rural (IDR), Université Nazi BONI, 01 BP 1091, Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

^f Unité de Recherche sur les Maladies Transmissibles, Université d'Abomey-Calavi, BP 01 BP 2009 Cotonou, République du Bénin

^g Department of veterinary Tropical Diseases, Faculty Veterinary Science, University of Pretoria, 0110 Onderstepoort, South Africa

^h Federal Public Service Public Health, food safety & environment, President services, Research coordination, Place victor Horta 40, 1060 Brussels, Belgium

ARTICLE INFO

Keywords:

Ticks
Tick-borne pathogens
Cattle
Burkina Faso
Benin
Rhipicephalus microplus

ABSTRACT

Babesiosis, theileriosis, anaplasmosis, and heartwater are tick-borne diseases that threaten livestock production in sub-Saharan Africa including Burkina Faso and Benin. For over a decade, these two bordering countries have been facing an invasion of the livestock by the tick *Rhipicephalus microplus*, a major vector for babesiosis, accidentally introduced in Benin in 2004. The molecular identification of tick-borne pathogens in this border area is of particular interest due to animals seasonal migration between the two countries. In this survey, epidemiological features of ticks and tick-borne pathogens in cattle were investigated to compare the eastern Burkina Faso, corresponding to a seasonal migration departure zone, and the northern Benin, which represents a seasonal migration arrival zone. Ticks and peripheral blood were collected from a total of 946 cattle in the two areas. Ticks were morphologically identified and the DNA samples from bovine blood and ticks were analysed by Reverse Line Blot (RLB) hybridization process. A total of 2856 ticks were collected on 490 cattle in Burkina Faso, eight tick species were identified, while 3583 ticks were collected on 456 cattle in North Benin with nine tick species identified. The invasive tick, *R. microplus* was not found in eastern Burkina Faso, but its spread farthest north in Benin is reported. Six tick-borne pathogen species were found in cattle blood both in eastern Burkina Faso and in northern Benin. Ranked in decreasing order of overall prevalences, they are: *Theileria mutans* (91.1%), *Theileria velifera* (77.8%), *Babesia bigemina* (10.9%), *Anaplasma marginale* (4.2%), *Babesia bovis* (3.3%), and *Theileria annulata* (1.8%). To the best of our knowledge, this survey represents the first report of *T. velifera* and *T. annulata* in the region. Overall, the TBP prevalences were significantly higher in northern Benin than in eastern Burkina Faso, indicating a higher parasitological risk in this area.

1. Introduction

Livestock production represents an important economic activity in

most West African countries and is a source of income for about 70% of the population (Nugteren and Le Côme, 2016). Vectors and vector-borne diseases cause high economic losses to the livestock industry, which

* Corresponding author.

E-mail addresses: achillouedraogo@gmail.com (A.S. Ouedraogo), marinda.oosthuizen@up.ac.za (M. Oosthuizen), claudio.saegerman@uliege.be (C. Saegerman), Laetitia.lempereur@health.fgov.be (L. Lempereur).

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101733>

Received 26 October 2020; Received in revised form 12 April 2021; Accepted 12 April 2021

Available online 1 May 2021

1877-959X/© 2021 Elsevier GmbH. All rights reserved.

hamper the development of this sector particularly in West Africa. Among them, tick-borne diseases cause economic losses to farmers in terms of cattle mortality, loss of body weight and milk production, and costs of their control through chemotherapy (Homewood et al., 2006; Kivaria, 2006). The recorded tick species associated with livestock in West Africa belong mainly to the genera *Amblyomma*, *Hyalomma* and *Rhipicephalus* (including the subgenus *Boophilus*) (Barker and Murrell, 2004). These vectors can transmit various pathogens (virus, parasites, bacteria) causing important diseases such as babesiosis, theileriosis, anaplasmosis and heartwater (Jongejan and Uilenberg, 2004). Babesiosis, also named “red water fever” remains one of the most common parasitological diseases of livestock worldwide with *Babesia bovis* being the most pathogenic species in tropical regions. *Babesia bovis* is mainly acquired and transmitted by *R. microplus* and is transovarially transmitted by this vector species to its larval offspring. In West Africa, recent publications indicate an extension of the distribution of *R. microplus* (Madder et al., 2012; Adakal et al., 2013a; Biguezoton et al., 2016a), which was accidentally introduced in Benin (BN) in 2004 (Madder et al., 2012) and in South West Burkina Faso (BF) in 2011 (Adakal et al., 2013a). The first indication of the introduction of this species was the failure of acaricide treatment as a result of the known high degree of resistance which characterizes this species (George et al., 2004; Adakal et al., 2013b). BN and BF are two countries sharing a border of 285 kms through which seasonal migrations of cattle occur in order to find pasture and watering places during the dry season. Such migrations favor the contact between herds mainly at grazing and watering places, raising the potential spread of transboundary diseases (Zannou et al., 2020). This transversal survey aims to assess the current situation of tick species and the associated pathogens in specific geographical locations corresponding to the departure (eastern BF) and arrival zones (northern BN) of the seasonal migration between the two countries. This baseline survey will help further estimations of the potential spread of vectors and transboundary diseases.

2. Materials and methods

2.1. Sampling

Sampling was carried out from December 2016 to March 2017 (dry season) in eastern BF and northern BN. Three bordering provinces, namely Gouma (12°9'44.809"N 0°40'38.298" E), Kompienga (11°31'25.81"N 0°45'11.812"E) and Tapoa (12°14'58.945"N 1°40'33.848"E), were considered in eastern BF. In northern Benin, four bordering departments, namely Alibori (10°58'5.192"N 2°46'40.732"E), Atacora (10°47'43.775"N 1°40'33.848"E), Borgou (9°32'2.71"N 2°46'40.732"E) and Donga (9°43'9.073"N 1°40'33.848"E) were chosen (Fig. 1). Cattle herds were selected on a voluntary basis according to criteria such as a minimal cattle herd size of 50 heads and minimal distance of 2 km between herds. Herds were chosen to cover the most homogeneously each province and department of the studied area. The number of herds per province or department involved in the survey was determined based on the size of livestock population in each sampling location and on previous estimated prevalences of tick-borne diseases (Farougou et al., 2007a). Within each herd visited, 10 or 11 cattle were randomly sampled and the age (over and under 12 months) as well as the sex of animals were documented. The exact position of each site was recorded using a global positioning system (GPS) data recorder (Garmin eTrex® 20; Garmin, Hampshire, UK). Each location was transferred into QGIS v.2.18 software and plotted on maps. A total of 946 cattle were sampled in BF and BN. Based on the CIRDES ethics committee for animal experimentation approval and with the owner consent, cattle were kept in lateral decubitus in order to sample ticks and blood. All ticks found on visible parts of the cattle were systematically removed using pliers during 15 min (Biguezoton et al., 2016a) and conserved in collection tubes with 70% ethanol. Approximately 5 ml of peripheral blood were collected per animal from the coccygian vein in 9 ml ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) treated vacutainer tubes. Blood was thereafter kept (as spots) on Whatman FTA Cards, air-dried and then packaged in

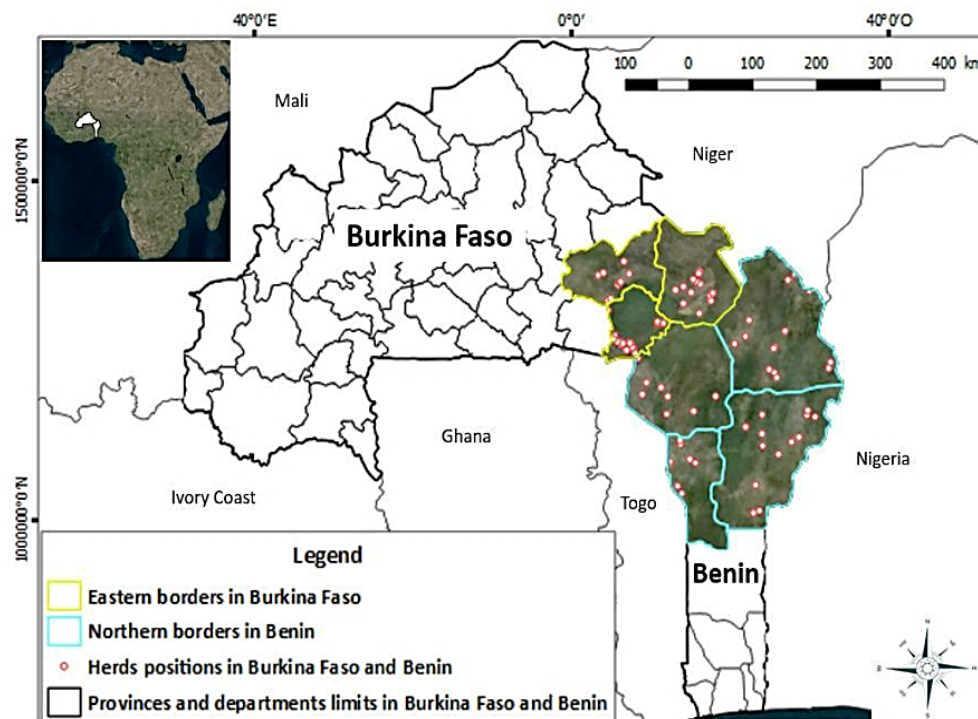


Fig 1. Map showing the 46 sampling sites (herds) in Burkina Faso and 44 in northern Benin.

safelock sealed bags with silicagel for further analysis.

2.2. Tick and tick-borne pathogen identification

Ticks were morphologically identified up to species level, under standard stereomicroscope using Walker et al. (2003) identification key and Horak et al. (2003). Specimens of *R. microplus* were submitted to molecular confirmation following a previously described protocol, targeting the cytochrome oxidase subunit I gene (Silatsa et al., 2019). Tick-borne pathogens (TBP) screening required DNA extraction of ticks and cattle blood followed by a generic PCR and then Reverse Line Blot (RLB) hybridization assay. DNA extraction process was performed on six pieces of five mm diameter of dried blood Whatman FTA cards and on ticks. Among the collected ticks, six species of veterinary interest were selected for pathogen detection. Ticks were pooled (1–5 specimens) per species, cattle, sex and stage. The whole tick was cut into small pieces using scalpel blades, and crushed. DNA extraction was performed using DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen; Hilden, Germany) according to the manufacturer’s instructions. The quality and concentration of the DNA were assessed using NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, USA). Whole DNA extracts were then stored at –20 °C for further analysis.

PCR master mixes were prepared for amplification of DNA fragments of species belonging to genera *Theileria/Babesia* (Nijhof et al., 2003) and *Ehrlichia/Anaplasma* (Bekker et al., 2002) using Taq PCR Master Mix Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Primers pairs were obtained from Eurogentec (Liège, Belgium), sequences are mentioned in Table 1. Reactions were performed in a 25 µl volume with 12.5 µl of the PCR buffer master mix, 8 pmol/µl of each primer and 20–50 ng of template DNA. A thermal cycling program was used as previously described (Nijhof et al., 2003).

The RLB hybridization assay (Gubbels et al., 1999; Bekker et al., 2002; Nijhof et al., 2003, 2005) was performed using oligonucleotide probes containing an N-terminal N-(trifluoroacetyl)hexylcyanoethyl, N,N-diisopropyl phosphoramidite)-C6 listed in Table 2. Positive controls for each pathogen were applied to the tests, and molecular grade water was used as negative control. PCR-products of selected TBP and *R. microplus* were subsequently sequenced using Sanger method (GIGA, ULiège, Belgium) after purification (QIAquick PCR Purification Kit, Qiagen; Hilden, Germany) to confirm RLB results. Raw data were analyzed using the freely available BioEdit software (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). DNA sequences were then compared for similarities with available sequences in GenBank, using the BLASTn program (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Thereafter, sequences were aligned with Clustal w method and maximum likelihood phylogenetic trees were generated in Mega_X.10.1.7 (<https://www.megasoftware.net/>). The percentage of bootstraps were calculated applying 500 replicates.

2.3. Statistical analysis

Non parametric tests, Fisher exact and Wilcoxon-Mann-Whitney

Table 1

Selected primer pairs for the detection of mitochondrial target regions for the genera *Babesia/Theileria*, *Anaplasma/Ehrlichia* and for molecular confirmation of *Rhipicephalus microplus* identification.

Genus	Primers	Target genes	Primer sequences (5'–3')	AnnealingT(°C)	Amplicon size (bp)	Reference
<i>Theileria/Babesia</i>	Forward : RLB-F2 Reverse: RLB-R2	18S rRNA	GACACAGGGAGGTAGTGACAAG biotin-5'-CTAAGAATTTACCTCTGACAGT-3'	57	430	Nijhof et al. (2005) Nijhof et al. (2005)
<i>Ehrlichia/Anaplasma</i>	Forward : Ehr-F Reverse: Ehr-R	16S rRNA	GGAATTCAGAGTTGGATCMTGGYTCCAG 5'-biotin- CGGGATCCCGAGITTTGCCGGACTTYYTCT	57	483	Bekker et al. (2002) Bekker et al. (2002)
<i>Rhipicephalus</i> spp.	Forward: LCO1490 Reverse : HC02198	CO1	5'-GGTCAACAATCATAAAGATATTGG-3' 5-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3	50	710	Vrijenhoek (1994)

Abbreviation: T= temperature, bp: base pair; CO1: cytochrome c oxidase subunit I gene.

Table 2

Probe sequences used in reverse line blot hybridization process.

Genus and species-specific oligonucleotide probes	Probe Sequences (from 5'–3')	Reference
<i>Theileria/Babesia</i> gene-specific	TAA TGG TTA ATA GGA RCR GTT G	Gubbels et al., 1999
<i>Ehrlichia/Anaplasma</i> gene-specific	GGG GGA AAG ATT TAT CGC TA	Bekker et al., 2002
<i>Anaplasma marginale</i>	GAC CGT ATA CGC AGC TTG	Bekker et al., 2002
<i>Anaplasma bovis</i>	GTA GCT TGC TAT GRG AAC A	Bekker et al., 2002
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	TTG CTA TAA AGA ATA ATT AGT GG	Bekker et al., 2002
<i>Ehrlichia ruminantium</i>	AGT ATC TGT TAG TGG CAG	Bekker et al., 2002
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	ACC TTT TGG TTA TAA ATA ATT GTT	Schouls et al., 1999
<i>Theileria annulata</i>	CCT CTG GGG TCT GTG CA	Georges et al., 2001
<i>Theileria mutans</i>	CTT GCG TCT CCG AAT GTT	Gubbels et al., 1999
<i>Theileria annae</i>	CCG AAC GTA ATT TTA TTG ATT G	Yisaschar-Mekuzas et al., 2013
<i>Theileria taurotragi</i>	TCT TGG CAC GTG GCT TTT	Gubbels et al., 1999
<i>Theileria velifera</i>	CCT ATT CTC CTT TAC GAG T	Gubbels et al., 2000
<i>Babesia occultans</i>	CCT CTT TTG GCC CAT CTC G	He et al., 2012
<i>Babesia microti</i>	GRC TTG GCA TCW TCT GGA	Nijhof et al., 2003
<i>Babesia major</i>	TCC GAC TTT GGT TGG TGT	Georges et al., 2001
<i>Babesia bovis</i>	CAG GTT TCG CCT GTA TAA TTG AG	Gubbels et al., 1999
<i>Babesia bigemina</i>	CGT TTT TTC CCT TTT GTT GG	Gubbels et al., 1999

(WMW) tests were performed to compare respectively TBP prevalences and the average tick burden of cattle in eastern BF to those found in northern BN. Pearson’s product-moment test (Crawley, 2007) was computed to test for possible correlations between TBP prevalences within tick and cattle. Only TBP recorded in both cattle blood and ticks were considered. Furthermore, relationships between ticks burden on cattle and TBP identified in cattle blood were examined by computing principal correspondence analysis (PCA). PCA was performed using factextra version 1.0.6 package (<http://www.sthda.com/english/rpkgs/factextra>) in R software version 3.6.1. Only variables (TBP) with a high correlation (greater than 0.5 in absolute value) with the axis of variability (Dim1) were considered for results analyses. In addition, the possible association of the TBP prevalences in cattle with two explanatory variables (cattle age and sex) was assessed computing the odds ratios (OR), with 95% confidence intervals (CI) and using a logistic regression model in Stata/SE 14.2. For all analyses, a P-value

below 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Ticks occurrence and abundance on cattle

A total of 46 flocks were sampled in eastern BF and 44 in northern Benin including 10–11 animals in each herd (Fig. 1). A total of 2856 ticks of eight species were collected on 490 cattle from eastern BF. In northern Benin, 3583 ticks belonging to nine species were sampled on 456 cattle (Table 3). According to WMW test, there was no significant difference between the average tick burden in eastern BF (-0.45) and in northern BN (-0.60). *Amblyomma variegatum* was the most abundant tick species collected from both eastern BF (49.2%) and northern BN (31%) (Table 3). The second most abundant species was *Hyalomma truncatum* in the eastern BF (17.3%) and *R. microplus* in northern BN (12.6%). This invasive tick, *R. microplus* was not collected in the eastern BF. In BN, we noticed its apparent spread toward the north in Atacora and Alibori (Fig. 2c) compared to Madder et al. (2012) (Fig. 2a) and De Clercq et al. (2012) (Fig. 2b). Furthermore, within each species, 100% of the specimens collected were adult, except *A. variegatum* of which 96.2% and 72.3% were nymphs in eastern BF and northern BN respectively.

3.2. Tick-borne pathogen prevalences in cattle and in ticks

Six tick-borne pathogen species were detected in cattle in eastern BF and in northern BN. *Theileria mutans* was the most prevalent pathogen with 85.3% of cattle positive in BF and 97.4% in BN followed by *Theileria velifera* (Fig. 3). The other species encountered were: *Theileria annulata*, *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* (Fig. 3). The prevalence of *T. mutans*, *T. velifera* and *B. bigemina*, were significantly ($P < 0.05$) higher in northern BN than in eastern BF. Regarding ticks, out of the 1942 pools tested, pathogens identification revealed seven species, all found in the two areas (Table 4). The TBP species most representative was *T. mutans* both in eastern BF and in northern BN, with respectively 6.9% and 2.3%. *A. variegatum* was the most infected tick species: i.e. all of the seven TBP species evidenced in the ticks were highlighted in this species in both countries (Table 4).

3.3. Analysis on tick-borne pathogens found both in cattle and tick pools

Considering whole data (BN and BF), Pearson's product-moment test showed negative correlation ($\text{cor} = -0.81$; $P = 0.03$) between *T. mutans* prevalence in ticks and cattle. Likewise, negative correlation ($\text{cor} = -0.84$; $P = 0.02$) was observed between *T. velifera* infection rate in ticks

and cattle. Such correlations were no more evidenced when data for each country were analysed separately. Meanwhile, the PCA revealed on the circle of correlations graph (Fig. 4a), a positive correlation between *T. mutans*, *T. velifera*, *B. bovis* and *B. bigemina* prevalence and the first axis of variability (i.e. Dim1). Considering sampling location on the individuals graph (Fig. 4b), it can be observed that these TBP are more encountered in Donga and Borgou than elsewhere. Tapoa and Gourma seem to be the least infected provinces. Regarding ticks, *R. geigy*; *R. microplus*; *R. annulatus* and non identified *Rhipicephalus* abundances are also significantly ($P < 0.05$) and negatively correlated with the first axis of variability (Fig. 4a). Such results indicate a positive correlation between these tick species and the TBP species cited above (i.e. *T. mutans*, *T. velifera*, *B. bovis* and *B. bigemina*).

3.4. Explanatory variables of cattle infection with tick-borne pathogens

Logistic regression analyses highlighted cattle age as a possible risk variable of animals' infection by *T. velifera* (OR: 3.4, CI: 2.3–5, $P < 0.0001$). Cattle older than 12 months were significantly more infected with *T. velifera* than cattle under 12 months old. In contrary, age appeared as a protective variable for *T. mutans* infections (OR: 0.3, CI: 0.2–0.5, $P < 0.0001$) (Table 4).

3.5. Sequences similarities and phylogenetic results

BLASTn analysis of sequences showed high identity values (i.e. 96–100%) with published sequences in the GenBank database (Table 6) confirming morphological identification of ticks and RLB results of TBP. The maximum likelihood phylogenetic tree in Fig. 5A, dedicated to *Theileria/Babesia* specimens, showed a clustering of corresponding sequences into four main clades, each containing one or two related sequences generated in this survey. The two sequences of *T. mutans* (MT250262 & MT250263) evidenced belongs to the same clade (I) with others strains of *T. mutans*, but they are distinguishable within a subgroup. This situation is similar to the case of *T. annulata* (MT259958) (Fig. 1A). The sequences of *T. velifera* (MT250264) and *B. bovis* (MT259959) were also gathered within specific clades corresponding to the assigned species in Table 5 (Fig. 5A). Same pattern was observed with *A. marginale* (MT259778) in Fig. 5B. The Fig. 5C tree was built with reference to (Burger et al., 2014). This enabled the *R. microplus* sequences generated in this study to be classified in relation to the complex previously defined (Burger et al., 2013; Roy et al., 2018). Two clades of *R. microplus* can be distinguished (Fig. 5C). The clade I containing the sequences generated in northern China and the clade III containing sequences from Africa, south of Asia and of America. The Clades II, IV and

Table 3

Number of ticks and species relative abundances in each province/department of eastern Burkina Faso and northern Benin.

Species	East Burkina Faso				North Benin				
	Gourma (n = 160)	Kompienga (n = 165)	Tapoa (n = 165)	Total No. (%) (n = 490)	Alibori (n = 140)	Atacora (n = 88)	Borgou (n = 140)	Donga (n = 88)	Total No. (%) (n = 456)
<i>A. variegatum</i>	502	590	314	1406 (49.2)	219	159	361	372	1111 (31)
<i>H. truncatum</i>	123	108	262	493 (17.3)	196	94	100	31	421 (11.7)
<i>R. geigy</i>	62	171	38	271 (9.5)	27	175	106	121	429 (12)
<i>H. rufipes</i>	71	66	93	230 (8.1)	74	20	51	37	182 (5.1)
<i>R. decoloratus</i>	48	54	63	165 (5.8)	85	2	67	4	158 (4.4)
<i>R. sanguineus s.l.</i>	22	28	30	80 (2.8)	–	–	–	–	–
<i>R. muhsamae</i>	3	2	3	8 (0.3)	–	–	–	–	–
<i>R. senegalensis</i>	5	2	–	7 (0.2)	–	–	–	–	–
<i>H. impeltatum</i>	–	–	–	–	13	–	–	–	13 (0.4)
<i>H. impressum</i>	–	–	–	–	77	–	–	–	77 (2.1)
<i>R. microplus</i>	–	–	–	–	32	1	233	187	453 (12.6)
<i>R. annulatus</i>	–	–	–	–	5	0	3	2	10 (0.3)
<i>Rhipicephalus spp.</i>	70	81	45	196 (6.9)	69	114	306	240	729 (20.3)
Total	907	1102	848	2856	797	565	1227	994	3583

A: *Amblyomma*; H: *Hyalomma*; R: *Rhipicephalus*; R. *sanguineus s.l.*: *Rhipicephalus sanguineus*, sensu lato; n: number of bovine examined in each province; No: total number of tick species collected in a country; *Rhipicephalus Spp.*: unidentified specimens of *Rhipicephalus* belonging to subgenus *Boophilus*.

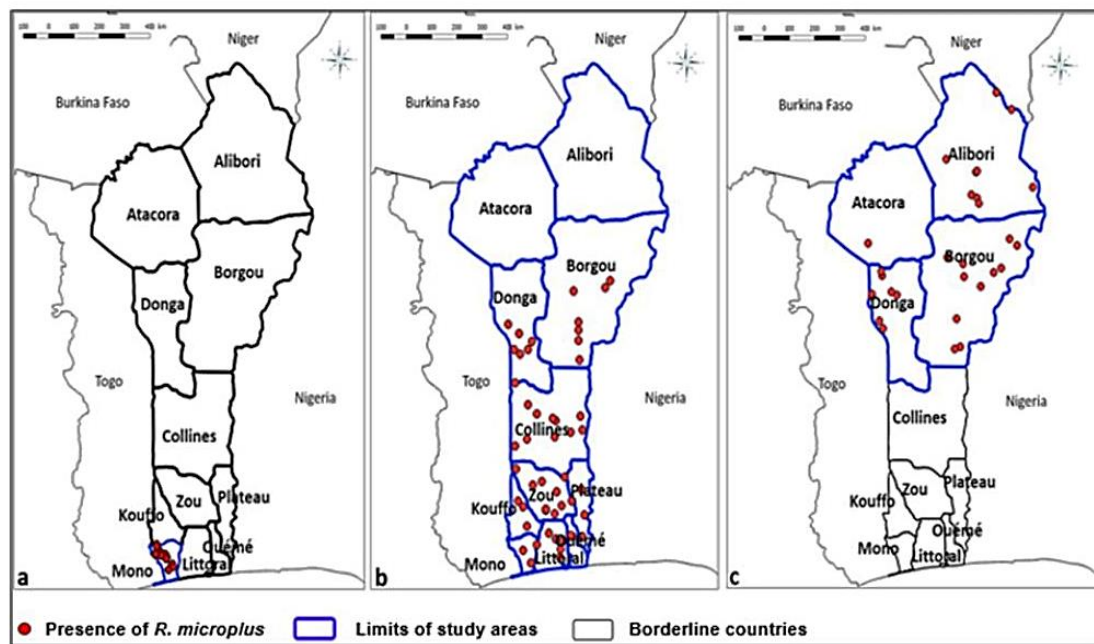


Fig 2. Geographical distribution of *R. microplus* in Benin from 2008 to 2017; a-2008 (Madder et al., 2012); b-2011 (De Clercq et al., 2012); c-2017 (Present survey).

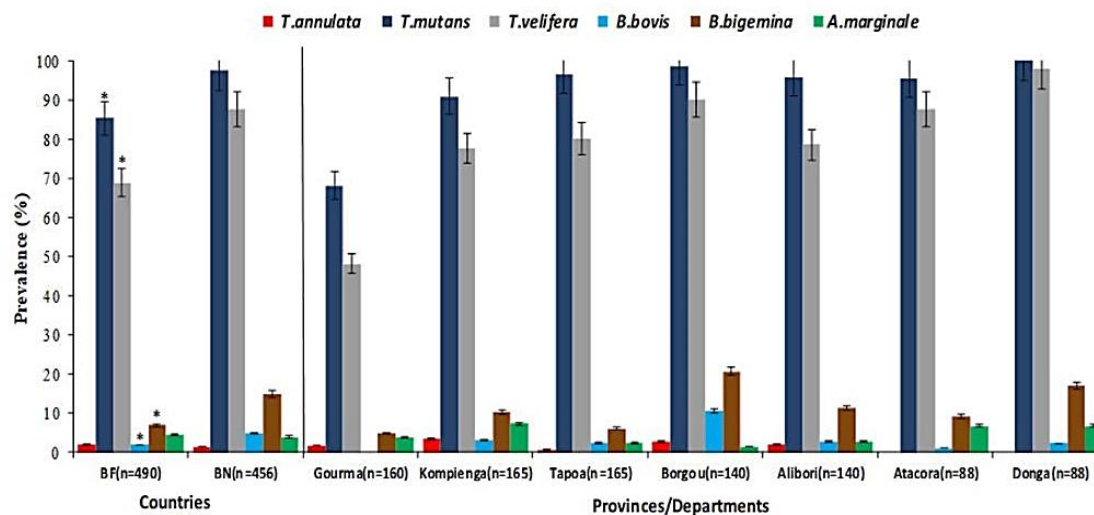


Fig 3. Prevalences of tick-borne pathogen species evidenced in cattle in eastern Burkina Faso and in northern Benin. T: Theileria, B: Babesia, A: Anaplasma, n= number of cattle examined, bar with stars (*) indicate a P-value < 0.0001.

V gather the other species of the subgenus *Boophilus* (i.e. *R. annulatus*, *R. geigy*, and *R. decoloratus*).

4. Discussion

In Burkina Faso, some areas are very largely unexplored regarding ticks and TBP. This is particularly the case of the eastern part, which received very limited attention. On the opposite, in northern BN, some studies have focused on ticks and TBP but the available data remain limited. In this survey, the abundances of collected ticks in these two

areas indicate cattle seem to be more infested by ticks in northern BN than in eastern BF, probably due to the global climatic conditions, as the survey area is globally semi-arid to humid from the eastern BF towards Borgou and Donga departments in northern BN. The tick *A. variegatum* was the most abundant species, mainly collected in nymph stage in the two areas, as the sampling took place in dry season, corresponding to the high abundance period of *A. variegatum* nymph (Stachurski et al., 1993). Similarly to Biguezoton et al. (2016a), the present survey didn't evidenced the presence of the tick *R. microplus* in eastern BF although, it is known to be occurring in western-south BF (Biguezoton et al., 2016a).

Table 4
Prevalences of tick-borne pathogens detected in ticks pools.

	Tick pools (n)	T.annu No (%)	T.mu No (%)	T.ve No (%)	B.bo No (%)	B.bi No (%)	A.ma No (%)	E.ru No (%)
Gourma (n = 309)								
A. variegatum	182	1 (0.55)	21 (11.5)	6 (3.3)	–	–	–	–
H. rufipes	53	–	4 (7.5)	3 (5.7)	2 (3.8)	–	–	–
R. geigy	34	–	5 (14.7)	1 (3.0)	–	–	–	–
R. decoloratus	40	–	3 (7.5)	2 (5.0)	–	1 (2.5)	–	–
Kompienga (n = 351)								
A. variegatum	185	–	17 (9.2)	6 (3.2)	2 (1.1)	–	–	2 (1.1)
H. rufipes	44	–	–	–	–	–	–	–
R. geigy	83	–	4 (4.8)	2 (2.4)	–	–	–	–
R. decoloratus	39	–	3 (7.7)	2 (5.1)	1 (2.6)	1 (2.6)	1 (2.6)	–
Tapoa (n = 269)								
A. variegatum	139	3 (2.2)	6 (4.3)	5 (3.6)	–	–	–	3 (2.3)
H. rufipes	60	1 (1.7)	1 (1.7)	–	–	–	–	–
R. geigy	28	–	–	–	1 (3.6)	–	–	–
R. decoloratus	42	2 (4.8)	–	–	1 (2.4)	–	–	–
Alibori (n = 214)								
A. variegatum	88	4 (4.5)	5 (5.7)	1 (1.1)	–	–	–	4 (4.5)
H. rufipes	45	1 (2.2)	–	–	–	–	–	–
R. geigy	15	–	–	–	–	–	–	–
R. decoloratus	39	1 (2.6)	–	–	3 (7.7)	4 (10.2)	–	–
R. annulatus	5	–	–	–	–	–	–	–
R. microplus	22	–	–	–	1 (4.5)	–	–	–
Atacora (n = 140)								
A. variegatum	59	–	–	–	–	–	–	–
H. rufipes	11	–	–	–	–	–	–	–
R. geigy	66	2 (3.0)	1 (1.5)	–	–	–	–	–
R. decoloratus	2	–	–	–	–	–	–	–
R. annulatus	1	–	–	–	–	–	–	–
R. microplus	1	–	–	–	–	–	–	–
Borgou (n = 372)								
A. variegatum	145	4 (2.7)	9 (6.2)	2 (1.4)	–	–	–	1 (0.7)
H. rufipes	28	2 (7.1)	–	–	–	–	–	–
R. geigy	53	1 (1.9)	2 (3.8)	–	–	2 (3.8)	–	–
R. decoloratus	43	2 (4.6)	2 (4.6)	–	1 (2.3)	2 (4.6)	–	–
R. annulatus	8	–	–	–	–	–	–	–
R. microplus	95	4 (4.2)	2 (2.1)	–	–	1 (1.0)	–	–
Donga (n = 287)								
A. variegatum	140	–	2 (1.4)	–	–	–	–	–
H. rufipes	22	–	–	–	–	–	–	–
R. geigy	51	1 (1.9)	–	–	–	–	–	–
R. decoloratus	4	–	–	–	–	–	–	–
R. annulatus	2	–	–	–	–	–	–	–
R. microplus	68	–	–	–	–	–	–	–

A. ma: Anaplasma marginale; B. bi : Babesia bigemina; B.bo : Babesia bovis; E. ru : Ehrlichia ruminantium; T. annu: Theileria annulata; T. mu: Theileria mutans; T.ve: Theileria velifera.

Its abundance in BN could partially explain the apparent difference of tick burden in the two countries, due to its capacity to drive aggregation with others tick species on cattle (Biguezoton et al., 2016a). Furthermore, De Clercq et al. (2012) highlighted the spread of *R. microplus* from the south BN (Mono department) (Madder et al., 2012) to the north in Borgou and Donga. Here, we report its spread farthest north in Atacora and Alibori in complement to the previous distribution pattern published (De Clercq et al., 2013) (Fig. 2b). This could suggest either the opening up of new ecosystems (through direct human impact) favourable to *R. microplus* proliferation or a possible gradual adaptation of this species to increasingly arid climatic conditions. The phylogenetic analysis of identified specimens indicated the species sampled in northern BN belong to *R. microplus* sensu stricto group that largely spreads in the world (Burger et al., 2014). Besides, the closeness of our sequences (MT249801 & MT249802) to that of Brazil (KC503261) (Fig. 5C) reinforce the hypothesis of Brazilian origin of *R. microplus* invasion in Benin (Madder et al., 2012). Furthermore, the high tick infestation of cattle in northern BN seems to result in higher TBP prevalences in cattle in this area compared to those in eastern BF. This concerns especially *T. mutans* and *T. velifera*, which showed high prevalences there (Fig. 3). Such high prevalences were reported in other African countries (Simuunza et al., 2011; Lorusso et al., 2016 ; Abanda et al., 2019). That should be attributed to cattle being year-round highly exposed to the vector tick

A. variegatum (Farougou et al., 2007b; Walker et al., 2003; Haghi et al., 2017), an endemic species in the region. Strangely, ticks collected from cattle infected with these two pathogens were not found systematically positive. The negative correlation could be attributed to the low parasitemia in infected cattle blood. It becomes very unlikely to detect *Theileria* DNA in crushed ticks if the ingested merozoites (from cattle) are not enough to enable the tick infection. The greater part of cattle found positive were symptomless as *T. mutans* is known to belong to *Theileria* spp. benign group (Mans et al., 2015; Abdela and Bekele, 2016) and *T. velifera* is known to cause only mild or subclinical infections (Radostits et al., 2006). In addition, cattle could be protected by the effect of certain trypanocidal compounds such as diminazene aceturate, which has an inhibitory effect on *Theileria* and *Babesia* species (Baek et al., 2002) and is commonly used in the study area. Among the positive cattle, those older than 12 months were significantly more infected with *T. velifera*, than those under 12 months old probably because of their contact with the vector ticks for a longer period of their lives. However, to our knowledge, this survey represents the first report of *T. velifera* in BF and BN, as well as for *T. annulata*. They were found both in cattle blood and in their known vector ticks (*A. variegatum* for *T. velifera* and *Hyalomma* sp. for *T. annulata*). However, we found them in some tick species not known to be their vector (Mans et al., 2015), such as *R. decoloratus* and *R. geigy*. Obviously, this result does not imply these

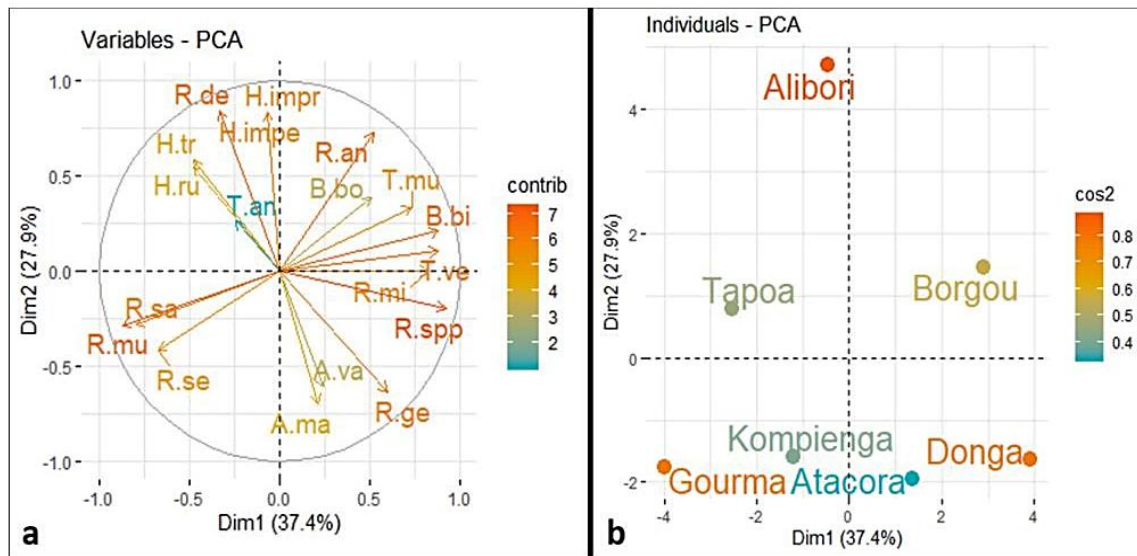


Fig 4. Links between tick-borne pathogens in cattle and ticks collected on cattle according to locations of sampling in eastern Burkina Faso and northern Benin. A. ma : Anaplasma marginale ; B. bi : Babesia bigemina ; B. bo : Babesia bovis ; T. an : Theileria annulata ; T. mu : Theileria mutans ; T. ve : Theileria velifera ; A. va : Amblyomma variegatum ; H. tr : Hyalomma truncatum ; H. ru : Hyalomma rufipes ; H. impe : Hyalomma impeltatum ; H. impr : Hyalomma impressum ; R. sa : Rhipicephalus sanguineus sensu lato ; R. se : Rhipicephalus senegalensis ; R. mu : Rhipicephalus muhsamae ; R. ge : Rhipicephalus geigy ; R. de : Rhipicephalus decoloratus ; R. mi : Rhipicephalus microplus ; R.an : Rhipicephalus annulatus ; R. spp. : Rhipicephalus spp. (Unidentified species belonging to the subgenus Boophilus), Contrib: contribution.

Table 5
Explanatory variables for cattle infection by tick-borne pathogens.

TBP	OR/95% CI/P	Age	Sex
<i>Theileria annulata</i>	OR	2.1	0.8
	95% CI	0.6–7.1	0.25–2.8
	P	0.2	0.8
<i>Theileria mutans</i>	OR	0.3	1.5
	95% CI	0.2–0.5	0.8–2.8
	P	< 0.0001	0.2
<i>Theileria velifera</i>	OR	3.4	1
	95% CI	2.3–5.0	0.7–1.5
	P	< 0.0001	0.9
<i>Babesia bovis</i>	OR	1.2	1
	95% CI	0.5–2.7	0.4–2.4
	P	0.7	0.9
<i>Babesia bigemina</i>	OR	0.7	1.5
	95% CI	0.4–1.1	0.9–2.3
	P	0.1	0.1
<i>Anaplasma marginale</i>	OR	1.1	1.5
	95% CI	0.6–2.3	0.7–2.9
	P	0.7	1.1

TBP: Tick-borne pathogens; OR: odds ratio, CI: confidence interval, P: probability. Pathogens for which the variables are significantly explanatory are indicated in bold.

tick species are competent for *T. annulata* transmission. Even if we scraped blood from engorged ticks prior to DNA extraction, it is not excluded that they were infected because of a blood meal taken from infected animals. On the African continent, *T. annulata* was known to be occurring in North Africa, Middle East Africa, in Sudan and in Mauritania (d'Oliveira et al., 1997 ; Gubbels et al., 2000 ; Mohamed and Ebied, 2014). Its detection in the present survey may provide evidence of a change in its previous distribution pattern.

According to *Babesia* genus TBP detection, in cattle the prevalence of *B. bigemina* and *B. bovis* were significantly higher in northern BN, especially in Borgou and Donga than other departments, probably

Table 6
Representative sequences published in GenBank for tick-borne pathogens and *Rhipicephalus microplus*.

GenBank ID	Samples	Species	Size (bp)	%ID	Origin
MT250262	Gou07–47	<i>Theileria mutans</i>	528	96.34	Gourma, BF
MT250263	Gou03–04	<i>Theileria mutans</i>	414	99.76	Gourma, BF
MT250264	Gou03–07	<i>Theileria velifera</i>	531	99.06	Gourma, BF
MT259958	Bor02–10	<i>Theileria annulata</i>	371	100	Borgou, BN
MT259959	Don06–07	<i>Babesia bovis</i>	351	96.87	Donga, BN
MT259778	Gou03-bov07	<i>Anaplasma marginale</i>	490	98.52	Gourma, BF
MT249801	Be382	<i>Rhipicephalus microplus</i>	674	99.85	Alibori, BN
MT249802	Be407	<i>Rhipicephalus microplus</i>	643	100	Alibori, BN

because of the occurrence of their principal vector *R. microplus* (Walker et al., 2003 ; Haghi et al., 2017).

Babesiosis clinical signs (Mohamed and Ebied, 2014 ; Demessie and Derso, 2015) were not apparent in sampled cattle, leading to hypothesized a stable endemicity of *Babesia* species in the region, as previously observed by Adehan et al. (2016). *Babesia bovis* was evidenced in cattle in eastern BF, however its principal vector *R. microplus* (Dantas-Torres et al., 2012 ; Grisi et al., 2014), was not found there. This suggests cattle of eastern BF were infected with *B. bovis* after their exposure to *R. microplus* or other competent species, during their seasonal migration in northern BN through transhumance corridors (Zannou et al., 2020). However, this hypothesis requires more investigations considering cattle transboundary movements. The detection of *A. marginale* was expected in this survey as this pathogen is known to be endemic worldwide

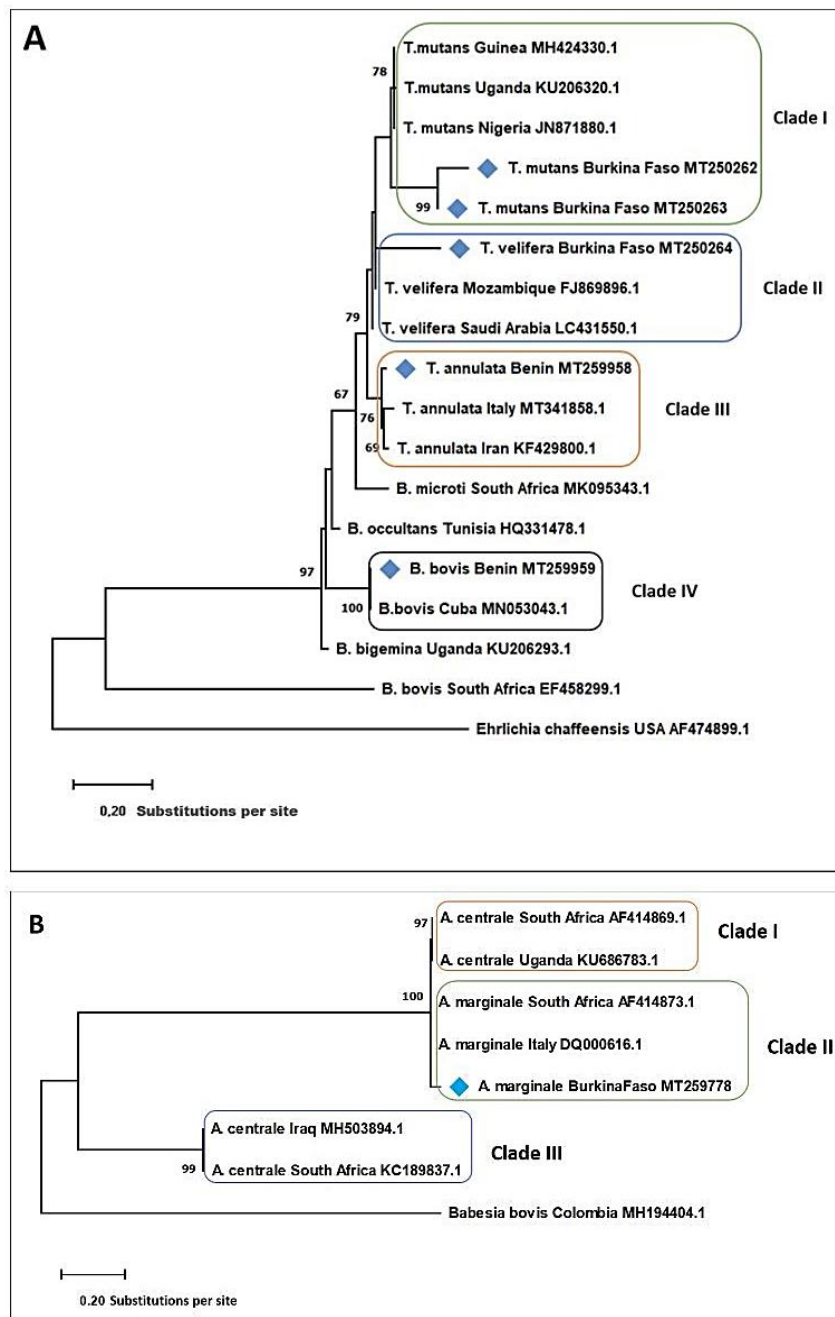


Fig 5. Phylogenetic trees of 18S gene sequences of Theileria/Babesia (A), 16S gene sequences of Ehrlichia/Anaplasma (B) and CO1 gene sequences of Rhipicephalus spp. (C) constructed with the Maximum Likelihood method. Evolutionary history was inferred applying Tamura-Nei model. Blue squares refer to sequences generated in the present study.

especially in tropical and subtropical areas (Kocan and de la Fuente, 2003). It has been found only in examined cattle (and not in ticks) without significant difference in prevalence between the eastern BF and northern BN although its vector ticks, *A. variegatum* and *Rhipicephalus* spp. (Harrison et al., 2011 ; Sisson et al., 2017), are widespread and has a similar distribution in the two areas. Some pools of *A. variegatum* were

found positive to *Ehrlichia ruminantium*. This result was also expected as the presence of this pathogen is well known in the region (Adakal et al., 2010; Farougou et al., 2012; Biguezoton et al., 2016b; Adjou Moumouni et al., 2018) sometimes with high prevalence.

The main limitation of this survey is due to its transversal nature. Some interesting explanatory variables were identified. To verify if these

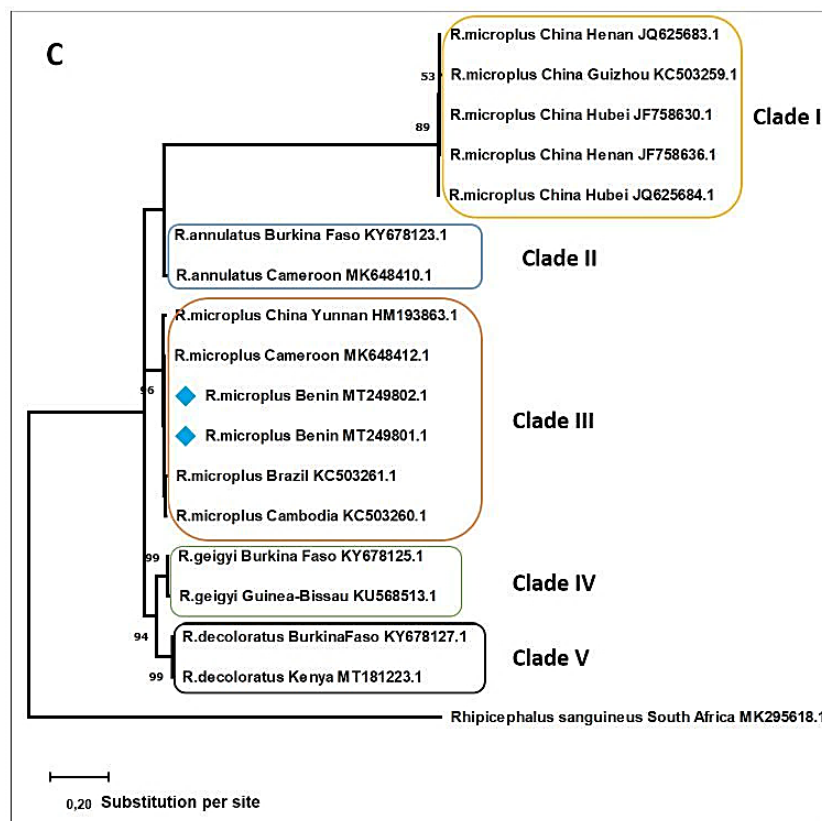


Fig 5. (continued).

variables are true risk or protective factors, future longitudinal studies are required in order to demonstrated the anteriority of these factors on their effects.

5. Conclusion

Before the accidental introduction of *R. microplus* in the West African sub-region, the livestock production sector was facing challenges induced by other tick species such as *A. variegatum*, *Hyalomma* spp., *Rhipicephalus* spp. As *R. microplus* was found to be resistant to most of the acaricidal products used in this area, difficulties associated with ticks control in livestock farming in the area were increased. The spreading of this invasive tick species in West Africa seems to be accompanied by an adaptation to more arid area. A wide area in northern BN is yet invaded around ten years after the first identification of the tick species in southern BN. Added to this, considering animals annual migration between eastern BF and northern BN, it is possible that the invasive tick invades eastern BF if stringent control measures are not applied. Most of TBP highlighted in this survey (*T. mutans*, *B. bigemina*, *B. bovis*, *A. marginale* and *E. ruminantium*) are known to be present in the study area. However, this survey highlights for the first time the presence of *T. velifera* and *T. annulata* in Benin and Burkina Faso. In addition, if *T. velifera* has yet been evidenced in West Africa (Lorusso et al., 2016), to our knowledge that is the first time *T. annulata* is identified in this part of the continent. Considering overall pathogen prevalences detected in this study, parasitological risk seems to be higher in the northern BN than in eastern BF, due to cattle infestation with higher abundances and diversified vector tick species.

Declarations of Competing Interest

None.

Acknowledgments

The authors are grateful to Milana Troskie from the University of Pretoria for her technical support. Positive controls were kindly provided by the Department of veterinary Tropical Diseases, Faculty Veterinary Science, University of Pretoria and the Institute of Tropical Medicine of Antwerp. We would like to thank lab technicians at CIRDES for their contribution to the samples processing and farmers in BF and BN for lending their animals for samples collection. We would like also to acknowledge the breeders' associations that facilitated the enrolment of the farms involved in this survey and the provincial and local authorities of eastern BF and northern BN for their collaboration.

Sample CRediT author statement

Conceptualization, Methodology, Project administration (LL, AB, PY, CS), Data acquisition & Field work (AO, OM); Supervision (LL, AB); Writing - original draft (AO); Review & editing (LL, CS, AB, MO, SF, OM, PY).

Funding

This work was supported by the Academy of Research and Higher Education (ARES-CCD) [RPD Transticks]

Ethical statements

The transversal survey was approved by CIRDES ethics committee (CE-CIRDES) for animal experimentation according to this reference number: 001-02/2017/CE-CIRDES.

References

- Abanda, B., Pagnem, A., Abdoulmoumini, M., Kingsley, M.T., Renz, A., Eisenbarth, A., 2019. Molecular identification and prevalence of tick-borne pathogens in zebu and taurine cattle in North Cameroon. *Parasites Vectors* 12, 448. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3699-x>.
- Abdela, N., Bekele, T., 2016. Bovine theileriosis and its control: a review. *Adv. Biol. Res.* 10, 200–212.
- Adakal Biguezoton, A., Zoungrana, S., Courtin, F., De Clercq, E.M., Madder, M., 2013a. Alarming spread of the Asian cattle tick *Rhipicephalus microplus* in West Africa—Another three countries are affected: Burkina Faso, Mali and Togo. *Exp. Appl. Acarol.* 61, 383–386. <https://doi.org/10.1007/s10493-013-9706-6>.
- Adakal, H., Gavotte, L., Stachurski, F., Konkobo, M., Henri, H., Zoungrana, S., Haber, K., Vachieri, N., Martinez, D., Morand, S., Frutos, R., 2010. Clonal origin of emerging populations of *Ehrlichia ruminantium* in Burkina Faso. *Infect. Genet. Evol.* 10, 903–912. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2010.05.011>.
- Adakal, Hassane, Stachurski, F., Chevillon, C., 2013b. Tick control practices in Burkina Faso and acaricide resistance survey in *Rhipicephalus (Boophilus) geigy* (Acari: ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.* 59, 483–491. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9610-5>.
- Adehan, B.S., Abel, B., Aquilas, D., Marc, N.A., Razacki, A., Hassane, A., Guy, A.M., Souaïmou, F., Maxime, M., 2016. Blood survey of *Babesia* spp. and *Theileria* spp. in Monos cattle. *Benin. Afr. J. Agric. Res.* 11, 1266–1272. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10055>.
- Adjou Moumouni, P.F., Aplogan, G.L., Katahira, H., Gao, Y., Guo, H., Efratiou, A., Jirapatharasate, C., Wang, G., Liu, M., Ringo, A.E., Umemiya-Shirafuji, R., Suzuki, H., Xuan, X., 2018. Prevalence, risk factors, and genetic diversity of veterinary important tick-borne pathogens in cattle from *Rhipicephalus microplus*-invaded and non-invaded areas of Benin. *Ticks Tick Borne Dis.* 9, 450–464. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.12.015>.
- Baek, B.-K., Lee, Y.-J., Kim, B.-S., 2002. Antiparasitic effect of diminazene aceturate on *Theileria sergenti* types in calves. *Taehan Suni Hakhoe Chi Taehan Suni Hakhoe* 42, 261–268.
- Barker, S.C., Murrell, A., 2004. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology/Parasitology* 129. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005207>, S15–S36.
- Bekker, C.P.J., de Vos, S., Taoufik, A., Sparagano, O.A.E., Jongejan, F., 2002. Simultaneous detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ruminants and detection of *Ehrlichia ruminantium* in *Amblyomma variegatum* ticks by reverse line blot hybridization. *Vet. Microbiol.* 89, 223–238. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00179-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00179-7).
- Biguezoton, A., Adehan, S., Adakal, H., Zoungrana, S., Farougou, S., Chevillon, C., 2016a. Community structure, seasonal variations and interactions between native and invasive cattle tick species in Benin and Burkina Faso. *Parasites Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1305-z>, 9.
- Biguezoton, A., Noel, V., Adehan, S., Adakal, H., Dayo, G.-K., Zoungrana, S., Farougou, S., Chevillon, C., 2016b. *Ehrlichia ruminantium* infects *Rhipicephalus microplus* in West Africa. *Parasites Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1651-x>, 9.
- Burger, T.D., Shao, R., Labruna, M.B., Barker, S.C., 2014. Molecular phylogeny of soft ticks (Ixodida: argasidae) inferred from mitochondrial genome and nuclear rRNA sequences. *Ticks Tick-Borne Dis.* 5, 195–207. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.10.009>.
- Crawley, M.J., The, R., 2007. Book. England. John Wiley & Sons Ltd.
- d'Oliveira, C., van der Weide, M., Jacquet, P., Jongejan, F., 1997. Detection of *Theileria annulata* by the PCR in ticks (Acari: ixodidae) collected from cattle in Mauritania. *Exp. Appl. Acarol.* 21, 279–291. <https://doi.org/10.1023/A:1018455223462>.
- Dantas-Torres, F., Chomel, B.B., Otranto, D., 2012. Ticks and tick-borne diseases: a one health perspective. *Trends Parasitol.* 28, 437–446. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2012.07.003>.
- De Clercq, E.M., Estrada-Peña, A., Adehan, S., Madder, M., Vanwambeke, S.O., 2013. An update on distribution models for *Rhipicephalus microplus* in West Africa.
- De Clercq, E.M., Vanwambeke, S.O., Singirai, M., Adehan, S., Lokossou, R., Madder, M., 2012. Geographic distribution of the invasive cattle tick *Rhipicephalus microplus*, a country-wide survey in Benin. *Exp. Appl. Acarol.* 58, 441–452. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9587-0>.
- Demessie, Y., Deriso, S., 2015. Tick borne hemoparasitic diseases of ruminants: a review. *Adv. Biol. Res.* 9, 210–224.
- Farougou, S., Adakal, H., Biguezoton, A.S., Boko, C., 2012. Prévalence de l'infection d'*Amblyomma variegatum* par *Ehrlichia ruminantium* dans les élevages extensifs du Bénin. *Rev. Méd. Vét.* 163, 261.
- Farougou, S., Kpodekon, M., Tassou, A.W.Y., 2007b. Abondance saisonnière des tiques (Acari : ixodidae) parasites des bovins dans la zone soudanaise du Bénin : cas des départements du Borgou et de l'Alibori. *Rev. Afric Santé Prod. Anim.* 5, 61–67.
- Farougou, S., Tassou, A.W., Tchabode, D.M., Kpodekon, M., Boko, C., Youssou, A.K.I., 2007a. Tiques et hémoparasites du bétail dans le nord-Bénin. *Rev. Méd. Vét.* 158 (8–9), 463–467.
- George, J.E., Pound, J.M., Davey, R.B., 2004. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitology* 129. <https://doi.org/10.1017/S0031182003004682>, S353–S366.
- Georges, K., Loria, G.R., Riili, S., Greco, A., Caracappa, S., Jongejan, F., Sparagano, O., 2001. Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridisation with a note on the distribution of ticks in Sicily. *Vet. Parasitol.* 99, 273–286. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00488-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00488-5).
- Grisi, L., Leite, R.C., Martins, J.R., de S., Barros, A.T.M.de, Andreotti, R., Cançado, P.H.D., León, A.A.P.de, Pereira, J.B., Villela, H.S., Grisi, L., Leite, R.C., Martins, J.R.de S., Barros, A.T.M.de, Andreotti, R., Cançado, P.H.D., León, A.A.P.de, Pereira, J.B., Villela, H.S., 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Rev. Bras. DE Parasitol. Vet.* 23, 150–156. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014042>.
- Gubbels, J.M., Vos, A.P.de, Weide, M.van der, Viseras, J., Schouls, L.M., Vries, E.de, Jongejan, F., 1999. Simultaneous detection of bovine theileria and babesia species by reverse line blot hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1782–1789.
- Gubbels, M.-J., Katzer, F., Hilde, G., Jongejan, F., Shiels, B.R., 2000. Generation of a mosaic pattern of diversity in the major merozoite-piropilasm surface antigen of *Theileria annulata*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 110, 23–32. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(00\)00253-X](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(00)00253-X).
- Haghi, M.M., Etemadifar, F., Fakhar, M., Teshnizi, S.H., Soosaraei, M., Shokri, A., Hajihassani, A., Mashhadi, H., 2017. Status of babesiosis among domestic herbivores in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Parasitol. Res.* 116, 1101–1109. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5368-8>.
- Harrison, A., Bown, K.J., Horak, I.G., 2011. Detection of *Anaplasma bovis* in an undescribed tick species collected from the eastern rock sengi *Elephantulus myurus*. *J. Parasitol.* 97, 1012–1016. <https://doi.org/10.1645/GE-2800.1>.
- He, L., Feng, H.-H., Zhang, W.-J., Zhang, Q.-L., Fang, R., Wang, L.-X., Tu, P., Zhou, Y.-Q., Zhao, J.-L., Oosthuizen, M.C., 2012. Occurrence of *Theileria* and *Babesia* species in water buffalo (*Bubalus bubalis*, Linnaeus, 1758) in the Hubei province, South China. *Vet. Parasitol.* 186, 490–496. <https://doi.org/10.1016/j.vepar.2011.11.021>.
- Homewood, K., Trench, P., Randall, S., Lynen, G., Bishop, B., 2006. Livestock health and socio-economic impacts of a veterinary intervention in Maasailand: infection-and-treatment vaccine against East Coast fever. *Agric. Syst.* 89, 248–271. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2005.09.004>.
- Horak, I.G., Camicas, J.-L., Keirans, J.E., 2003. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: ixodida): a world list of valid tick names. In: Jongejan, F., Kaufman, W.R. (Eds.), *Ticks and Tick-Borne Pathogens: Proceedings of the 4th International Conference on Ticks and Tick-Borne Pathogens The Banff Centre Banff, Alberta, Canada*, pp. 27–54. https://doi.org/10.1007/978-94-017-3526-1_2, 21–26 July 2002. Springer Netherlands, Dordrecht, pp.
- Jongejan, F., Uilenberg, G., 2004. The global importance of ticks. *Parasitology* 129. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005967>, S3–S14.
- Kivaria, F.M., 2006. Estimated direct economic costs associated with tick-borne diseases on cattle in Tanzania. *Trop. Anim. Health Prod.* 38, 291–299. <https://doi.org/10.1007/s11250-006-4181-2>.
- Kocan, K.M., de la Fuente, J., 2003. Co-feeding studies of ticks infected with *Anaplasma marginale*. *Vet. Parasitol.* 112, 295–305. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(03\)00018-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(03)00018-9).
- Lorusso, V., Wijnveld, M., Majekodunni, A.O., Dongkum, C., Fajinmi, A., Dogo, A.G., Thusfield, M., Mugenyi, A., Vaumourin, E., Igweb, A.C., Jongejan, F., Welburn, S.C., Piccozzi, K., 2016. Tick-borne pathogens of zoonotic and veterinary importance in Nigerian cattle. *Parasites Vectors* 9, 217. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1504-7>.
- Madder, M., Adehan, S., Deken, R.D., Adehan, R., Lokossou, R., 2012. New foci of *Rhipicephalus microplus* in West Africa. *Exp. Appl. Acarol.* 56, 385–390. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9522-4>.
- Mans, B.J., Pienaar, R., Latif, A.A., 2015. A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology. *Int. J. Parasitol.* 4, 104–118. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.12.006>. Including Articles from 'International Congress on Parasites of Wildlife', pp. 49–158.
- Mohamed, G., Ebied, M.H., 2014. Epidemiological studies on bovine Babesiosis and Theileriosis in Qalubia governorate. *BVMJ* 27, 36–48.
- Nijhof, A.M., Penzhorn, B.L., Lynen, G., Mollel, J.O., Morkel, P., Bekker, C.P.J., Jongejan, F., 2003. *Babesia bicornis* sp. nov. and *Theileria bicornis* sp. nov.: tick-borne parasites associated with mortality in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*). *J. Clin. Microbiol.* 41, 2249–2254. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.5.2249-2254.2003>.
- Nijhof, A.M., Pillay, V., Steyl, J., Prozesky, L., Stoltz, W.H., Lawrence, J.A., Penzhorn, B.L., Jongejan, F., 2005. Molecular characterization of *Theileria* species associated with mortality in four species of African antelopes. *J. Clin. Microbiol.* 43, 5907–5911. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.12.5907-5911.2005>.
- Nugteren, H., Le Côme, C., 2016. Libérer Le Potentiel Du Pastoralisme Pour Développer L'Afrique De l'Ouest, Fred Zaal. Thea Hilhorst et Jacqueline Suijs.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D., 2006. *Veterinary Medicine E-Book: A textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*. Elsevier Health Sciences.
- Roy, B.C., Estrada-Peña, A., Krücken, J., Rehman, A., Nijhof, A.M., 2018. Morphological and phylogenetic analyses of *Rhipicephalus microplus* ticks from Bangladesh, Pakistan and Myanmar. *Ticks Tick-Borne Dis.* 9, 1069–1079. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.03.035>.
- Schouls, L.M., Pol, I.V.D., Rijpkema, S.G.T., Schot, C.S., 1999. Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, and *Bartonella* species in Dutch ixodes ricinus ticks. *J. Clin. Microbiol.* 37, 2215–2222. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.7.2215-2222.1999>.

A.S. Ouedraogo et al.

Ticks and Tick-borne Diseases 12 (2021) 101733

- Silatsa, B.A., Simo, G., Githaka, N., Mwaura, S., Kamga, R.M., Oumarou, F., Keambou, C., Bishop, R.P., Djikeng, A., Kuate, J.-R., Njiokou, F., Pelle, R., 2019. A comprehensive survey of the prevalence and spatial distribution of ticks infesting cattle in different agro-ecological zones of Cameroon. *Parasites Vectors* 12, 489. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3738-7>.
- Simuunza, M., Weir, W., Courcier, E., Tait, A., Shiels, B., 2011. Epidemiological analysis of tick-borne diseases in Zambia. *Vet. Parasitol.* 175, 331–342. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.09.027>.
- Sisson, D., Hufschmid, J., Jolles, A., Beechler, B., Jabbar, A., 2017. Molecular characterisation of *Anaplasma* species from African buffalo (*Syncerus caffer*) in Kruger National Park, South Africa. *Ticks Tick Borne Dis* 8, 400–406. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.01.003>.
- Stachurski, F., Musonge, E.N., Achu-kwi, M.D., Saliki, J.T., 1993. Impact of natural infestation of *Amblyomma variegatum* on the liveweight gain of male Gudali cattle in Adamawa (Cameroon). *Vet. Parasitol.* 49, 299–311. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90128-A](https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90128-A).
- Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294–299.
- Walker, A., A. Bouattour, J.-L. Camicas, A. Estrada-Peña, I.G. Horak, A.A. Latif, R.G. Pegram, P.M. Preston, 2003. Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species. Bioscience Reports, Edinburgh.
- Yisaschar-Mekuzas, Y., Jaffe, C.L., Pastor, J., Cardoso, L., Baneth, G., 2013. Identification of *Babesia* species infecting dogs using reverse line blot hybridization for six canine piroplasm, and evaluation of co-infection by other vector-borne pathogens. *Vet. Parasitol.* 191, 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.002>.
- Zannou, O.M., Ouedraogo, A.S., Biguezoton, A.S., Lempereur, L., Patrick Yao, K., Abatih, E., Zougrana, S., Lenaert, M., Toe, P., Farougou, S., Saegerman, C., 2020. First digital characterization of the transhumance corridors through Benin used by cattle herds from Burkina Faso and associated risk scoring regarding the invasion of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Transbound. Emerg. Dis.* <https://doi.org/10.1111/tbed.13855>.

Section expérimentale

Etude 2 :

Implication de la transhumance transfrontalière dans la dissémination
des tiques et des agents pathogènes associés, et première mise en
évidence de *Anaplasma centrale* au Burkina Faso

Préambule

En Afrique de l'Ouest, les mouvements de transhumance sont induits par la longue durée (\approx 7-8 mois) de la saison sèche dans les pays du Nord (Mali, Niger, Mauritanie, Burkina Faso), et une installation précoce de la saison pluvieuse dans les pays du Sud (Côte d'Ivoire, Ghana, Togo, Bénin). Les déplacements s'effectuent par la marche à pied. Les troupeaux séjournent dans des écosystèmes divers à la recherche de pâturages. Les éleveurs de l'Est BF parcourent environ 150 à 200 km en 1-3 semaines pour atteindre le Nord BN. Ils y font un séjour d'environ 3-4 mois puis retournent au BF. L'étude 1 ayant montré une extension de l'aire de distribution de *R. microplus* au Nord BN et son absence à l'Est du BF, cette étude longitudinale a pour but de déterminer si cette tique n'est pas apportée via la transhumance des bovins à l'Est du BF. Des prélèvements de tiques et de sang de bovins ont été réalisés sur les mêmes bovins (N=210) à l'Est BF au départ de la transhumance (T0BF), au Nord BN dans la zone d'arrivée (T1BN), et au retour des transhumants à l'est du BF (T2BF). Le plus grand nombre d'espèces de tiques a été collecté à T1BN, correspondant au début de la saison pluvieuse. Certaines espèces de tiques telles que *A. variegatum*, *H. truncatum*, *H. rufipes*, *R. geigy*, *R. decoloratus* ont été identifiées au cours des trois prélèvements, sans une différence significative dans leurs abondances relatives, tandis que d'autres (*Hyalomma impeltatum*, *Hyalomma impressum*, *Hyalomma nitidum*, *Rhipicephalus lunulatus*) absentes à T0BF, ont été retrouvées uniquement à T1BN et/ou T2BF. Trois spécimens de l'espèce *R. microplus* (absente à T0BF et T1BN) ont été identifiés sur les bovins au retour de la transhumance (T2BF). L'infestation des bovins par des espèces telles que *A. variegatum*, *H. rufipes* et *R. decoloratus* est significativement liée aux fluctuations de l'humidité relative de l'air. Les agents pathogènes identifiés au cours des trois périodes de collecte étaient *T. annulata*, *T. mutans*, *T. velifera*, *B. bigemina* et *A. marginale*. Les plus prévalents étaient *T. mutans* et *T. velifera*. L'espèce *A. centrale* a été mise en évidence pour la première fois dans la zone. En dépit des variations saisonnières, la transhumance favorise la dissémination de certaines espèces de tiques, mais n'a pas d'influence sur les charges de tiques portées par les animaux transhumants.

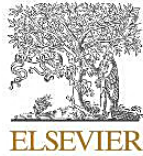
Section expérimentale

Etude 2 :

Cross border transhumance involvement in ticks and tick-borne pathogens dissemination and first evidence of *Anaplasma centrale* in Burkina Faso

Ticks and Tick-borne Diseases, 2021, 101781

Achille S. Ouedraogo, Olivier M. Zannou, Abel S. Biguezoton, Kouassi Patrick Yao, Adrien Belem, Souaibou Farougou, Marinda Oosthuizen, Claude Saegerman, Laetitia Lempereur



Contents lists available at ScienceDirect

Ticks and Tick-borne Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ttbdis

Cross border transhumance involvement in ticks and tick-borne pathogens dissemination and first evidence of *Anaplasma centrale* in Burkina Faso

Achille S. Ouedraogo^{a,b,*}, Olivier M. Zannou^{b,c}, Abel S. Biguezoton^b, Kouassi Patrick Yao^d, Adrien Marie Gaston Belem^e, Souaibou Farougou^f, Marinda Oosthuizen^g, Claude Saegerman^c, Laetitia Lempereur^{h,1}

^a Center for Fundamental and Applied Research for Animal and Health (FARAH), Faculty of Veterinary Medicine, ULiège, 4000, Liège, Belgium

^b Vector-borne Diseases and Biodiversity Unit (UMaVeB), International Research and Development Centre on Livestock in Sub-humid Areas (CIRDES), 454, Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

^c Research Unit in Epidemiology and Risk Analysis applied to veterinary sciences (UREAR-ULg), Fundamental and Applied Research for Animal and Health (FARAH) Center, Department of Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, ULiège, 4000, Liège, Belgium

^d UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny, BP V34, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

^e Institut du Développement Rural (IDR), Université Nazi BONI, 01 BP 1091, Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

^f Unité de Recherche sur les Maladies Transmissibles, Université d'Abomey-Calavi, BP 01 BP 2009 Cotonou, République du Bénin

^g Department of veterinary Tropical Diseases, Faculty Veterinary Science, University of Pretoria, 01 10, Onderspoort, South Africa

^h Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases, Fundamental and Applied Research for Animal and Health (FARAH) Center, Department of Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, ULiège, 4000, Liège, Belgium

ARTICLE INFO

Keywords:

Ticks
Tick-borne pathogens
Transhumance
Burkina Faso
Benin *Anaplasma centrale*

ABSTRACT

In West Africa, cross-border transhumance, also called seasonal migration, is known to be a very important animal production strategy, as it involves about 70 to 90% of cattle. In spite of the cattle movements, some strategic areas of transhumance remain poorly explored regarding ticks and their associated pathogens investigations. The purpose of this study is to evaluate the involvement of transhumance in the spread of cattle ticks and associated pathogens in Burkina Faso (BF) and Benin (BN), in a context of speedy invasion of West African livestock by *Rhipicephalus microplus*. A longitudinal survey was performed on 210 cattle from BF, monitored for ticks and tick-borne pathogens (TBP) during one seasonal transhumance. The first sampling coded "TOBF" took place in eastern BF, at the transhumance departure. A second sampling "T1BN" was carried out in northern BN, the transhumance arrival zone. A third sampling "T2BF" was done at the return of cattle in eastern BF. Ticks were morphologically identified and TBP detected with reverse line blot hybridization (RLB) assay. A total of 1027 ticks (7 species), 1006 ticks (11 species) and 1211 ticks (9 species) were respectively found at TOBF, T1BN and T2BF. Some species were collected at the three times of sampling without any significant difference in their relative abundances. However, other tick species appeared only at T1BN and/or T2BF. The TBP species found at the three points surveyed were *Theileria annulata*, *Theileria mutans*, *Theileria velifera*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale*. The most prevalent was *T. mutans* with 166/210 (79%), 159/210 (75.7%) and 78/210 (37%) cattle positive respectively at TOBF, T1BN and T2BF. *Anaplasma centrale* was evidenced with 0.5% and 0.9% respectively at TOBF and T2BF. To our knowledge, this represents its first report in the study area.

Overall, the TBP prevalences were significantly lower at T2BF, highlighting the effect of tick populations changes induced by transhumance combined with the seasonal variation influence.

* Corresponding author.

E-mail addresses: achillouedraogo@gmail.com (A.S. Ouedraogo), Olivier_mahunon@yahoo.fr (O.M. Zannou), babels005@yahoo.fr (A.S. Biguezoton), ykpatrick@yahoo.fr (K.P. Yao), belemamg@hotmail.fr (A.M.G. Belem), s.farougou@gmail.com (S. Farougou), marinda.oosthuizen@up.ac.za (M. Oosthuizen), claude.saegerman@uliege.be (C. Saegerman), Laetitia.lempereur@health.fgov.be (L. Lempereur).

¹ Current address: Federal Public Service, Public Health, food safety & environment, President services, Research coordination, Place victor Horta 40, 1060 Brussels, Belgium.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101781>

Received 7 April 2021; Received in revised form 1 July 2021; Accepted 4 July 2021

Available online 12 July 2021

1877-959X/© 2021 Published by Elsevier GmbH.

1. Introduction

In West Africa, livestock farming is characterized by seasonal movements of animals over varying distances. This is known as transhumance, defined as a system of animal production based on regular seasonal movements, occurring between complementary ecological zones. In the West African Sahel, the transhumant pastoralism is one of the most important strategy of livestock production, involving 70 to 90% of cattle (Bouslikhane, 2015). Herds migrate from pastures in the north where the rainy season is relatively short, to pastures further south where rainfall is higher and forage is more abundant (Djenontin et al., 2012; Brottem et al., 2014). These include countries such as Benin (BN), one of the wettest countries in West Africa. In the north of this country, the Atacora and Alibori departments receive a rainfall ranging from 700 to 1200 mm/year, which makes this region a suitable area for livestock farming and a favourite destination for Niger, Nigeria, Mali and Burkina Faso (BF) herders, seeking pasture and water points during the dry season (Lesse et al., 2015; Bouslikhane, 2015). After having walked between 150 and 200 km, farmers of eastern BF, coming from Gourma, Komienga and Tapoa provinces, reach northern BN (Atacora and Alibori departments) through four transhumance corridors, and three entry points identified by Zannou et al. (2020) (Fig. 1). Unfortunately, the stay of transhumant herds in northern BN represents a threat in recent years with regard to ticks and TBP. Indeed, for about ten years, BN has been

facing an invasion of livestock by the tick *R. microplus*, accidentally introduced in the south of the country in 2004 (Madder et al., 2012). Then, it spread and established from South (Mono department) to the northern departments (Borgou and Donga) only in a few years (De Clercq et al., 2012; Biguezoton et al., 2016). After molecular characterization of tick samples collected in whole of the four northern departments in 2017, a recent study evidenced its presence in Alibori and Atacora departments (Ouedraogo et al., 2021). This tick species represents a real threat as its introduction into a previously unaffected region could generate numerous issues: (i) due to its monophasic character combined with its faster life-cycle, and its high degree of acaricide-resistance, it can induce heavy burden infestation on animals (Tønnesen et al., 2004), (ii) it can induce competition with closest species (e.g. *Rhipicephalus decoloratus*) ending by their replacement, and the emergence of its acaricide-resistant populations, (iii) it could be at the origin of an increase of cattle babesiosis as it is known to be the efficient vector of piroplasm *B. bigemina* and *B. bovis* (Walker, 2003, Kabi et al., 2008; Adehan et al., 2016; Muhanguzi et al., 2020).

Rhipicephalus microplus is known to be introduced in the South-West of BF through transhumance movements with Ivory Coast. This results in an emergence of its acaricide resistant population in the region (Adakal et al., 2013). Meanwhile, regarding the eastern region, very limited knowledge about ticks and their associated pathogens are available, in spite of the transhumant movements with the northern Benin. This

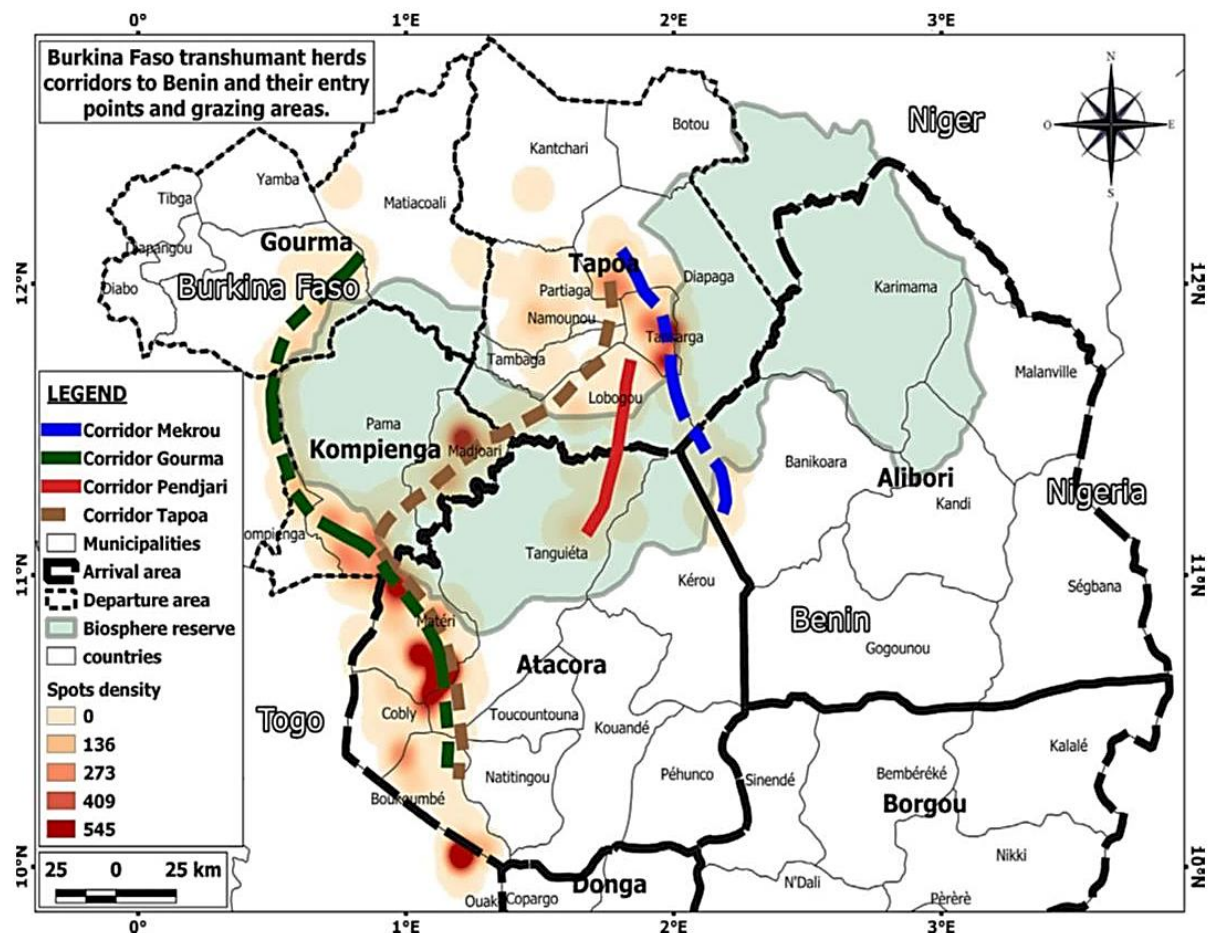


Fig. 1.. Transhumance corridors, grazing areas and entry points of Burkina Faso transhumant herds through Benin (Zannou et al., 2020).

context of invasion, combined with the lack of data in some strategic transhumance areas, led to the implementation of this study. It aims, on the one hand, to provide updated data on areas still poorly prospected (regarding Ticks and TBP), and on the other hand, to evaluate the involvement of transhumance of cattle, in the spread of ticks and their associated pathogens in West Africa, focusing on the eastern BF and northern BN.

2. Materials and methods

2.1. Study area and sampling strategy

A longitudinal survey was carried out in eastern BF, corresponding to a transhumance departure area, and in northern BN, which represents a transhumance arrival area. Sampling was conducted in randomly selected farms with the owners' consent. A minimum distance of 2 km was observed between herds to avoid closeness of sampling points (at TOBF), that were recorded with the name of the locality and GPS coordinates. Cattle of both sexes, young (3-12 months-old) and adult (over 12 months-old) were involved all along the study. They were subjected to a monitoring from December 2016 to August 2017, corresponding to one seasonal transhumance duration. Sampling was carried out based on the CIRDES ethics committee for animal experimentation approval (001-02/2017/CE-CIRDES) and with the owner verbal consent. Ticks and cattle blood were collected three times on the same animals. A first collect was done in eastern BF during dry season, between December 2016 and January 2017 (TOBF), selected cattle received labels as numbered earring. A second sampling was conducted in the transhumance arrival zone in northern BN from April to mid-July 2017 (T1BN) coinciding with the beginning of the rainy season. Then, a third

sampling was implemented from mid-July to end of August 2017 (T2BF), in eastern BF, upon the return of cattle in their original place (Fig. 2). For tick and blood collection cattle were kept in lateral decubitus. All ticks found on visible parts were systematically removed using pliers during around 15 min according to Biguezoton et al. (2016). Ticks collected were stored in collection tubes with 70% alcohol. Then, approximately 5 ml of peripheral blood per animal were collected from the tail vein or coccygeal vein in 9 ml ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) treated vacutainer tubes, kept (as spots) on Whatman FTA Cards, air-dried and then packaged in safelock sealed bags with silicagel. In addition, the air temperature and humidity were continuously recorded during all sampling with heat-chips (Waranet Solutions, France). A specific questionnaire was administered to record herd information and to assess their perception of the use and efficacy of compounds employed in animal cure. They also provided data on the type of products used, sources of supply, methods, periods and frequency of treatments.

2.2. Ticks and tick-borne pathogens identification

Ticks were morphologically identified according to Walker et al. (2003) identification key, using standard stereomicroscope at room temperature. Tick-borne pathogens detection was performed with DNA extracted from cattle blood dried on Whatman FTA cards, and from collected tick species of veterinary interest. Ticks were grouped (per species and per cattle) and crushed in pools of a maximum five individuals in 1.5 ml tubes. Six pieces of five mm diameter of dried blood Whatman FTA cards were cut and placed in 1.5 ml tubes, and the DNeasy Blood & Tissue Kit (Ref 69506, Qiagen; Hilden, Germany) was used according to the manufacturer's instructions. The quality and

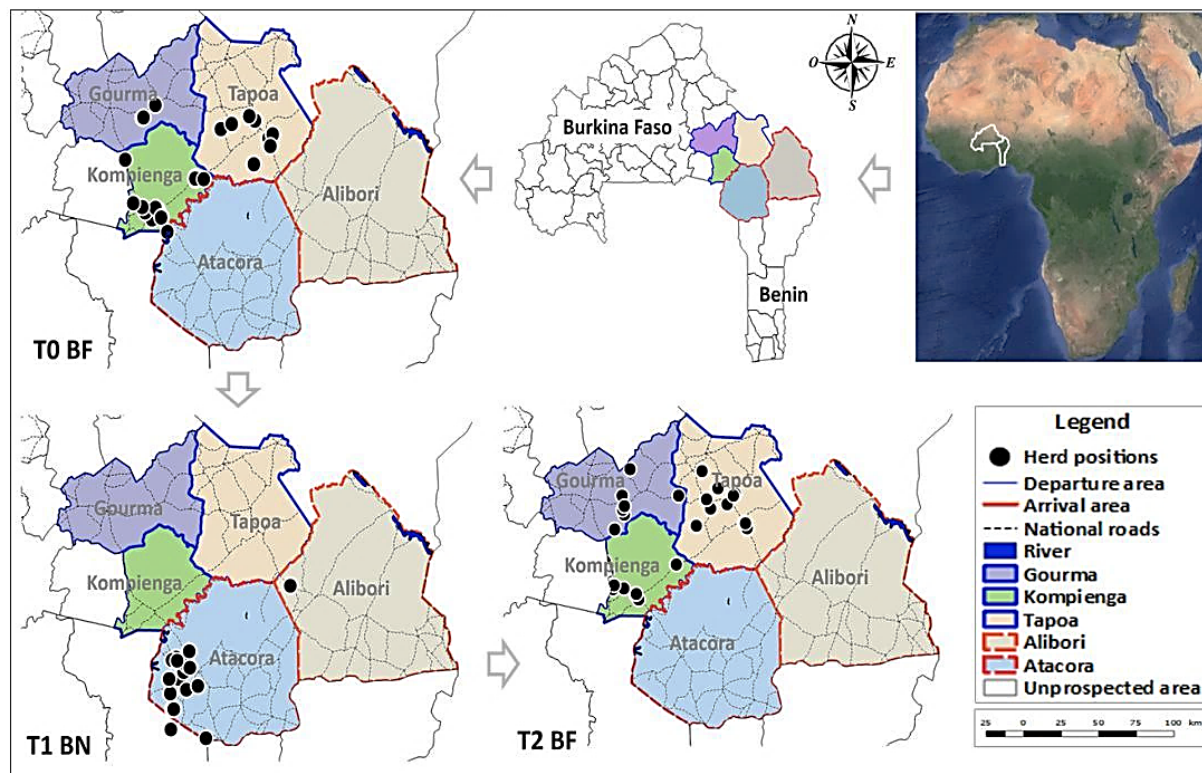


Fig. 2.. Map showing the herd positions during one seasonal transhumance: T0 in eastern Burkina Faso, T1 in northern Benin and T2 in eastern Burkina Faso. Legend: BF: Burkina Faso, BN: Benin.

quantity of the DNA obtained was measured with Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, USA). Each DNA sample obtained was first stored at -20°C, and then submitted to two generic PCR. The forward primer RLB-F2 (5'-GACACAGGGGAGGTAGTGACAAG-3') and the reverse RLB-R2 (biotin-5'-CTAAGAATTTGACCTCTGACAGT-3') targeting the 18S rRNA gene were used for *Theileria* and *Babesia* species detection following Nijhof et al. (2005). The forward primer Ehr-F (5'-GGAATT-CAGAGTTGGATCMTGGYTACG-3') and the reverse Ehr-R (5'-biotin-CGGGATCCCGAGTTTGGCGGGACTTYTCT-3') targeting the 16S rRNA gene were used for *Anaplasma* and *Ehrlichia* species detection following Bekker et al. (2002). PCR protocol was optimized using a Taq PCR Master Mix Kit (Qiagen, Hilden, Germany), achieving a final volume of 16 µl, containing 8 µl of pre-mastermix PCR buffer at 25 mM, 0.16 µl of each primer at 20 µM, 6.08 µl of H₂O and 20-50 ng of template DNA. PCR products obtained were used for pathogens detection specification with RLB hybridization process (Gubbels et al., 1999; Bekker et al., 2002; Nijhof et al., 2003; Nijhof et al., 2005). Detection using RLB assay required genus and species-specific oligonucleotide probes containing an N-terminal N-(trifluoroacetamido)hexylcyanoethyl, N,N-diisopropyl phosphoramidite)-C6 listed in Table 1, binded on a nylon Biodyne-C membrane. Positive controls for each pathogen were applied to the tests, and molecular grade water was used as negative control.

2.3. Tick-borne pathogens identification confirming

PCR-products of some samples showing positivity for tick-borne pathogens were subsequently sequenced using Sanger method (GIGA, ULiège, Belgium) after purification (QIAquick PCR Purification Kit, Qiagen; Hilden, Germany), to confirm RLB results. Priority was given to samples showing suspicious results and then samples giving the best

Table 1.
Sequences of the used reverse line blot oligonucleotide probes.

Genus and species-specific oligonucleotide probes	Probe Sequences (from 5'-3')	References
<i>Theileria/Babesia</i> gene-specific	TAA TGG TTA ATA GGA RCR GTT G	Gubbels et al. (1999)
<i>Ehrlichia/Anaplasma</i> gene-specific	GGG GGA AAG ATT TAT CQC TA	Bekker et al. (2002)
<i>Anaplasma marginale</i>	GAC CGT ATA CGC AGC TTG	Bekker et al. (2002)
<i>Anaplasma centrale</i>	TCG AAC GGA CCA TAC GC	Bekker et al. (2002)
<i>Anaplasma bovis</i>	GTA GCT TGC TAT GRG AAC A	Bekker et al. (2002)
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	TTG CTA TAA AGA ATA ATT AGT GG	Bekker et al. (2002)
<i>Ehrlichia ruminantium</i>	AGT ATC TGT TAG TGG CAG	Bekker et al. (2002)
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	ACC TTT TGG TTA TAA ATA ATT GTT	Schouls et al. (1999)
<i>Theileria annulata</i>	CCT CTG GGG TCT GTG CA	Georges et al. (2001)
<i>Theileria mutans</i>	CTT GCG TCT COG AAT GTT	Gubbels et al. (1999)
<i>Theileria annae</i>	CCG AAC GTA ATT TTA TTG ATT G	Yisaschar-Mekuzas et al. (2013)
<i>Theileria taurotragi</i>	TCT TGG CAC GTG GCT TTT	Gubbels et al. (1999)
<i>Theileria velifera</i>	CCT ATT CTC CTT TAC GAG T	Gubbels et al. (2000)
<i>Babesia occultans</i>	CCT CTT TTG GCC CAT CTC G	He et al. (2012)
<i>Babesia microti</i>	GRC TTG GCA TCW TCT GGA	Nijhof et al. (2003)
<i>Babesia major</i>	TCC GAC TTT GGT TGG TGT	Georges et al. (2001)
<i>Babesia bovis</i>	CAG GTT TCG CCT GTA TAA TTG AG	Gubbels et al. (1999)
<i>Babesia bigemina</i>	CGT TTT TTC CCT TTT GTT GG	Gubbels et al. (1999)

representativity of the surveyed localities. Consensus sequences were determined with the freely available BioEdit software (<http://www.mbi.o.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html#downloads>), and sequences similarities with available sequences in GenBank was evaluated via BLASTn program (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch).

Thereafter, sequences were aligned with Clustal W method and maximum likelihood phylogenetic trees were generated in Mega_X_10.1.7 (<https://www.megasoftware.net/>). The percentage of bootstraps were calculated applying 500 replicates.

2.4. Data analysis

The relative abundances of each tick species, and the TBP prevalences recorded on the three strategic times of the seasonal transhumance were compared with the non-parametric Kruskal-Wallis test in GraphPad Prism software version 9.0.1 (San Diego, CA, USA). Cattle were grouped by two-week intervals over the sampling periods and with regard to the sampling dates. Tick species average abundances were computed in each interval, to estimate the temporal variations of the abundances of each tick species in relation to relative humidity and temperature. This was performed using the Poisson adjustment model (identity link function) in Generalized linear models (GLM). Poisson regression coefficients of temperature and humidity (explanatory variables) were compared to the null hypothesis by Z test. The choice of the model was based on that minimizing the Akaike Information Criterion (AIC) and the residual deviance. This was performed in Stata/SE 14.2. For all analyses, a P-value below 0.05 was considered for statistical significance.

3. Results

3.1. Characteristics of cattle involved in the study

A total of 311 cattle belonging to 28 farms were involved in the study at TOBF in eastern Burkina Faso. Due to some external factors, such as deaths and losses, some cattle were not found at the second and third collection times. Thus, 260 were found at T1BN, and 233 at T2BF. Only data collected on N = 210 cattle (from the 28 hers) found at the three times of sampling were involved in the analysis. A total of 81 (38.6%) of them were between 3 and 12 months of age, while 129 (61.4%) were over 12 months old. There were 35 (16.7%) males and 175 (83.3%) females. After leaving eastern BF in dry season (December-January), the herds travel between 150 and 200 km for about 21 days to reach northern BN. Most of them (27/28; 96%) stay in Atacora department, where they practice free grazing, with access to crop residues and watering points. They live in this locality for about 3-4 months. The end of their stay corresponds with the beginning of the rainy season (May-June).

3.2. Tick species identified

On the 210 cattle sampled all along the study, a total of 13 tick species were found with an average number of ticks per cattle of 4.9 at TOBF, 4.8 at T1BN and 5.8 at T2BF. The species *Amblyomma variegatum*, *Hyalomma truncatum*, *Hyalomma rufipes*, *Rhipicephalus sanguineus* s.l., *Rhipicephalus geigy* and *R. decoloratus* were identified at all three times surveys with *A. variegatum* being the most sampled tick species (Table 2). A comparison of their relative abundance showed no significant difference ($p > 0.05$) when moving from the transhumance departure area to the arrival area and vice-versa. The largest number of tick species was collected in the northern BN with the additional presence of *Hyalomma impressum* (0.3%), *Hyalomma nitidum* (0.3%) and *Rhipicephalus annulatus* (0.01%). *Rhipicephalus mushamae* was sampled at TOBF and T1BN, while *Rhipicephalus lunulatus* was found at T1BN and T2BF. Only one individual of the invasive tick *R. microplus* was collected at T2BF (Table 2).

Table 2.
Tick species collected according to transhumance departure and arrival provinces/departments.

Tick species	T0 BF			Total No.(RA%)	T1 BN		Total No.(RA%)	T2 BF			Total No.(RA%)
	Gou (n=62)	Kom (n=75)	Tap (n=73)		Ali (n = 7)	Ata (n = 203)		Gou (n = 62)	Kom (n = 75)	Tap (n = 73)	
<i>Amblyomma variegatum</i>	199	125	134	458 (44.6)	21	406	427 (42.4)	151	222	257	630 (52.0)
<i>Hyalomma truncatum</i>	35	68	93	196 (19.1)	1	240	241 (24)	61	132	61	254 (21)
<i>Hyalomma rufipes</i>	21	28	40	89 (8.7)	15	180	195 (19.4)	52	103	76	231 (19.1)
<i>Hyalomma impeltatum</i>	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	2 (0.2)
<i>Hyalomma impressum</i>	—	—	—	—	—	3	3 (0.3)	—	—	—	—
<i>Hyalomma nitidum</i>	—	—	—	—	—	3	3 (0.3)	—	—	—	—
<i>Rhipicephalus lunulatus</i>	—	—	—	—	—	3	3 (0.3)	—	—	5	5 (0.4)
<i>Rhipicephalus sanguineus</i> s.l.	8	5	12	25 (2.4)	2	2	2 (0.2)	5	—	—	5 (0.4)
<i>Rhipicephalus muthanae</i>	1	—	1	2 (0.2)	—	3	3 (0.3)	—	—	—	—
<i>Rhipicephalus geigy</i>	43	43	21	107 (10.4)	—	106	106 (10.5)	7	69	1	77 (6.4)
<i>Rhipicephalus decoloratus</i>	17	18	42	77 (7.5)	—	22	22 (2.2)	3	2	1	6 (0.5)
<i>Rhipicephalus microplus</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1 (0.01)
<i>Rhipicephalus annulatus</i>	—	—	—	—	—	1	1 (0.01)	—	—	—	—
Total				1027 (100)			1006 (100)				1211 (100)

RA: Relative Abundance; Gou: Gourma, Kom: Komienga, Tap: Tapoa, Ata: Atacora; Ali: Alibori; n : number of bovine sampled in each province, No: total number of cattle.

3.3. Variation of tick species abundance during transhumance

The average number of ticks per cattle was computed by two weeks intervals, extended over the sampling period. The average number of *A. variegatum* and *H. rufipes* increases globally from T0BF to T2BF and is significantly related to the air relative humidity (Coef: 0.01; $p < 0.05$). The opposite phenomenon was observed with *R. decoloratus*. The average number of this species decreases from T0BF to T2BF and is inversely proportional to the relative humidity (Coef: -0.003; $p < 0.0001$). The variation of *H. truncatum* and *R. geigy* abundances does not show any particular upward or downward trend, and does not depend on relative humidity ($p > 0.05$). The average temperature does not fluctuate widely over the collection period and does not show a significantly link with the variation of any tick species burden on cattle ($p > 0.05$) (Fig. 3, Table 3).

3.4. Evaluation of nymph and adult *Amblyomma variegatum* burdens of cattle

A focus on the most abundant tick species in the study area, *A. variegatum*, revealed a low presence of adult ticks at T0BF. Adult abundance increases from T1BN until reaching sometimes 3 individuals per cattle at T2BF. This variation is significantly related to the relative humidity (Coef: 0.03; $p < 0.0001$) (Table 4). In the contrary, the cattle burden in nymph *A. variegatum* infestation decreases from T0BF to T2BF, and is inversely related to relative humidity variations (Coef: -0.01; $p < 0.0001$) (Fig. 4, Table 4).

3.5. Tick-borne pathogens identification in cattle blood

The TBP species found at the three times survey were *T. annulata*, *T. mutans*, *T. velifera*, *B. bigemina* and *A. marginale*. The most prevalent was *T. mutans* with 79%, 75.7% and 37.1% of cattle positive respectively at T0BF, T1BN and T2BF. The species *B. bovis*, was found only at T0BF with

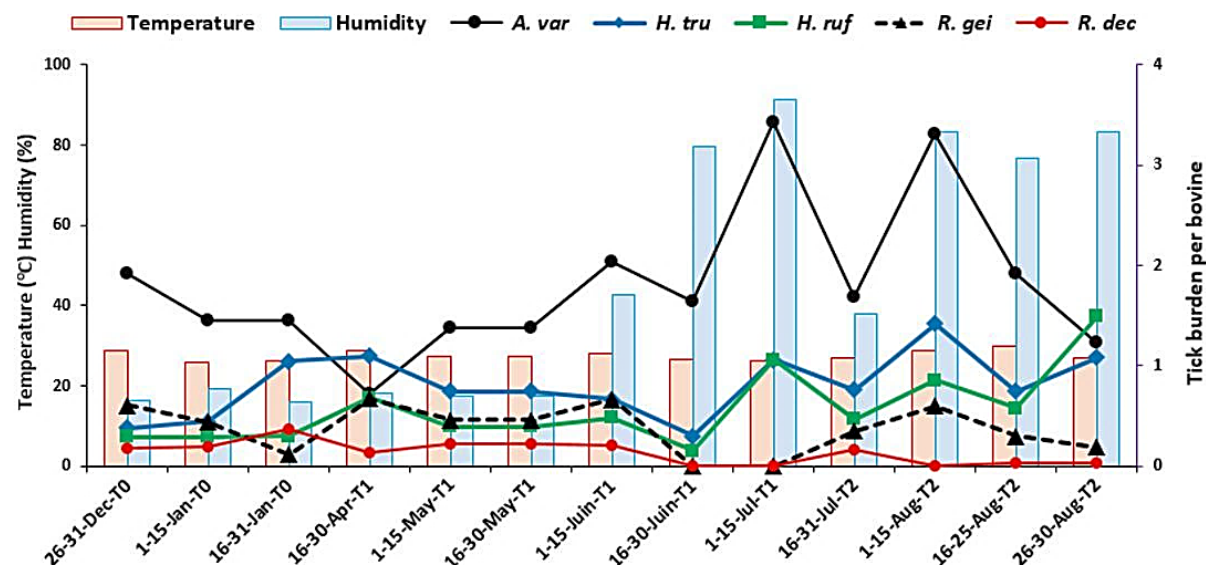


Fig. 3.. Evaluation of cattle tick burden during the study period in relation to environmental relative humidity and temperature. A. var: *Amblyomma variegatum*, H. tru: *Hyalomma truncatum*, H. ruf: *Hyalomma rufipes*, R. gei: *Rhipicephalus geigy*, R. dec: *Rhipicephalus decoloratus*.

Table 3.
Link between relative humidity and temperature, and the variation of the average tick burden on cattle during transhumance.

	A. variegatum			H. truncatum			H. rufipes			R. geigy			R. decoloratus		
	Coef	SE	P	Coef	SE	P	Coef	SE	P	Coef	SE	P	Coef	SE	P
Temp	-0.048	±0.033	0.152	0.008	±0.026	0.74	-0.003	±0.018	0.85	-0.016	±0.017	0.35	-0.01	±0.006	0.01
Hum	0.012	±0.004	0.006	0.002	±0.003	0.47	0.005	±0.0025	0.028	-0.002	±0.001	0.3	-0.003	±0.0007	< 0.0001

Coef : poisson regression coefficients; SE : standard error ; P: p-value of Z test comparing poisson regression coefficients with null hypothesis

Table 4.
Burdens of *Amblyomma variegatum* stages evaluation on cattle during one seasonal transhumance in relation to relative humidity and temperature.

	Adult <i>Amblyomma variegatum</i>			Nymph <i>Amblyomma variegatum</i>		
	Coef	SE	p value	Coef	SE	p value
Temperature	0.015	± 0.014	0.3	-0.06	± 0.03	0.038
Humidity	0.025	± 0.003	< 0.0001	-0.01	± 0.003	< 0.0001

Coef : poisson regression coefficients; SE: standard error; P: p-value of Z test comparing poisson regression coefficients with null hypothesis

3.3 % of cattle positive, while *B. bigemina* was detected at TOBF (4.8%), T1BN (9.5%) and T2BF (1.4 %) (Table 5). The *A. centrale* species was evidenced with low prevalences at TOBF and T2BF. Globally, the TBP prevalences were significantly lower ($p < 0.05$) at T2BF, than at TOBF and T1BN according to Kruskal-Wallis test (Fig. 5, Table 5).

3.6. Tick-borne pathogens identification in tick pools

Overall, TBP prevalences were lower in tick pools than in cattle blood. A total of 347 pools were analyzed at TOBF and six TBP species were identified, 332 pools analyzed at T1BN for two TBP species identified, and 304 pools analyzed at T2BF with six TBP species found (Table 6). *T. mutans* was the TBP species mostly detected at the three times of sampling with 4.9% (17/347), 2.1% (7/332) and 9.5% (29/304) of positive pools respectively at TOBF, T1BN and T2BF. The second most prevalent tick species was *T. velifera* identified with 2.3% (8/347), 0.6% (2/332) and 4.3% (13/304) of positive pools respectively at TOBF, T1BN and T2BF (Table 6).

3.7. Phylogenetic analyses

Analysis of sequences through BLASTn showed high identity values (i.e. 99-100) with published sequences in GenBank database, confirming TBP molecular identification with RLB hybridization assay. Furthermore, in Fig. 6A, the maximum likelihood phylogenetic tree showed a perfect clustering of *A. centrale* sequence (MW544746) generated in this survey, in clade I with other strains from South Africa (KU598854.1), Philippines (JQ839010.1), China and Iraq (MH588233.1). A similar observation is noted for *Ehrlichia ruminantium* sequence (MW544747), which grouped in clade III with sequences from West, East and South Africa. These two clades are clearly distinguishable from clade II, which regroup only *A. marginale* strains. In Fig. 6B, *B. bigemina* sequence (MW545174) generated in this survey clustered with that of Brazil (KC858976.1) and to a lesser extent, that of China (MG874651.1).

4. Discussion

In savannah regions such as BF, the breeders practice transhumance for the search of green pastures and water points for livestock during droughts (Abdourazakou, 2016). In this study, the sampling strategy, which consisted to conduct the first survey (TOBF) at the herds' departure for transhumance, coincided with the dry season. As relative humidity and temperature have been reported as predominant factors influencing the life cycle activity and fecundity of tick populations (Yeruham et al., 1996; Yakhchali and Hosseine, 2006), this certainly led to the sampling of tick species and tick stages that tolerate low levels of relative humidity and high temperature. According to data collected, the influences of these factors were mainly apparent in the case of

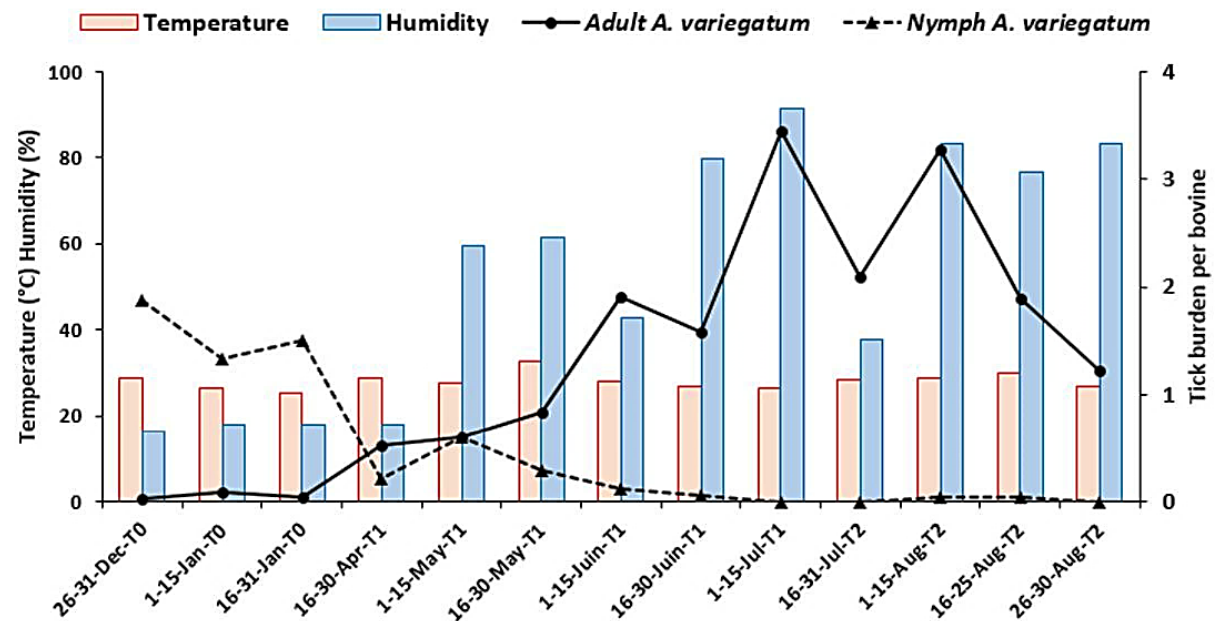


Fig. 4.. Variation of *Amblyomma variegatum* nymph and adult stages abundance during one seasonal migration.

Table 5.
Tick-borne pathogens found in cattle.

Tick species	T0 Burkina Faso			N=210 (P %)	T1 Benin			T2 Burkina Faso			N=210 (P %)	K-W (p-value)
	Gou (n=62)	Kom (n=75)	Tap (n=73)		Ata (n=203)	Ali (n=7)	Gou (n=62)	Kom (n=75)	Tap (n=73)			
<i>Theileria annulata</i>	—	2	1	3 (1.4)	22	—	22 (10.5)	1	—	1 (0.5)	4.82 (0.089)	
<i>Theileria mutans</i>	29	66	71	166 (79)	155	4	159 (75.7)	60	18	78 (37)	17.97 (< 0.0001)	
<i>Theileria velifera</i>	19	55	61	135 (64.3)	127	1	128 (61)	35	8	43 (20.5)	24.50 (< 0.0001)	
<i>Babesia bovis</i>	—	3	4	7 (3.3)	—	—	—	—	—	—	—	
<i>Babesia bigemina</i>	2	4	4	10 (4.8)	19	1	20 (9.5)	3	—	3 (1.4)	10.81 (0.0045)	
<i>Anaplasma marginale</i>	—	4	2	6 (2.9)	23	—	23 (11)	—	—	2 (1)	14.33 (0.0008)	
<i>Anaplasma centrale</i>	—	1	—	1 (0.5)	—	—	—	—	2	2 (0.9)	—	

Gou: Gourma, Kom: Komienga, Tap: Tapoa, Ata: Atacora, Ali : Alibori, K-W : Kruskal Wallis test

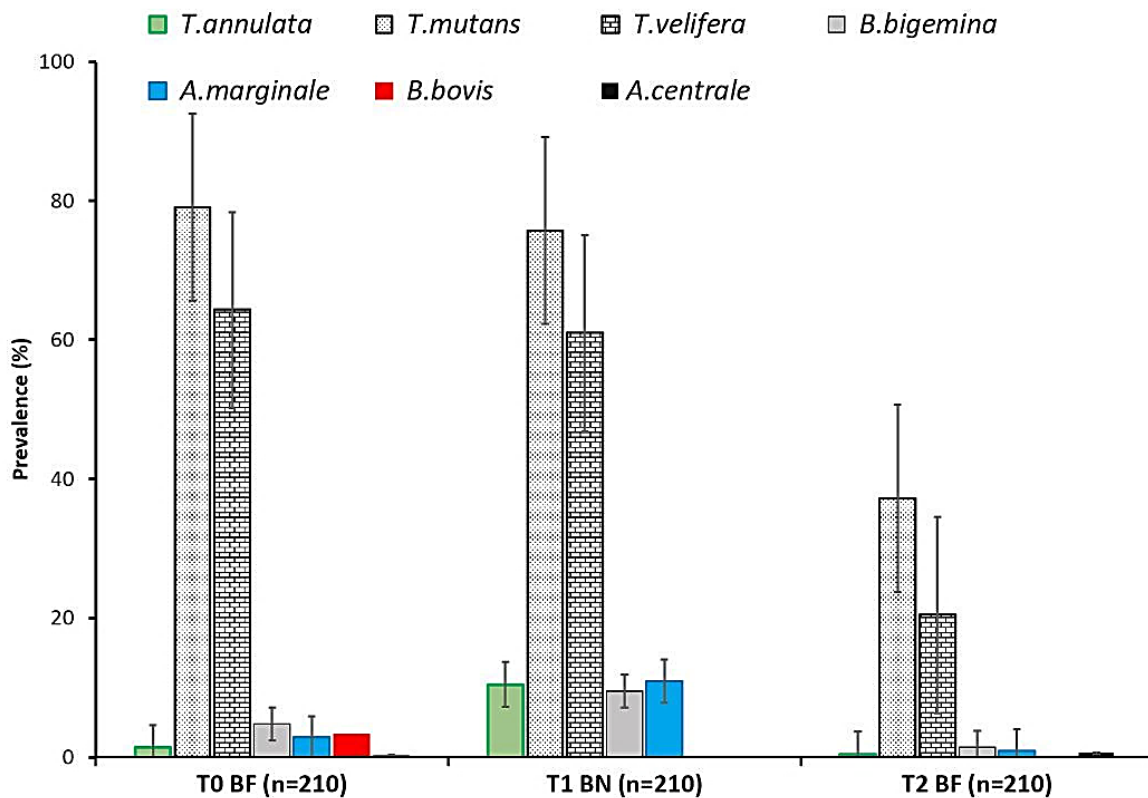


Fig. 5.. Overall prevalence of tick-borne pathogens found in cattle blood at TOBF, T1BN and T2BF. Legend: BF: Burkina Faso, BN: Benin.

A. variegatum, the most abundant and the most collected tick species in the study area (Stachurski, 2000; Adakal et al., 2010 ; Kouassi et al., 2016 ; Biguezoton et al., 2016). The nymphs *A. variegatum* were highly abundant at TOBF at the herds departure for transhumance as in *A. variegatum* triphasic life cycle, the nymph stage infests hosts (cattle) preferentially in dry season with peaks in January and February in tropical regions (Stachurski et al., 1993). After cattle moving in northern BN (T1BN), a decrease of nymph abundance and an increase of the adult abundance was observed. This result could reflect the fact that at T1BN, nymphs have finished their blood feeding on cattle. They therefore let themselves drop into the vegetation on the ground, to achieve moulting

(transition from nymph to adult) for between 30-60 days (Pegram and Banda, 1990). Simultaneously, the nymphs that have finished moulting at TOBF (“new” adults), begin to climb on cattle at T1BN for their blood feeding and mating. The males attach first and produce attractive pheromones (AAP: aggregation-attachment pheromones) for the females who then attach. The blood meal varies from 6 to 7 days in males and up to 8 days in females (Barre and Garris, 1990; Stachurski, 2000). This will lead them to engorgement, required for eggs laying and then hatching. Such blood meal coincides with the warmer season of the year, which corresponds to T2BF in this survey, resulting in an increase in their abundance. This explains why *A. variegatum* adult’s abundance is

Table 6.
Prevalence of tick-borne pathogens detected in tick pools.

Tick Species	Tick Pools (1-5 ticks)	<i>T. annulata</i> No. (%)	<i>T. mutans</i> No. (%)	<i>T. velifera</i> No. (%)	<i>B. bovis</i> No. (%)	<i>B. bigemina</i> No. (%)	<i>E. ruminantium</i> No. (%)
T0 BURKINA FASO							
<i>Amblyomma variegatum</i>	176	3 (1.7)	12 (6.8)	5 (2.8)	—	1 (0.6)	1 (0.6)
<i>Hyalomma rufipes</i>	58	—	—	1 (1.7)	—	—	—
<i>Rhipicephalus geigy</i>	59	—	4 (6.8)	—	1 (1.7)	—	—
<i>Rhipicephalus decoloratus</i>	54	2 (3.7)	1 (1.9)	2 (3.7)	1 (1.9)	—	—
	N=347	5 (1.4)	17 (4.9)	8 (2.3)	2 (0.6)	1 (0.3)	1 (0.3)
T1 BENIN							
<i>Amblyomma variegatum</i>	177	—	2 (1.1)	1 (0.6)	—	—	—
<i>Hyalomma rufipes</i>	93	—	2 (2.2)	—	—	—	—
<i>Rhipicephalus geigy</i>	48	—	1 (2)	1 (2)	—	—	—
<i>Rhipicephalus decoloratus</i>	13	—	2 (15.4)	—	—	—	—
<i>Rhipicephalus annulatus</i>	1	—	—	—	—	—	—
	N=332	—	7 (2.1)	2 (0.6)	—	—	—
T2 BURKINA FASO							
<i>Amblyomma variegatum</i>	212	1 (0.5)	21 (9.9)	6 (2.8)	—	1 (0.5)	2 (0.9)
<i>Hyalomma rufipes</i>	65	—	7 (10.8)	7 (10.8)	1 (1.5)	—	—
<i>Rhipicephalus geigy</i>	22	—	1 (4.5)	—	—	—	—
<i>Rhipicephalus decoloratus</i>	4	—	—	—	—	—	—
<i>Rhipicephalus microplus</i>	1	—	—	—	—	—	—
	N=304	1 (0.3)	29 (9.5)	13 (4.3)	1 (0.3)	1 (0.3)	2 (0.7)

positively related to the relative humidity variations, while the nymph's abundance is negatively related. Another tick species whose abundance is positively and significantly related with the relative humidity variations is *H. rufipes*, but this only concerns its adult stage, as *Hyalomma* immature stages preferentially parasitize birds and small rodents (Bakirci et al., 2011 ; Tomassone et al., 2004). Knowing *Hyalomma* species could be di- or triphasic, their low infestation in cattle at TOBF could be related to the fact that nymphs were completing their metamorphosis in the environment, and "new" adults had not yet started infesting the hosts. At the beginning of the rainy season at T1BN, they achieve moulting and begin to infest cattle and become more present at T2BF. Meanwhile, a negative relation was observed in *R. decoloratus* abundance with relative humidity. This is in line with some previous findings (Katiyatiya et al., 2014; Yawa et al., 2018) who reported that the favorable period for *R. decoloratus* proliferation is in summer, close to the beginning of rainy season in tropical regions (T1BN). Consequently, the increase of the relative humidity in rainy season (T2BF), leads to a decrease of its population as shown in Table 2. The abundance of the species *R. geigy* did not show any significant correlation with relative humidity variations. This is similar to the finding of Farougou (2009), who highlighted only a moderate correlation of this species to rainfall. As others *Boophilus* species, it presents several generations per year in tropical regions and occur at different periods. The temperature did not vary significantly during the study period; it did not show any particular influence on the level of infestation of tick species in cattle. Tick species such as *H. impressum*, *H. nitidum*, *R. lunulatus* and *R. annulatus* appeared only at T1BN and/or T2BF due to the beginning of the rainy season in March-April (T1BN) which triggered the end of the diapause period and their return to activity (host search, eggs hatching) as previously reported by Farougou et al. (2007).

Sampled herds were not invaded by *R. microplus* ticks at the return of cattle from transhumance at T2BF in eastern BF. Considering the 210 cattle surveyed, only one male specimen of *R. microplus* was identified on a male cattle less than 12 months old. It belonged to a herd having stayed in northern BN in Atacora department, in Materi commune. Moreover, at T2BF, three specimens (one male and two females) of the invasive tick species were also sampled on another cattle, not included in the group of the 210 animals followed. This animal belongs to another herd which has also stayed in the same commune in Benin. According to the distribution of risk scores for the occurrence and establishment of *R. microplus* in the study area (Zannou et al., 2020), this commune

appears to be one of the localities showing the highest risk scores (69-80%). As some transhumant herds stayed in the same commune, this could lead to suggest an infestation of more transhumant cattle by *R. microplus*, but which were not detected. Some cattle involved in the survey were only infested at T1BN and/or T2BF by *H. impressum*, *H. nitidum*, *R. lunulatus*, *R. annulatus* (Table 2). These results evidenced that transhumance can favour new tick species acquisition by concerned animals. However, regarding the species recorded at the three periods of sampling, their relative abundance did not significantly vary. This suggests that transhumance can influence animal infestation by new tick species, without necessarily impacting tick abundance on transhumant animals. However, new tick species infestations during transhumance may lead to an increase of animals infestation level in a given region (Adakal et al., 2013; Biguezoton et al., 2016; Muhanguzi et al., 2020). Changes induced in tick populations by transhumance necessarily influence the prevalences of circulating TBP. At TOBF and T1BN, the TBP such as *T. mutans* and *T. velifera* prevalences recorded are in line with previous values reported in the study area (Ouedraogo et al., 2021) and in other African countries (Simuunza et al., 2011; Lorusso et al., 2016; Abanda et al., 2019). These two pathogens were the most prevalent at the three points of transhumance, showing overall prevalences significantly lower at T2BF, without a decrease of their vector tick population, *A. variegatum* (Bishop et al., 2004). Indeed, data obtained from the epidemiological survey revealed a large use of trypanocidal compounds among farmers involved in the survey (26/28, 92.9% of farmers) in rainy season, to prevent trypanosomosis. These include compounds such as diminazene aceturate, which is known to have an inhibitory effect on *Theileria* and *Babesia* species (Baek et al., 2002). This could lead to the detection of low prevalences of *Theileria* and *Babesia* species at T2BF. Moreover, the low prevalences of *B. bigemina* at T2BF and of *A. marginale* at TOBF and T2BF could be attributed to the low infestation of cattle by *R. decoloratus* (Walker, 2003), one of their vector ticks. The occurrence of this species is known to be favoured by low rainfall (Sungirai et al., 2018) such as the beginning of rainy season at T1BN.

Tick-borne pathogens identifications in cattle blood were confirmed by their presence in tick DNA samples. Except *E. ruminantium* and *A. centrale*, all TBP detected in cattle were also found in ticks, but with lower prevalences (Table 6). However, some TBP species were found in certain tick not known to be their vector (e.g. *B. bigemina* in *A. variegatum*). As this survey is not focusing on the competency assessment but on the circulating pathogens in tick and cattle during

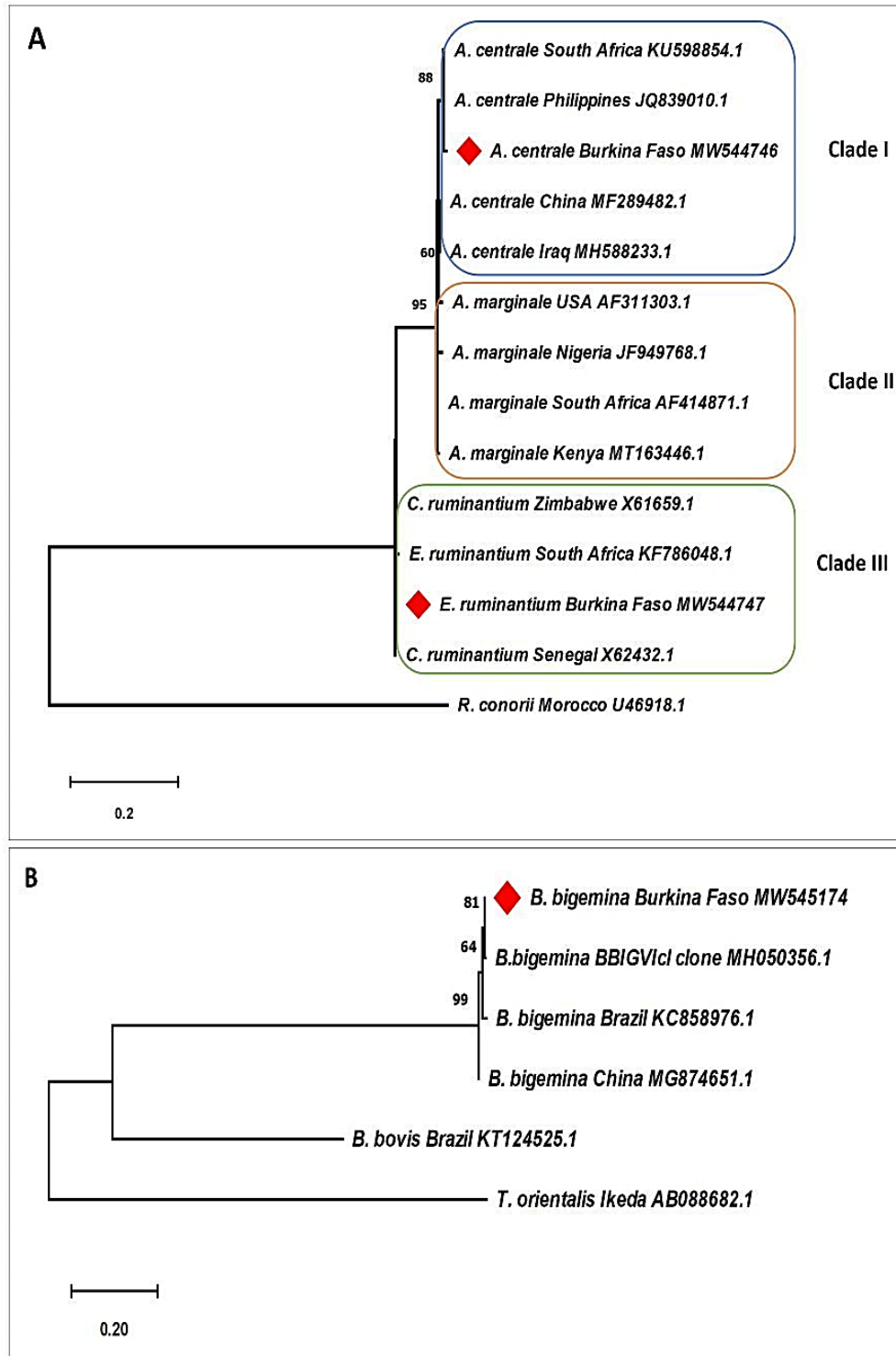


Fig. 6.. Phylogenetic trees of 16S rRNA gene sequences of *Ehrlichia/Anaplasma* (A) and 18S rRNA gene sequences of *Babesia bigemina* (B) constructed with the Maximum Likelihood method. Evolutionary history was inferred applying Tamura-Nei model. Red squares refer to sequences generated in the present study.

transhumance, we did not investigate if these tick species are competent for the concerned pathogen transmission. Nevertheless, it is noteworthy that blood was scraped from engorged ticks prior to DNA extraction, but it is not excluded that they could be positive because of a blood meal taken from infected animals. Elsewhere, this survey evidenced some TBP species, rarely reported in the study area. This include *T. annulata*, whose presence was reported for the first time in 2021 (Ouedraogo et al., 2021). This concern also *A. centrale*, detected in cattle at TOBF and T2BF, with prevalence in line with that reported in Nigeria (Lorusso et al., 2016). To the best of our knowledge, this represents the first report of this TBP species in BF. Even if it is known to cause only milder form of cattle anaplasmosis (Rajput et al., 2005), its detection in the present study is of significant importance as this provides new findings on BF tick-borne pathogens knowledge.

The main limitation of this survey was that a new tick collection has not been possible in eastern BF after the return of the transhumant herds. The detection of a few specimens of *R. microplus* is not sufficient to confirm the establishment of the species in the study area. A new collection supplemented by molecular characterisation of *R. microplus* and a study on its spatial dissemination is further required.

5. Conclusions

The impact of transhumance on the spread of ticks and their associated pathogens is closely linked to the influence of seasonal variations, as the transhumance duration is extended over rainy and dry seasons in tropical regions. Pastoralists in eastern BF leave their farms in the dry season because of late onset of rains, but expose their cattle to new tick species (e.g. *H. impressum*, *H. nitidum*, *R. lunulatus*, *R. annulatus*, *R. microplus*) infestations in northern BN, where the rainfall settles earlier. Some of these tick species (e.g. *R. lunulatus*, *R. microplus*) remain on cattle until they return in eastern BF, while others disappear or their abundance decreases (e.g. *R. geigy*, *R. decoloratus*) due to the completion of their natural life cycle. These different variations necessarily influence the TBP prevalences during the seasonal transhumance. Overall, TBP prevalences were high at TOBF and T1BN, and low at T2BF, not only because of the fluctuations in their vector tick populations, but also because of the use of diminazene aceturate having proved inhibitory effect on *Theileria* and *Babesia* species (Baek et al., 2002). Elsewhere, this survey highlights for the first time the presence of *A. centrale* in BF, providing new data on its dissemination pattern in western Africa.

Ethics approval and consent to participate

The study was approved by CIRDES ethics committee (CE-CIRDES) for animal experimentation according to the reference number 001-02/2017/CE-CIRDES and was based on verbal consent of farmers

Availability of data and materials

The datasets used during the current study are available from the corresponding author on reasonable request

Funding

This work was supported by the Academy of Research and Higher Education (ARES-CCD) [RPD Transticks].

Sample Credit author statement

Laetitia LEMPEREUR (LL), Abel BIGUEZOTON (AB), Patrick Yao KOUASSI (PYK), Claude SAEGERMAN (CS): Conceptualization, Methodology, Project administration Achille Sougrinoma OUEDRAOGO (ASO), Olivier Mahuton ZANNOU (OMZ): Data acquisition & Field work; LL, AB: Supervision ASO: Writing - original draft; LL, CS, AB, Marinda OOSTHUIZEN, Souaïbou FAROUGOU, Adrien Marie Gaston

BELEM, PYK: Review & editing

Author statement

The content of this paper has not been published and is not under consideration for publication elsewhere. No competing interests. All authors approve its publication

Declaration of Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgment

The authors are grateful to Adrien Zoungrana and Sebastien Zoungrana from CIRDES (Bobo-Dioulasso), Milana Troskie from the University of Pretoria (South Africa) for their technical support. They thank farmers of eastern BF for their consent to participate in this study. They are also grateful to agents of the veterinary services and local authorities of eastern BF and northern BN for their collaboration. Positive controls were provided by the Department of veterinary Tropical Diseases, Faculty Veterinary Science, University of Pretoria and the Institute of Tropical Medicine of Antwerp (South Africa).

References

- Abanda, B., Pagnou, A., Abdoulmoumini, M., Kingsley, M.T., Renz, A., Eisenbarth, A., 2019. Molecular identification and prevalence of tick-borne pathogens in zebu and taurine cattle in North Cameroon. *Parasit. Vectors* 12, 448. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3699-x>.
- Abdourazakou, A., 2016. La transhumance transfrontalière: source de dégradation du couvert végétal et de conflits dans la région des savanes (Nord-Togo), 2. Rev. Géographie Univ.
- Adakal, Biguezoton, A., Zoungrana, S., Courtin, F., De Clercq, E.M., Madder, M., 2013. Alarming spread of the Asian cattle tick *Rhipicephalus microplus* in West Africa—another three countries are affected: Burkina Faso, Mali and Togo. *Exp. Appl. Acarol.* 61, 383–386. <https://doi.org/10.1007/s10493-013-9706-6>.
- Adakal, H., Gavotte, L., Stachurski, F., Konkobo, M., Henri, H., Zoungrana, S., Huber, K., Vachiere, N., Martinez, D., Morand, S., Frutos, R., 2010. Clonal origin of emerging populations of *Ehrlichia ruminantium* in Burkina Faso. *Infect. Genet. Evol.* 10, 903–912. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2010.05.011>.
- Adehan, S.B., Abel Biguezoton, A., Adakal, H., Assogba, M.N., Zoungrana, S., Gbaguidi, A.M., 2016. Acaricide resistance of *Rhipicephalus microplus* ticks in Benin. *Afr J Agric Res* 11 (14), 1199–1208. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10619>, 2016.
- Baek, B.-K., Lee, Y.-J., Kim, B.-S., 2002. Antiparasitic Effect of Diminazene Aceturate on *Theileria sergenti* Types in Calves. *Korean J. Vet. Res.* 42, 261–268.
- Bakirci, S., Sarali, H., Aydin, L., Latif, A., Eren, H., Karagenc, T., 2011. *Hyalomma rufipes* (Koch, 1844) infesting cattle in the West Aegean region of Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 35, 359–363.
- Barre, N., Garris, G.L., 1990. Biology and ecology of *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae) in the Caribbean: implications for a regional eradication program. *J. Agric. Entomol.* 7, 1–9.
- Bekker, C.P.J., de Vos, S., Taoufik, A., Sparagano, O.A.E., Jongejan, F., 2002a. Simultaneous detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ruminants and detection of *Ehrlichia ruminantium* in *Amblyomma variegatum* ticks by reverse line blot hybridization. *Vet. Microbiol.* 89, 223–238. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00179-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00179-7).
- Biguezoton, A., Adehan, S., Adakal, H., Zoungrana, S., Farougou, S., Chevillon, C., 2016. Community structure, seasonal variations and interactions between native and invasive cattle tick species in Benin and Burkina Faso. *Parasites Vectors* 9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1305-z>.
- Bishop, R., Musoke, A., Morzaria, S., Gardner, M., Nene, V., 2004. *Theileria*: intracellular protozoan parasites of wild and domestic ruminants transmitted by ixodid ticks. *Parasitology* 129, S271–S283. <https://doi.org/10.1017/S0033182003004748>.
- Bouslikhane, M., 2015. Cross Border Movements of Animals and Animal Products and their Relevance to the Epidemiology of Animal Diseases in Africa. L'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), Paris, France.
- Brotten, L., Turner, M.D., Butt, B., Singh, A., 2014. Biophysical variability and pastoral rights to resources: West African Transhumance Revisited. *Hum Ecol* 42, 351–365. <https://doi.org/10.1007/s10745-014-9640-1>.
- Djenontin, J.A., Madjidou, O., Houinato, M.R., Mensah, G.A., Sinsin, B.A., 2012. Le calendrier pastoral en élevage extensif dans le Nord-Est du Bénin : un outil de gestion du cheptel bovin de l'exploitation. *Science et changements planétaires /Sécheresse* 23, 261–270. <https://doi.org/10.1684/sec.2012.0350>.
- Farougou, S., Tassou, A.W., Tchabode, D.M., Kpodekon, M., Boko, C., Youssao, A.K.I., 2007. Tiques et hémoparasites du bétail dans le nord-Bénin. *Rev. Méd. Vét.* 158, 463–467.

A.S. Ouedraogo et al.

Ticks and Tick-borne Diseases 12 (2021) 101781

- Georges, K., Loria, G.R., Riili, S., Greco, A., Caraccappa, S., Jongejan, F., Sparagano, O., 2001. Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridisation with a note on the distribution of ticks in Sicily. *Vet. Parasitol.* 99, 273–286. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00488-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00488-5).
- Gubbels, J.M., Vos, A.P.deD., Weide, M.van V.derD., Viseras, J., Schouls, L.M., Vries, E.deD., Jongejan, F., 1999. Simultaneous Detection of Bovine Theileria and Babesia Species by Reverse Line Blot Hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1782–1789.
- Gubbels, M.-J., Katzer, F., Hide, G., Jongejan, F., Shiels, B.R., 2000. Generation of a mosaic pattern of diversity in the major merozoite-piroplasm surface antigen of *Theileria annulata*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 110, 23–32. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(00\)00253-X](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(00)00253-X).
- He, L., Feng, H.-H., Zhang, W.-J., Zhang, Q.-L., Fang, R., Wang, L.-X., Tu, P., Zhou, Y.-Q., Zhao, J.-L., Oosthuizen, M.C., 2012. Occurrence of *Theileria* and *Babesia* species in water buffalo (*Bubalus bubalis*, Linnaeus, 1758) in the Hubei province, South China. *Vet. Parasitol.* 186, 490–496. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.021>.
- Kabi, F., Magona, J.wW., Nasinyama, G.wW., Walubengo, J., 2008. Sero-prevalences of Tick-borne infections among the Nkedi Zebu and Ankole cattle in Soroti district, Uganda. *J. Protozool. Res.* 18, 61–70. https://doi.org/10.32268/jprotozoology.18.2_61.
- Katiyatiya, C.L.F., Muchenje, V., Mushunje, A., 2014. Farmers' Perceptions and Knowledge of Cattle Adaptation to Heat Stress and Tick Resistance in the Eastern Cape, South Africa. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 27, 1663–1670. <https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14174>.
- Kouassi, P., Y., Zoungrana, S., Hema, M., D., Diallo, M., K., Biguezoton, A., Traore, A., Toure, A., 2016. Distribution Des Tiques Du Bétail dans cinq régions du Burkina Faso et évaluation de la connaissance de ces ectoparasites par les éleveurs : Nécessité de campagnes de sensibilisation. *Science et Technique*.
- Lesse, P., Houinato, M.R.B., Djenontin, J., Dossa, H., Yabi, B., Toko, I., Tente, B., Sinsin, B., 2015. Transhumance en République du Bénin : états des lieux et contraintes. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9, 2668–2681. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i5.37>.
- Lorusso, V., Wijnveld, M., Majekodunmi, A.O., Dongkum, C., Fajinmi, A., Dogo, A.G., Thrusfield, M., Mugenyi, A., Vaumourin, E., Igweh, A.C., Jongejan, F., Welburn, S.C., Picozzi, K., 2016. Tick-borne pathogens of zoonotic and veterinary importance in Nigerian cattle. *Parasit. Vectors* 9, 217. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1504-7>.
- Muhanguzi, D., Byaruhanga, J., Amaniyire, W., Ndekezi, C., Ochwo, S., Nkamwesiga, J., Mwiine, F.N., Tweyongyere, R., Fourie, J., Madder, M., Schetter, T., Horak, I., Juleff, N., Jongejan, F., 2020. Invasive cattle ticks in East Africa: morphological and molecular confirmation of the presence of *Rhipicephalus microplus* in south-eastern Uganda. *Parasit. Vectors* 13, 165. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04043-z>.
- Nijhof, A.M., Penzhorn, B.L., Lynen, G., Mollel, J.O., Morkel, P., Bekker, C.P.J., Jongejan, F., 2003. *Babesia bicornis* sp. nov. and *Theileria bicornis* sp. nov.: tick-borne Parasites Associated with Mortality in the Black Rhinoceros (*Diceros bicornis*). *J. Clin. Microbiol.* 41, 2249–2254. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.5.2249-2254.2003>.
- Nijhof, A.M., Pillay, V., Steyl, J., Prozesky, L., Stoltz, W.H., Lawrence, J.A., Penzhorn, B.L., Jongejan, F., 2005. Molecular characterization of *Theileria* species associated with mortality in four species of African Antelopes. *J. Clin. Microbiol.* 43, 5907–5911. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.12.5907-5911.2005>.
- Ouedraogo, A.S., Zannou, O.M., Biguezoton, A.S., Yao, K.P., Belem, A., Farougou, S., Oosthuizen, M., Saegerman, C., Lempereur, L., 2021. Cattle ticks and associated tick-borne pathogens in Burkina Faso and Benin: apparent northern spread of *Rhipicephalus microplus* in Benin and first evidence of *Theileria velifera* and *Theileria annulata*. *Ticks Tick-Borne Dis.* 101733 <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101733>.
- Pegram, R.G., Banda, D.S., 1990. Ecology and phenology of cattle ticks in Zambia: development and survival of free-living stages. *Exp. Appl. Acarol.* 8, 291–301. <https://doi.org/10.1007/BF01202139>.
- Rajput, Z.I., Hu, S., Arijo, A.G., Habib, M., Khalid, M., 2005. Comparative study of *Anaplasma* parasites in tick carrying buffaloes and cattle. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 6, 1057–1062. <https://doi.org/10.1631/jzus.2005.B1057>.
- Schouls, L.M., Pol, I.V.D., Rijpkema, S.G.T., Schot, C.S., 1999. Detection and Identification of *Ehlichia*, *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato, and *Bartonella* Species in Dutch Ixodes ricinus Ticks. *J. Clin. Microbiol.* 37, 2215–2222. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.7.2215-2222.1999>.
- Simuunza, M., Weir, W., Courcier, E., Tait, A., Shiels, B., 2011. Epidemiological analysis of tick-borne diseases in Zambia. *Vet. Parasitol.* 175, 331–342. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.09.027>.
- Stachurski, F., 2000. Invasion of West African cattle by the tick *Amblyomma variegatum*. *Med. Vet. Entomol.* 14, 391–399. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00246.x>.
- Stachurski, F., Musonge, E.N., Achu-kwi, M.D., Saliki, J.T., 1993. Impact of natural infestation of *Amblyomma variegatum* on the liveweight gain of male Gudali cattle in Adamawa (Cameroon). *Vet. Parasitol.* 49, 299–311. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90128-A](https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90128-A).
- Sungirai, M., Moyo, D.Z., De Clercq, P., Madder, M., Vanwambeke, S.O., De Clercq, E.M., 2018. Modelling the distribution of *Rhipicephalus microplus* and *R. decoloratus* in Zimbabwe. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 14, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.08.006>.
- Tomassone, L., Camicas, J.-L., Pagani, P., Diallo, O.T., Mannelli, A., Meneghi, D.D., 2004. Monthly dynamics of ticks (Acari: Ixodida) infesting N'Dama cattle in the Republic of Guinea. *Exp. Appl. Acarol.* 32, 209–218. <https://doi.org/10.1023/B:APPA.0000021771.34520.ab>.
- Tønnesen, M.H., Penzhorn, B.L., Bryson, N.R., Stoltz, W.H., Masibigiri, T., 2004. Displacement of *Boophilus decoloratus* by *Boophilus microplus* in the Soutpansberg region, Limpopo Province, South Africa. *Exp. Appl. Acarol.* 32, 199–208. <https://doi.org/10.1023/B:APPA.0000021789.44411.b5>.
- Walker, R.A., Bouttaour, A., Camicas, J.L., 2003. Ticks of domestic animals in Africa. A guide to identification of species. In: *Bioscience Reports*, 2003. Edinburg, UK, p. 114.
- Yakhchali, M., Hosseini, A., 2006. Prevalence and ectoparasites fauna of sheep and goats flocks in Urmia suburb. *Iran. Vet. Ath.* 76, 431–442.
- Yawa, M., Nyangiwe, N., Muchenje, V., Kadzere, C.T., Mpendulo, T.C., Marufu, M.C., 2018. Ecological preferences and seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on and off bovine hosts in the Eastern Cape Province, South Africa. *Exp. Appl. Acarol.* 74, 317–328. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0234-2>.
- Yeruham, I., Hadani, A., Galkar, F., Rosen, S., 1996. The seasonal occurrence of ticks (Acari: Ixodidae) on sheep and in the field in the Judean area of Israel. *Exp. Appl. Acarol.* 20, 47–56. <https://doi.org/10.1007/BF00051476>.
- Yisachar-Mekuzas, Y., Jaffe, C.L., Pastor, J., Cardoso, L., Baneth, G., 2013. Identification of *Babesia* species infecting dogs using reverse line blot hybridization for six canine piroplasms, and evaluation of co-infection by other vector-borne pathogens. *Vet. Parasitol.* 191, 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.002>.
- Zannou, O.M., Ouedraogo, A.S., Biguezoton, A.S., Lempereur, L., Patrick Yao, K., Abatih, E., Zoungrana, S., Lenaert, M., Toé, P., Farougou, S., Saegerman, C., 2020. First digital characterization of the transhumance corridors through Benin used by cattle herds from Burkina Faso and associated risk scoring regarding the invasion of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Transbound. Emerg. Dis.* <https://doi.org/10.1111/tbed.13855>.

Section expérimentale

Etude 3 :

Detection de deux espèces de virus du genre parapoxvirus

(bovine papular stomatitis virus and pseudocowpox
virus) chez des tiques infestant le bétail au Burkina Faso

Préambule

Sur le continent Africain, et particulièrement dans les pays de l’Afrique de l’Ouest, les connaissances sur les virus transmis par les tiques sont très peu documentées. Pourtant, dans la dernière décennie, certaines pathologies virales transmises par des arthropodes (e.g. fièvre jaune, zika, dengue, fièvre hémorragique de Crimée-Congo, encéphalite à tique) sont considérées comme des maladies émergentes et sont traitées comme des problèmes de santé publique. Cette étude a pour objectif d’utiliser des tiques comme organismes "sentinelles" pour détecter des virus de bovins absorbés lors de leur repas sanguin. Cela a été réalisé grâce à la collaboration avec l’Unité des Virus Émergents de la faculté de médecine de l’université de Marseille (UVE: Aix Marseille Univ, France). Les tiques ont été collectées sur les bovins à l’Est BF, conservées à -20°C, conditionnées dans de la carboglace et envoyées à ladite unité. Au cours de notre voyage d’étude, elles ont été soumises à une extraction automatisée d’acides nucléiques totaux, des PCR en temps réel (génériques et spécifiques), puis les amplicons ont été séquencés par le Next Generation Sequencing (Ion Torrent, Life Technologies and CLC Genomics Workbench software). Aucun arbovirus n’a été détecté, mais des séquences partielles du gène B2L (codant les protéines de l’enveloppe virale) de deux espèces de virus de la famille des Poxviridae et du genre Parapoxvirus ont été identifiées : le virus de la stomatite papuleuse bovine (BPSV : MT122761) et le virus du paravaccin (PCPV : MT122762). En somme, 10/171 (5.8%) et 14/171 (8.2%) pools de tiques étaient positives respectivement au BPSV et au PCPV. Les deux espèces de virus ont été retrouvées chez les tiques *A. variegatum* et *H. truncatum*, tandis que *H. rufipes* était positive uniquement en PCPV. Toutes les 3 provinces de l’Est BF prospectées présentaient des positivités pour le BPSV et le PCPV. Sur la base de ces résultats, des études plus approfondies sur les prévalences des Parapoxvirus dans le bétail et au sein des populations d’éleveurs de cette région doivent être envisagées eu égard au caractère zoonotique des pathologies induites par ces virus.

Section expérimentale

Etude 3:

Detection of Two Species of the Genus Parapoxvirus (Bovine Papular Stomatitis Virus and Pseudocowpox Virus) in Ticks Infesting Cattle in Burkina Faso

Microorganisms 2020, 8, 644

Achille Ouedraogo, Léa Luciani, Olivier Zannou, Abel Biguezoton, Laura Pezzi,

Laurence Thirion, Adrien Belem, Claude Saegerman, Rémi Charrel

and Laetitia Lempereur



Article

Detection of Two Species of the Genus Parapoxvirus (Bovine Papular Stomatitis Virus and Pseudocowpox Virus) in Ticks Infesting Cattle in Burkina Faso

Achille Ouedraogo ^{1,2}, Léa Luciani ³ , Olivier Zannou ^{2,4} , Abel Biguezoton ², Laura Pezzi ^{3,5}, Laurence Thirion ³ , Adrien Belem ⁶, Claude Saegerman ⁴ , Rémi Charrel ³  and Laetitia Lempereur ^{1,*}

- ¹ Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases, Center for Fundamental and Applied Research for Animal and Health (FARAH), Faculty of Veterinary Medicine, ULiège, 4000 Liège, Belgium; achillouedraogo@gmail.com
 - ² Unité Maladies à Vecteur et Biodiversité (UMaVeB), Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES), Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso; olivier_mahuton@yahoo.fr (O.Z.); babels005@yahoo.fr (A.B.)
 - ³ Unité des Virus Émergents (UVE: Aix Marseille Univ, IRD 190, INSERM U1207, IHU Méditerranée Infection), 13005 Marseille, France; lea.luciani@hotmail.fr (L.L.); laura.pezzi@studio.unibo.it (L.P.); laurence.thirion@ird.fr (L.T.); remi.charrel@univ-amu.fr (R.C.)
 - ⁴ Research Unit in Epidemiology and Risk Analysis Applied to Veterinary Sciences (UREAR-ULiège), Center for Fundamental and Applied Research for Animal and Health (FARAH), Faculty of Veterinary Medicine, ULiège, 4000 Liège, Belgium; claude.saegerman@ulg.ac.be
 - ⁵ Université de Corse Pascal Paoli, Laboratory of Virology, UR7310 BIOSCOPE, 20250 Corte, France
 - ⁶ Laboratoire de Santé Animale Tropicale, Institut du Développement Rural, Université Nazi BONI, Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso; belemamg@hotmail.fr
- * Correspondence: llempereur@hotmail.com; Tel.: +32-(0)-4-3664-093

Received: 11 March 2020; Accepted: 20 April 2020; Published: 28 April 2020



Abstract: The molecular identification of arboviruses in West Africa is of particular interest, due to their zoonotic potential in a population living in close contact with livestock, and in a region where the livestock migration across borders raises the risk of diseases infection and dissemination. The aim of the study was the screening of potential circulating arboviruses and the assessment of their zoonotic implications. Therefore, ticks were collected on cattle located in three provinces of eastern Burkina Faso. Tick pools were tested using a panel of genus-specific real-time assays targeting conserved regions of parapoxvirus, orthopoxvirus, flavivirus and phlebovirus. On the 26 farms visited, a total of 663 ticks were collected. Four genera and six tick species were morphologically identified, with *Amblyomma variegatum* and *Hyalomma* spp. being the most represented species. No arboviruses were found. However, this study highlights the presence of pseudocowpox virus (8.2%) and bovine papular stomatitis virus (5.8%) among the positive tick pools. BPSV positive ticks were found in herds sharing water and pastures resources and with a history of seasonal transhumance. Therefore, common grazing and the seasonal transhumance are likely to support the transmission of the virus. This could have important health and economic impacts, especially regarding transboundary cattle movements.

Keywords: bovine papular stomatitis; pseudocowpox; virus; arbovirus; poxviridae; cattle ticks; West Africa; Burkina Faso

1. Introduction

In West Africa, cattle farming is of great importance, as it generates income for a large part of the population [1]. However, infectious diseases represent an important constraint by hindering

production and productivity, causing huge economic losses. Additionally, the zoonotic impact of these diseases is often neglected, especially in African countries. Vectors are able to transmit a wide range of pathogens, including parasites, bacteria and viruses, particularly an arthropod borne virus group named “arbovirus”. A panel of arboviruses, mainly including families of flaviridae and bunyaviridae, are highly present in Africa. In the family of flaviviridae, most of the species belonging to the flavivirus genus are zoonotic arboviruses [2]. They are transmitted between vertebrate hosts by mosquitoes or ticks across a wide range of geographical distribution. In Africa, most of these viruses are of particular medical importance, with dengue, yellow fever and zika viruses being significant public health threats [3]. Additionally, virulent strains of West Nile virus originating from Africa emerged, especially in Europe and the United States, causing viral encephalitis in humans, horses, camelids, and birds [2–4]. The family of bunyaviridae also includes important zoonotic arboviruses such as the Rift Valley fever virus (RVFV) belonging to the genus phlebovirus, and the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV), belonging to nairovirus. RVFV can cause severe diseases in both humans and animals, resulting in significant economic losses due to death and abortion, especially in livestock animals [4]. CCHFV is an emerging problem in many parts of the world [5]. The main vector is represented by *Hyalomma* tick species infesting wild and domestic ruminants. This disease could affect humans; primarily farmers, veterinarians and others coming in contact with livestock and infected ticks [4,6,7]. Despite their harmful effects, arboviruses and other viruses in general have received limited research attention in West Africa. In addition to the arboviruses, the family of poxviridae, mainly represented by the genera parapoxvirus and orthopoxvirus, includes viruses affecting livestock animals and humans such as the pseudocowpox virus (PCPV) and the bovine papular stomatitis virus (BPSV). Commonly, they cause mild diseases in cattle, although they are able to induce a significant loss of productivity [8,9]. Occasionally, humans can be infected through direct contact with the lesions of infected animals. Clinical manifestations are observed on hands, and they are thus presented as occupational zoonotic diseases [10]. Besides the direct transmission, other viruses of this family could also be transmitted throughout vectors such as the agent of the lumpy skin disease. This disease is well known on the African continent, where it is transmitted by flies and ticks [10,11].

Disease surveillance is often neglected, especially in animals, mainly due to the limited resources and presently, for security reasons, due to armed conflicts. Therefore, using the tick species harbored by domestic animals as virus sentinels is a convenient and cost-effective manner for monitoring the circulation of potential pathogens in this region. The aim of this study is to provide information on arboviruses circulating in ticks infecting cattle in eastern Burkina Faso. Here, their molecular identification is of particular interest, due to their zoonotic potential in populations living in close contact with livestock, and where the traditional livestock migration across borders raises the risk of diseases’ infection and dissemination.

2. Materials and Methods

2.1. Ticks Collection and Morphological Identification

Ticks were collected from July to August 2017 on zebu cattle (*Bos indicus*) located in the provinces of Gourma (12°03′41.65″N, 0°21′30.35″E), Kompienga (11°24′59.99″N, 0°54′59.99″E) and Tapoa (12°14′58.95″N, 1°40′33.85″E), in eastern Burkina Faso (Figure 1). Herds were randomly selected among a list of volunteers in each province. The inclusion criteria at the herd level were the minimum size of 50 heads per herd and the minimal distance of 2 km separating contiguous herds. The cattle of both sexes were selected and classified in two groups according to their age: 3– to 12-months-old (young) and over 12-months-old (adult). The identification code was attributed to each cattle, and each sampling point was characterized by the name of the locality and GPS coordinates. The whole skin of animals was inspected, and ticks were collected manually. Ticks were stored in collection jars with lids previously drilled and closed with compress, in order to allow their survival until returning to the laboratory. Containers were then placed in a plastic bin, with a damp mop on the bottom. Once in the

lab, ticks were sorted and only live specimens were used in the study. Moreover, farm owners were asked to provide information on the health status of the animals, through a standardized questionnaire. At the laboratory, ticks were identified at species level at room temperature under stereomicroscope, using an identification key [12] and immediately stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

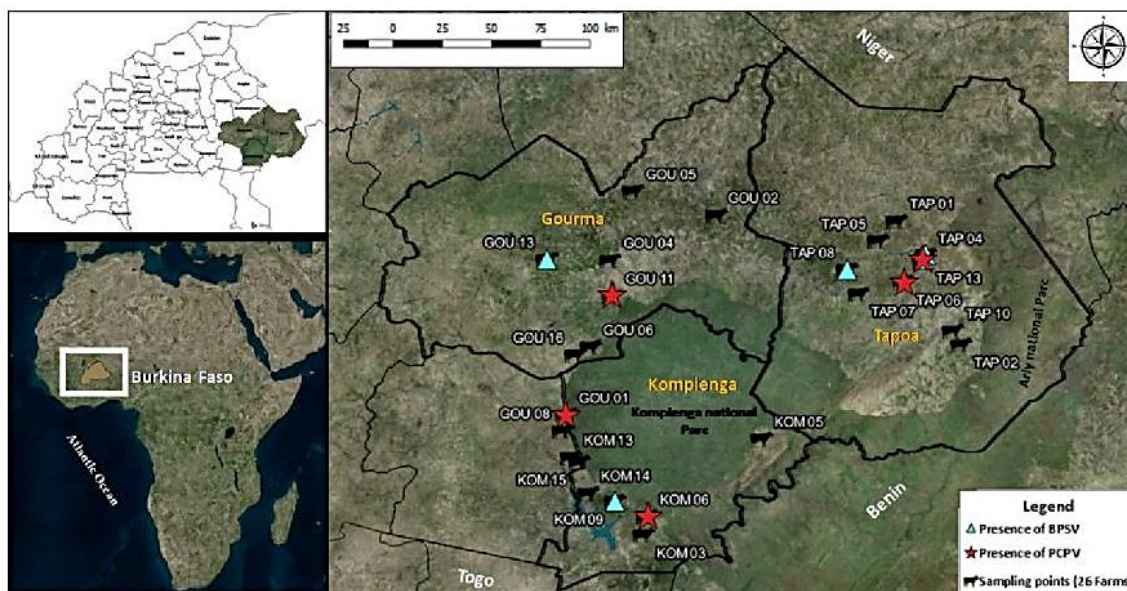


Figure 1. Localization of tick collection and positive pools of ticks in the study area (Eastern Burkina Faso) Gou: Gourma; Kom: Kompienga; Tap: Tapoa.

2.2. Nucleic Acids Extraction

Ticks belonging to the same species and collected from the same animal were pooled together. Pools of ticks were crushed using the mixer millMM400 (RETSCH®, Haan, Germany) in HBSS (Hanks's Balanced Salt Solution, ThermoFisher, USA) at 30 cycles/s for 30 min, followed by centrifugation at 6160g for 10 min. Total nucleic acid extraction was performed on a QIAcube HT (Qiagen®, Venlo, The Netherlands), using a QIAamp Cadore Pathogen kit, according to the manufacturer's instructions. Eluates were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, while a part of the crushed pools was stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.3. Real-Time PCR

Tick pools were tested using a panel of genus-specific real-time assays targeting conserved regions of parapoxvirus, orthopoxvirus, flavivirus and phlebovirus (Table 1). Positive PCR samples ($ct < 35$) to these genus-specific assays were submitted to species-specific real-time PCR, targeting highly conserved gene sequences (Table 1). Among parapoxvirus, ORF virus, PCPV and BPSV have been tested [13]. In addition, RVFV [14], and CCHF [15] were tested using a specific assay. Molecular assays were performed with SuperScript III Platinum One-Step qPCR kit (Invitrogen-Thermo Fisher Scientific®, Waltham, Ma, USA) in a BioRad CFX96 thermal cycler, software version 3.1 (BioRad Laboratories, Irvine, Ca, USA). Sequencing was subsequently applied to all positive samples ($ct < 35$) to both generic and specific PCR, using next generation sequencing (Ion Torrent, Life Technologies and CLC Genomics Workbench software, Waltham, Ma, USA). Primers used for the sequencing were those targeting the B2L gene [16]. Detection rates of DNA viruses were compared using Fisher exact test ($p < 0.05$). The data analysis was conducted using the R statistical software (version 3.6.1).

Table 1. Primers and probes used for genus- and species-specific real-time PCR assays.

Genus or Species	Primer/Probe	5' → 3' Sequence	Target	Position	Amplicon Size (bp)	Concentration	Reference
Pan-Parapox viruses	Forward	TCGATGCGGTGCAGCAC	B2L	599–683	85	7.5 pmol	[16]
	Reverse Probe	GCGGCGTATTCTTCGGAC FAM-TGCGGTAGAAGCC-NFQ-MGB				7.5 pmol 2.5 pmol	
Pan-Parapox viruses	Forward	C GCGGTCTGGTCCTTG	J6R	771–855	85	0.4 μmol	[13]
	Reverse Probe	CAGCATCAACCTCTCTACATCA FAM-CCACGAGCTGCGCAGCAT-BHQ1				0.4 μmol 200 nmol/L	
Orf virus (ORF)	Forward	GAGTTCGAGGAGATGATCTTGA	ORFV_J6R	697–764	68	0.4 μmol	
	Reverse Probe	FAM-GCCGAGGAGCAGGTCA CTCGATCACGGCCGCT-BHQ1				0.4 μmol 200 nmol/L	
Bovine papular stomatitis virus (BPSV)	Forward	GAGATGATCTTGATGTTGTCGTA	BPSV_J6R	665–755	91	0.4 μmol	
	Reverse Probe	FAM-TGGGCATGATCGTGAAGTAC ATCATCGCGCTGGATCAC-BHQ1				0.4 μmol 200 nmol/L	
Pseudocowpox virus (PCPV)	Forward	CCGACTACATCCGGAACA	PCPV_J6R	62609–62675	67	0.4 μmol	
	Reverse Probe	CCACGCGCTTGCT FAM-CTCACGCAGAAGATCTTCGTGA				0.4 μmol 200 nmol/L	
pan-Orthopox virus	OPE9L-F1880	GAA CAT TTT TGG CAG AGA GAG CC	HA (J7R)		177	0.5 μM	[17]
	OPE9L-R2057 OPE9L-p1924S-MGB	CAA CTC TTA GCC GAA GCG TAT GAG FAM-CAG GCT ACC AGT TCA A-MGBNFQ				0.5 μM 0.1 μM	
Pan-Flaviviruses	PF1	TGYRTBTAYAACATGATGGG	NS5		93	20 μM	[18]
	PF2	GTGTCACDCCDGDGTRTC				20 μM	
Rift Valley Fever Virus	RVS	AAAGGAACAATGGACTCTGGTCA	G2	349–417	94	1 μM	[14]
	RVAs RVP	CACCTTCTACTACCATGCTCCCAAT AAAGCTTTGATATCTCTCAGTGCCCAA				1 μM 0.2 μM	
Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus	RWCF	CAAGGGGTACCAAGAAAATGAAGAAGGC	S	1068–1223	181	600 nM	[15]
	RWCR SE01	GCCACAGGGATTGTTCCAAAGCAGAC FAM-ATCTACATGCACCCCTGCTGTTGACA-TAMRA				600 nM 100 nM	
Pan-Phlebovirus	Phlebo forward 1	TTTGCTTATCAAGGATTTGATGC	N	210–400	370	50 pmol	[19]
	Phlebo forward 2	TTTGCTTATCAAGGATTTGACC				50 pmol	
	Phlebo reverse	TCAATCAGTCCAGCAAAGCTGGGATGCATCAT				50 pmol	

2.4. Phylogenetic Analysis

After a blast search (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), sequences were aligned using Mega_X_10.1.7 (<https://www.megasoftware.net/>). Thereafter, a neighbor-joining phylogenetic tree was generated. The percentage of bootstraps were calculated for 100 replicates.

3. Results

3.1. Ticks Collection and Identification

Of the 26 farms visited (9 in Gourma, 7 in Kompienga and 10 in Tapoa), a total of 663 ticks were collected on 102 cattle inspected (15 in Gourma; 40 in Kompienga and 47 in Tapoa), all of them being infested by at least one tick. Four genera and six tick species were morphologically identified (Table 2). The most abundant species was *Amblyomma variegatum* (480/663; 72.4%), followed by *Hyalomma truncatum* (106/663; 16%) and *H. marginatum rufipes* (70/663, 10.6%). *Rhipicephalus lunulatus* and *R. (Boophilus) geigy* were found only in Tapoa, while *R. sanguineus* was not collected in Gourma (Table 2). A total of 171 pools were established and tested for virus detection.

Table 2. Number of ticks collected in cattle in three provinces of eastern Burkina Faso.

Tick Species	Gourma	Kompienga	Tapoa	Total No. (%)
<i>A. variegatum</i>	6	222	252	480 (72.4)
<i>H. truncatum</i>	7	48	51	106 (16.0)
<i>H. m. rufipes</i>	9	23	38	70 (10.6)
<i>R. lunulatus</i>	–	–	3	3 (0.5)
<i>R. sanguineus</i>	–	1	1	2 (0.3)
<i>R. (B.) geigy</i>	–	–	2	2 (0.3)
Total No. (%)	22 (3.3)	294 (44.3)	347 (52.3)	663

3.2. Viruses Detected in Ticks

Among the 171 pools, 24 pools (14%) were found positive for parapoxvirus genus-specific PCR. All other genus-specific PCR provided negative results. Of the total pools, 14/171 (8.2%) were positive for PCPV and 10/171 (5.8%) for BPSV based on their specific PCR and subsequent sequences analyses (Table 3). Out of the six tick species for which specimens were collected during this study, three species were found to be infected with PCPV: i.e., *A. variegatum* (7/14 pools), *H. m. rufipes* (4/14 pools), *H. truncatum* (3/14 pools), whereas two species were carrying BPSV: i.e., *A. variegatum* (9/10 pools) and *H. truncatum* (1/10 pools) (Table 4). The pools including other tick species were negative for both PCPV and BPSV. The infection rates for each virus species were not statistically significant within tick species ($p > 0.05$).

Table 3. Parapoxvirus detection in pools of ticks collected in each province of eastern Burkina Faso.

		<i>A. variegatum</i>	<i>H. m. rufipes</i>	<i>H. truncatum</i>	Total
Gourma	PCPV	0/4	2/9	0/6	2/19
	BPSV	1/4	0/9	0/6	1/19
Kompienga	PCPV	1/37	0/14	0/12	1/63
	BPSV	2/37	0/14	0/12	2/63
Tapoa	PCPV	6/46	2/20	3/19	11/85
	BPSV	6/46	0/20	1/19	7/85
Total	PCPV	7/87	4/43	3/37	14/167
	BPSV	9/87	0/43	1/37	10/167

Table 4. Positive tick species pools for bovine papular stomatitis virus (BPSV) and pseudocowpox virus (PCPV).

Pools ID	Tick Species	Farms ID	Cattle ID	Province	Virus Detected
24	<i>A. variegatum</i>	Gou13	12	Gourma	BPSV
12	<i>A. variegatum</i>	Kom09	72	Kompienga	BPSV
19	<i>A. variegatum</i>	Kom09	76	Kompienga	BPSV
4	<i>A. variegatum</i>	Tap09	75	Tapoa	BPSV
45	<i>A. variegatum</i>	Tap04	183	Tapoa	BPSV
78	<i>A. variegatum</i>	Tap08	335	Tapoa	BPSV
94	<i>A. variegatum</i>	Tap08	333	Tapoa	BPSV
180	<i>A. variegatum</i>	Tap08	334	Tapoa	BPSV
181	<i>A. variegatum</i>	Tap08	334	Tapoa	BPSV
81	<i>H. truncatum</i>	Tap08	335	Tapoa	BPSV
37	<i>H. m. rufipes</i>	Gou01	419	Gourma	PCPV
56	<i>H. m. rufipes</i>	Gou11	94	Gourma	PCPV
52	<i>A. variegatum</i>	Kom06	17	Kompienga	PCPV
83	<i>A. variegatum</i>	Tap06	306	Tapoa	PCPV
110	<i>A. variegatum</i>	Tap06	307	Tapoa	PCPV
58	<i>A. variegatum</i>	Tap06	309	Tapoa	PCPV
63	<i>A. variegatum</i>	Tap06	310	Tapoa	PCPV
64	<i>A. variegatum</i>	Tap06	310	Tapoa	PCPV
86	<i>H. truncatum</i>	Tap06	306	Tapoa	PCPV
65	<i>H. truncatum</i>	Tap06	310	Tapoa	PCPV
109	<i>H. m. rufipes</i>	Tap06	307	Tapoa	PCPV
66	<i>H. m. rufipes</i>	Tap06	310	Tapoa	PCPV
177	<i>A. variegatum</i>	Tap09	341	Tapoa	PCPV
176	<i>H. truncatum</i>	Tap09	341	Tapoa	PCPV

Gou: Gourma, Kom: Kompienga, Tap: Tapoa; A.: *Amblyomma*; H.: *Hyalomma*; H.m.: *Hyalomma marginatum*.

3.3. Phylogenetic Analysis

The respective virus sequences were identical and only the longest sequence of each species was included in the phylogenetic analysis. The BPSV sequence obtained (MT122761) showed 100% identity, with a BPSV strain previously evidenced in the USA (KJ137717.1). As well, the closest strain of PCPV sample (MT122762) was a PCPV strain from Mexico (KJ137718.1), with 98.99% identity on 97% of the studied sequence. The neighbor-joining phylogenetic tree (Figure 2) showed a clustering of the sequences into two main groups, I and II, each containing the two viral species. The group I included subgroups A and B. The BPSV sequence from the present study gathered with a BPSV sample from USA within subgroup B. Meanwhile, the PCPV studied sequence was within the subgroup A, with other PCPV samples from Latin America and the Middle East (Figure 2). Group II comprised subgroups C and D and gathered reference samples from Europe and Africa (Figure 2). These gatherings were confirmed by a reticulate tree, built using the median joining network method in PopArt software (Figure 3).

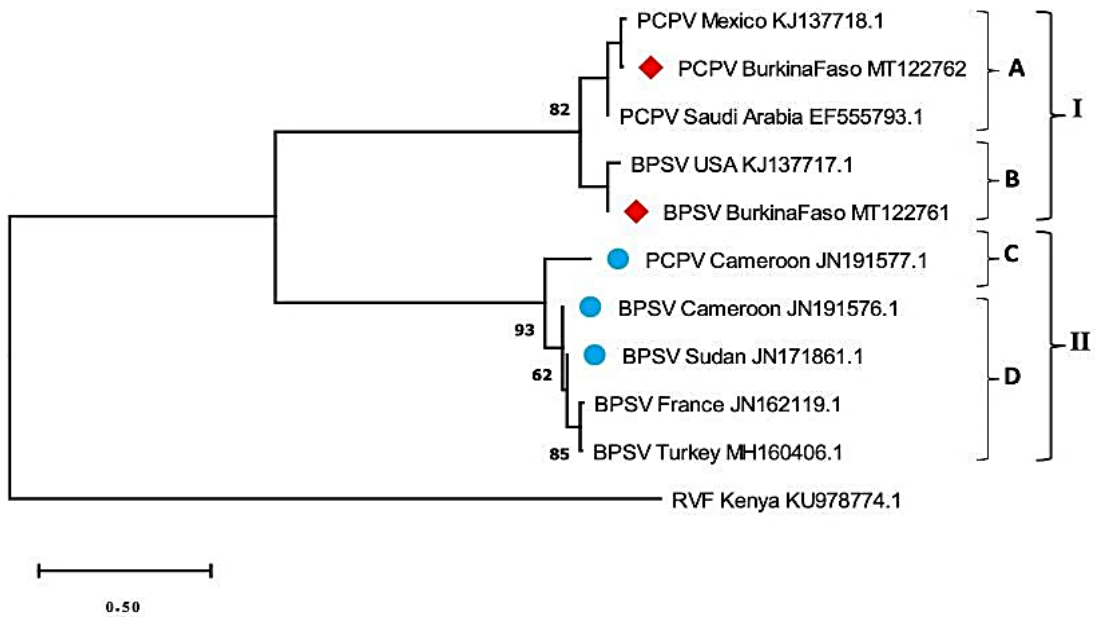


Figure 2. Neighbor-joining phylogenetic tree based on the partial sequences of the major envelope protein (B2L) gene of Bovine Papular Stomatitis and Pseudocowpox virus. Origins and accession numbers of reference sequences of BPSV (Bovine Papular Stomatitis Virus), PCPV (Pseudocowpox virus) as well as that of RVFV (Rift Valley Fever Virus) are indicated. Blue circles refer to samples from elsewhere in Africa, while red squares correspond to our samples from Burkina Faso.

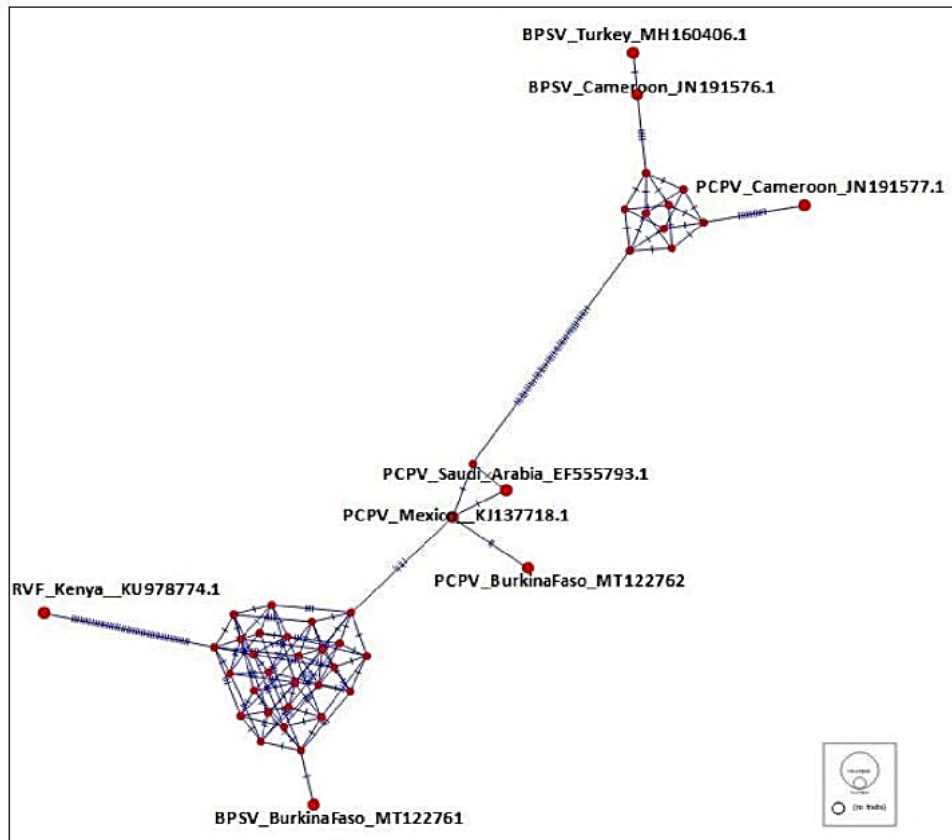


Figure 3. Reticulate tree, built with median joining network method.

4. Discussion

Several arboviruses have recently emerged and are now widespread across Africa, such as West Nile, Chikungunya and Zika viruses [18,20]. This region is now considered to contribute to the largest share of emerging vector-borne and zoonotic diseases [3]. Nevertheless, some areas are completely unexplored regarding these diseases, which is the case in Eastern Burkina Faso. The implementation of vectors and pathogens surveillance is facing many constraints, such as the limited resources and the unfavorable field conditions, with climatic and security factors being the most important limitations. The aim of the study was the screening of potential circulating arboviruses and the assessment of their zoonotic implications. Interestingly, no arbovirus was detected, despite the fact that adequate conditions for the preservation of the living ticks were strictly enforced. However, this study highlighted the presence of two parapoxviruses, PCPV and BPSV, in ticks collected from cattle in Eastern Burkina Faso. The tick species collected were expected to be found in the region, with *A. variegatum* and *Hyalomma* spp. being the most represented [19,21]. *A. variegatum* showed the highest detection rate for BPSV, while PCPV was found in the second most-represented species, *H. m. rufipes*. The natural interaction between ticks and parapoxvirus detected in our study remains unknown. The virus transmission most likely occurs by direct contact between infected and susceptible animals [10], although mechanical transfer by flies or ticks can probably occur as described for another poxvirus, the lumpy skin disease virus [11,22,23]. Domestic cattle are considered to be the main reservoir of both PCPV and BPSV, although buffalo were also reported to be a competent reservoir [24]. In this study, ticks collected in 3 herds of the Tapoa province were found positive for BPSV. It is noticeable that these herds were sharing water and pastures resources and that wildlife reserves are present in the area. Additionally, owners reported a history of seasonal transhumance via the same route. Taking into account the high environmental stability of poxvirus [25], common grazing that allows livestock to freely access natural resources shared with other herds and wildlife, the seasonal transhumance is likely to support the transmission of the virus. This could have important health and economic impacts, especially regarding transboundary cattle movements.

Besides their similarity to reference samples, studied samples seem to be closer to American samples than those from East and Central Africa. Such result suggests more gene flow between BPSV and PCPV from West Africa and America than with other regions. It could result from bovine importation from America to West Africa in order to improve local bovine production. For instance, Gir and Girolando were imported from Brazil to Benin and Côte d'Ivoire around 2002–2004 [26]. As well, the importation of Girolando from Brazil to Burkina Faso occurred in 1999. Moreover, although more analyses are needed to confirm some results of the current study, the differences between West African samples of BPSV and PCPV and those from East and Central Africa emphasize the pattern of cattle domestication in Africa [27].

Furthermore, it is noteworthy that the inspected cattle during field work were all asymptomatic, although the owners of positive herds described historical reports of clinical cases in cattle and humans (personal communication). It has been previously reported that parapoxvirus PCR positive can be identified from both symptomatic and asymptomatic ruminants [28]. Thus, it is likely that the sampled cattle were either healthy carriers of parapoxvirus and that the tick species found positive became infected through their blood meal, or that the ticks were already infected with parapoxviruses by feeding on domestic or wild animals before they clung to the exposed cattle. The lesions due to PCPV and BPSV in humans are often neglected and underreported by farmers. Although tick screening is not sufficient for the evaluation of the health status of the animal, this supports the relevance of the use of collected ticks for pathogens surveillance, especially for potential zoonotic diseases. Whether or not ticks play a role in the transmission of PCPV and/or BPSV remains to be studied, however, our findings represent preliminary data, serving as a basis for future studies. The cases of virus detection in vectors in West Africa remain poorly documented. The surveillance in animals and vectors may serve as an alert system to detect zoonotic arbovirus outbreaks such as Crimean Congo hemorrhagic fever, West Nile or Rift Valley fever viruses [18,28,29], and this is something which should be encouraged.

Author Contributions: Conceptualization: L.L. (Laetitia Lempereur), R.C. and A.B. (Adrien Belem); investigation, A.O., O.Z.; laboratory work: A.O., O.M., L.L. (Léa Luciani), L.P., L.T.; writing—original draft preparation: A.O.; writing—review and editing: A.B. (Abel Biguezoton), C.S., R.C., L.L. (Laetitia Lempereur) and A.B. (Adrien Belem); supervision: L.L. (Laetitia Lempereur), R.C. and A.B. (Abel Biguezoton). All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Academy of Research and Higher Education (ARES-CCD). Laura Pezzi holds a PhD grant funded by the University of Corsica Pasquale Paoli, Corte 20250, France.

Acknowledgments: The authors acknowledge all laboratory technicians and participating farmers.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Nugteren, H.; Le Côme, C. *Libérer le Potentiel du Pastoralisme Pour Développer L'Afrique de l'Ouest*; Fred Zaai, Thea Hilhorst et Jacqueline Sluijs; KIT and SNV: Amsterdam, The Netherlands, 2016.
2. Venter, M. Assessing the zoonotic potential of arboviruses of African origin. *Curr. Opin. Virol.* **2018**, *28*, 74–84. [[CrossRef](#)]
3. Sweil, A.; Couper, L.I.; Coffey, L.L.; Kapan, D.; Bennett, S. Patterns, drivers, and challenges of vector-borne disease emergence. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* **2020**, *20*, 159–170. [[CrossRef](#)]
4. Fall, G.; Di Paola, N.; Faye, M.; Dia, M.; de Melo Freire, C.C.; Loucoubar, C.; de Andrade Zanotto, P.M.; Faye, O. Biological and phylogenetic characteristics of West African lineages of West Nile virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2017**, *11*. [[CrossRef](#)]
5. Favier, C.; Chalvet-Monfray, K.; Sabatier, P.; Lancelot, R.; Fontenille, D.; Dubois, M.A. Rift Valley fever in West Africa: The role of space in endemicity. *Trop. Med. Int. Heal.* **2006**, *11*, 1878–1888. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Filippitzi, M.E.; Goumperis, T.; Robinson, T.; Saegerman, C. Microbiological Zoonotic Emerging Risks, Transmitted Between Livestock Animals and Humans (2007–2015). *Transbound. Emerg. Dis.* **2017**, *64*, 1059–1070. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Underwood, W.J.; Blauwiekel, R.; Delano, M.L.; Gillesby, R.; Mischler, S.A.; Schoell, A. Biology and Diseases of Ruminants (Sheep, Goats, and Cattle). In *Laboratory Animal Medicine*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2015; pp. 623–694.
8. Sule, W.F.; Oluwayelu, D.O.; Hernández-Triana, L.M.; Fooks, A.R.; Venter, M.; Johnson, N. Epidemiology and ecology of West Nile virus in sub-Saharan Africa. *Parasit. Vectors* **2018**, *11*, 414. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Huang, T.; Tulman, E.R.; Diel, D.G.; Khatiwada, S.; Sims, W.; Edwards, J.F.; Wen, X.; Kutish, G.F.; Rock, D.L.; Delhon, G. Coinfection with multiple strains of bovine papular stomatitis virus. *Arch. Virol.* **2015**, *160*, 1527–1532. [[CrossRef](#)]
10. Büttner, M.; Rziha, H.-J. Parapoxviruses: From the Lesion to the Viral Genome. *J. Vet. Med. Ser. B* **2002**, *49*, 7–16. [[CrossRef](#)]
11. Poxviridae. In *Fenner's Veterinary Virology*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2017; pp. 157–174.
12. Walker, A.R.; Bouattour, A.; Camicas, J.L.; Estrada-Peña, A.; Horak, I.; Latif, A.A.; Pegram, R.G.; Preston, P.M. *Ticks of Domestic Animals in Africa: A Guide to Identification of Species*; Bioscience Reports: Edinburgh, UK, 2014.
13. Zhao, H.; Wilkins, K.; Damon, I.K.; Li, Y. Specific qPCR assays for the detection of orf virus, pseudocowpox virus and bovine papular stomatitis virus. *J. Virol. Methods* **2013**, *194*, 229–234. [[CrossRef](#)]
14. Drosten, C.; Götting, S.; Schilling, S.; Asper, M.; Panning, M.; Schmitz, H.; Günther, S. Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.* **2002**, *40*, 2323–2330. [[CrossRef](#)]
15. Wölfel, R.; Paweska, J.T.; Petersen, N.; Grobbelaar, A.A.; Leman, P.A.; Hewson, R.; Georges-Courbot, M.C.; Papa, A.; Günther, S.; Drosten, C. Virus Detection and Monitoring of Viral Load in Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Patients. *Emerg. Infect. Dis.* **2007**, *13*, 1097–1100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Nitsche, A.; Büttner, M.; Wilhelm, S.; Pauli, G.; Meyer, H. Real-Time PCR Detection of Parapoxvirus DNA. *Clin. Chem.* **2006**, *52*, 316–319. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

17. Kulesh, D.A.; Baker, R.O.; Loveless, B.M.; Norwood, D.; Zwiars, S.H.; Mucker, E.; Hartmann, C.; Herrera, R.; Miller, D.; Christensen, D.; et al. Smallpox and pan-orthopox virus detection by real-time 3'-minor groove binder TaqMan assays on the roche LightCycler and the Cepheid smart Cyler platforms. *J. Clin. Microbiol.* **2004**, *42*, 601–609. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Cook, S.; Moureau, G.; Harbach, R.E.; Mukwaya, L.; Goodger, K.; Ssenfuka, F.; Gould, E.; Holmes, E.C.; de Lamballerie, X. Isolation of a novel species of flavivirus and a new strain of Culex flavivirus (Flaviviridae) from a natural mosquito population in Uganda. *J. Gen. Virol.* **2009**, *90*, 2669–2678. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Lambert, A.J.; Lanciotti, R.S. Consensus Amplification and Novel Multiplex Sequencing Method for S Segment Species Identification of 47 Viruses of the Orthobunyavirus, Phlebovirus, and Nairovirus Genera of the Family Bunyaviridae. *J. Clin. Microbiol.* **2009**, *47*, 2398–2404. [[CrossRef](#)]
20. Sohier, C.; Haegeman, A.; Mostin, L.; De Leeuw, I.; Van Campe, W.; De Vleeschauwer, A.; Tuppurainen, E.S.; van den Berg, T.; De Regge, N.; De Clercq, K. Experimental evidence of mechanical lumpy skin disease virus transmission by Stomoxys calcitrans biting flies and Haematopota spp. horseflies. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 20076. [[CrossRef](#)]
21. Kabore, H.; Salembere, M.S.; Tamboura, H.H. Seasonal Variation of Ticks on Cattle in Burkina Faso. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1998**, *849*, 398–401. [[CrossRef](#)]
22. Stachurski, F. Invasion of West African cattle by the tick Amblyomma variegatum. *Med. Vet. Entomol.* **2000**, *14*, 391–399. [[CrossRef](#)]
23. Sprygin, A.; Pestova, Y.; Wallace, D.B.; Tuppurainen, E.; Kononov, A.V. Transmission of lumpy skin disease virus: A short review. *Virus Res.* **2019**, *269*, 197637. [[CrossRef](#)]
24. Laguardia-Nascimento, M.; Sales, É.B.; Gasparini, M.R.; de Souza, N.M.; da Silva, J.A.; Souza, G.G.; Carani, F.R.; dos Santos, A.F.; Rivetti Júnior, A.V.; Camargos, M.F.; et al. Detection of multiple viral infections in cattle and buffalo with suspected vesicular disease in Brazil. *J. Vet. Diagn. Investig.* **2016**, *28*, 377–381. [[CrossRef](#)]
25. Rheinbaben, F.V.; Gebel, J.; Exner, M.; Schmidt, A. Environmental resistance, disinfection, and sterilization of poxviruses. In *Poxviruses*; Mercer, A.A., Schmidt, A., Weber, O., Eds.; Birkhäuser: Birkhäuser, Basel, 2007; pp. 397–405.
26. Madder, M.; Adehan, S.; de Deken, R.; Adehan, R.; Lokossou, R. New foci of Rhipicephalus microplus in West Africa. *Exp. Appl. Acarol.* **2012**, *56*, 385–390. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Hanotte, O.; Bradley, D.G.; Ochieng, J.W.; Verjee, Y.; Hill, E.W.; Rege, J.E.O. African Pastoralism: Genetic Imprints of Origins and Migrations. *Science (80-.)* **2002**, *296*, 336–339. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Lederman, E.R.; Tao, M.; Reynolds, M.G.; Li, Y.; Zhao, H.; Smith, S.K.; Sitler, L.; Habberling, D.L.; Davidson, W.; Hutson, C.; et al. An Investigation of a Cluster of Parapoxvirus Cases in Missouri, Feb–May 2006: Epidemiologic, Clinical and Molecular Aspects. *Animals* **2013**, *3*, 142–157. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Boussini, H.; Lamien, C.E.; Nacoulma, O.G.; Kabore, A.; Poda, G.; Viljoen, G.J. Prevalence of Rift Valley fever in domestic ruminants in the central and northern regions of Burkina Faso: -EN- -FR- Prévalence de la fièvre de la vallée du Rift chez les ruminants domestiques dans les régions centrale et septentrionale du Burkina Faso -ES- Prevalencia de la fiebre del Valle del Rift en rumiantes domésticos de las regiones central y septentrional de Burkina Faso. *Rev. Sci. Tech. L'oise* **2014**, *33*, 893–901. [[CrossRef](#)]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Section expérimentale

Etude 4 :

Effacité de deux pyréthroïdes de synthèse commerciaux
(cyperméthrine et deltaméthrine) sur les souches *Amblyomma*
variegatum et de *Rhipicephalus microplus* de la région du sud-ouest
du Burkina Faso

Préambule

Les études sur les résistances/sensibilités des tiques aux molécules acaricides ne sont pas très courantes en Afrique de l'Ouest. Le Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIDES, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso) est l'un des rares instituts de recherche à disposer d'un plateau technique en mesure de réaliser des tests de résistance aux acaricides. Cela demeure une préoccupation si l'on sait que l'utilisation des produits acaricides est le moyen de contrôle des tiques, le plus répandu au sein des communautés d'éleveurs dans cette région. Au Burkina Faso, la seule étude publiée sur les résistances des tiques aux acaricides (Adakal et al., 2013) porte sur la résistance de *R. geigy* aux pyréthrinoïdes de synthèse (cyperméthrine, deltaméthrine) et à l'amitraz. Au BN, on dispose également d'une seule étude portant sur la résistance de *R. microplus* aux molécules sus-citées (Adehan et al., 2016). En conséquence, les statuts de résistance ou de sensibilité de nombreuses espèces de tiques aux molécules acaricides les plus utilisées dans la zone d'étude reste encore non déterminés. La présente étude a pour but de fournir des informations sur l'efficacité des molécules acaricides, à travers la détermination des statuts de résistance de *A. variegatum* et de *R. microplus* aux pyréthrinoïdes de synthèse commerciaux, les plus couramment utilisés au BF. Des femelles gorgées de *A. variegatum* et *R. microplus* ont été collectées dans la commune de Kimini, au sud-ouest du BF. Elles ont été mises en ponte à $27 \pm 2^\circ\text{C}$ avec une humidité relative de $85 \pm 5\%$. Les larves obtenues (âgées de 14-21 jours) ont été soumises au larval packet test qui a révélé une forte sensibilité de *A. variegatum* (même plus sensible que la souche de référence *R. geigy* utilisée) à la deltaméthrine et à la cyperméthrine. Par contre, comme d'autres études l'avaient précédemment rapporté, *R. microplus* présentait un haut degré de résistance aux molécules testées. Ces résultats peuvent servir de référence dans de futures recherches de stratégies de contrôle des populations de tiques au BF.

Section expérimentale

Etude 4 :

Efficacy of two commercial synthetic pyrethroids
(cypermethrin and deltamethrin) on *Amblyomma variegatum* and
Rhipicephalus microplus strains of the south-western region of

Tropical Animal Health and Production, 2021 14;53(3):402

Achille S. Ouedraogo, Olivier M. Zannou, Abel S. Biguezoton, Kouassi Patrick Yao,
Adrien Belem, Souaibou Farougou, Marinda Oosthuizen, Claude Saegerman, Laetitia
Lempereur

Tropical Animal Health and Production (2021) 53:402
https://doi.org/10.1007/s11250-021-02849-2

REGULAR ARTICLES



Efficacy of two commercial synthetic pyrethroids (cypermethrin and deltamethrin) on *Amblyomma variegatum* and *Rhipicephalus microplus* strains of the south-western region of Burkina Faso

Achille S. Ouedraogo^{1,2} · Olivier M. Zannou^{2,3} · Abel S. Biguezoton² · Kouassi Yao Patrick⁴ · Adrien M. G. Belem⁵ · Souaibou Farougou⁶ · Marinda Oosthuizen · Claude Saegerman³ · Laetitia Lempereur^{8,9}

Received: 25 March 2021 / Accepted: 2 July 2021
© The Author(s) 2021

Abstract

Since 2011, period of the livestock invasion by the cattle tick *Rhipicephalus microplus* in Burkina Faso (BF), tick-control problems were exacerbated. Based on farmer's reports, most commonly used commercial acaricides were found to be ineffective in Western South part of the country. To investigate the occurrence and extent of such acaricidal ineffectiveness, we performed the standardized larval packet test (LPT) with commercial deltamethrin (vectocid) and cypermethrin (cyperstop), on two cattle tick species, the native *Amblyomma variegatum* and the invasive *R. microplus*. The resistance ratios (RR) were computed with susceptible Hounde strain of *Rhipicephalus geigy* as reference. The *R. microplus* population showed resistance to the two acaricides tested with the highest lethal concentration (LC) values, and different resistance ratios higher than 4 (deltamethrin: RR₅₀ = 28.18 and RR₉₀ = 32.41; cypermethrin: RR₅₀ = 8.79 and RR₉₀ = 23.15). In the contrary, *A. variegatum* population was found to be highly susceptible to acaricides tested with low lethal concentrations and resistance ratio values (deltamethrin: RR₅₀ = 0.5 and RR₉₀ = 0.48; cypermethrin: RR₅₀ = 0.68 and RR₉₀ = 0.79). These data demonstrate high synthetic pyrethroid resistance in *R. microplus* strain, leading to conclude that the acaricide ineffectiveness in tick populations control remains a concern in BF.

Keywords *Amblyomma variegatum* · *Rhipicephalus microplus* · Deltamethrin · Cypermethrin · Burkina Faso

Introduction

About 17 Ixodidae ticks, belonging to the genus *Amblyomma*, *Hyalomma*, and *Rhipicephalus*, have been identified in West Africa (Biguezoton et al. 2016; Diarra et al. 2017; Ouedraogo et al. 2021). These obligate hematophagous arthropods have direct and indirect effects on livestock health and production in most parts of Sub-Saharan Africa (Stachurski 2000). But, by far, the most important indirect impact of ticks is the transmission of hemopathogens, which cause tick-borne diseases (TBD) that can result in high livestock mortalities (De Meneghi et al. 2016). The species *R. microplus* and *A. variegatum* are known to be involved in the

main constraints for bovine production system development in the West African context. *Amblyomma variegatum* is an efficient vector of *Ehrlichia ruminantium*, agent of heartwater (cowdriosis). It directly impairs animal growth, tending to heavily reduce milk production (Stachurski 2000; Allsopp 2015). *Rhipicephalus microplus* is the efficient vector of *Babesia bigemina* and *B. bovis*, main agents of bovine babesiosis in tropical region (Adehan et al. 2016; Lempereur et al. 2017). Its introduction into an unaffected area can induce the emergence of its acaricide resistant population (Muhanguzi et al. 2020). For several livestock breeders in West Africa, particularly in BF, tick control is carried out by an increasingly used of acaricidal compounds (Adakal et al. 2013b). The occurrence of the invasive tick species in BF (Adakal et al. 2013a) has increased such tick-control method application, with many cases of misuses reported (Adakal et al. 2013b). As a result, resistance in *R. microplus* population to some commercial acaricidal compounds has

✉ Achille S. Ouedraogo
achillouedraogo@gmail.com

Extended author information available on the last page of the article

been reported (Kande 2014). Since it has been shown (in cattle infestation in BF) that the incidence rate of *R. microplus* significantly increases in the presence of *A. variegatum* and vice versa (Biguezoton et al. 2016), the assessment of the acaricidal resistance of the native species (*A. variegatum*) and invasive species (*R. microplus*) is of paramount importance. For this purpose, the commercial grade synthetic pyrethroids, deltamethrin (vectocid) and cypermethrin (cypertop), widely used in tick control in BF have been tested on larvae of *A. variegatum* and *R. microplus*.

Materials and methods

Study area and gorged female collection

Sampling was carried out during September 2020, in Kimini (N 10.07162; W 4.808), a rural commune located in “Niangoloko,” a department belonging to “Cascades” region, one of the 13 subdivisions of BF territory. This region borders the north of Ivory Coast (Fig. 1). It covers an area of 18,405 km² with about 531,808 habitants active mainly in agriculture and livestock farming. The cattle population was estimated at 654,273 heads in 2013 and represents a source of income for many households (INSD 2018). According to the Adakal et al. (2013b) survey, the most widely acaricide compound used in tick population control in this region is deltamethrin. Farmers involved in this study were

requested not to apply any acaricide treatment on cattle at least 2 weeks before the collection date. With the owners' consent, cattle were kept in lateral decubitus and the whole skin was inspected. All engorged females seen were manually removed, stored in collection jars with lids previously drilled, and closed with compress. Containers were then placed in a plastic bin, with a damp mop on the bottom, in order to allow ticks survival until they reach laboratory at CIRDES (International Research and Development Centre on Livestock in Sub-humid Areas). Once in the lab, ticks were identified, sorted, and about 15–20 live specimens per tick species were placed in an incubator at 27 ± 2 °C with a relative humidity of $85 \pm 5\%$ for egg-laying. Eggs obtained were weighed and divided into batches of 0.5 g in different containers. They were then maintained in the same conditions until their hatching.

Bioassays

The larvae aged between 14 and 21 days were used for the standardized LPT (FAO 2004). The assay was carried out with commercial grade deltamethrin and cypermethrin (respectively Vectocid™ and Cypertop™, LAPROVET, France). For each acaricide, serial dilutions were (Table S1). Different concentrations with a mix ratio of 1 volume olive oil for 2 volumes trichloroethylene (Miller et al. 2002) as solvent were applied. Thereafter, Whatman filter paper was cut into packets of 7.5 × 8.5 cm size and 0.67 ml of

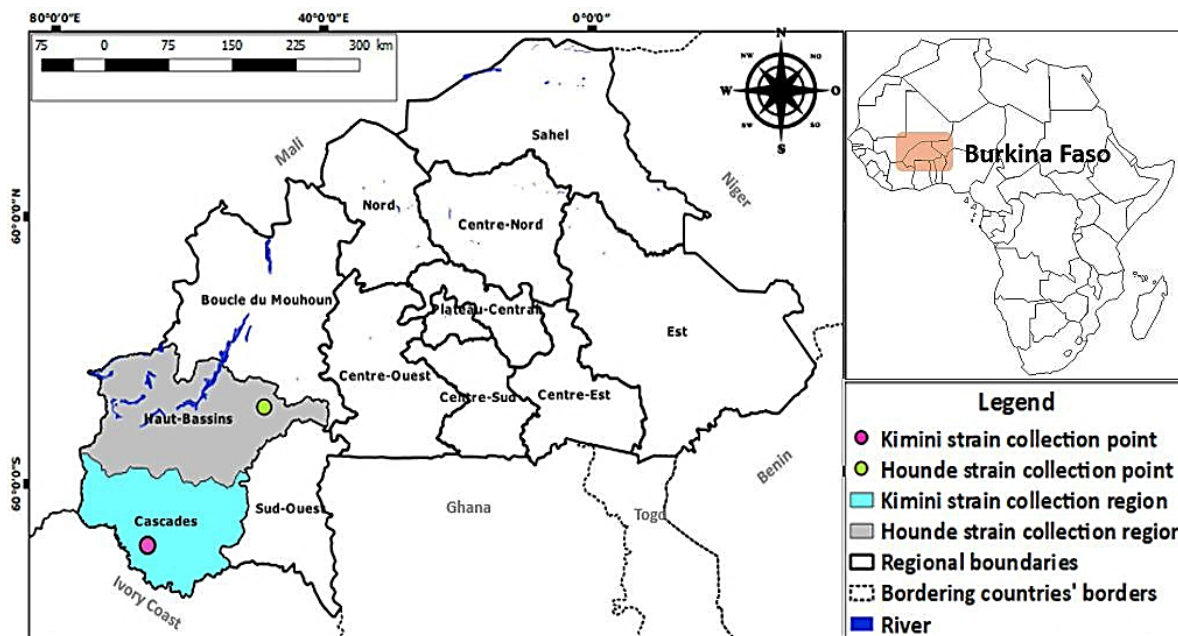


Fig. 1 Map showing the geographic location of Burkina Faso, sampling points, and the origin of reference strain

each acaricide concentration was applied on each piece of paper filter. The assays were performed in duplicate. For each test, two paper filters were impregnated with solvent (combination of olive oil and trichloroethylene) alone and used as controls. Papers impregnated were placed for 2 h in a fume hood for solvent evaporation. They were then filled with about 100 ticks larvae and incubated at 27 ± 2 °C with $85 \pm 5\%$ relative humidity. After 24 h of acaricide exposure, larvae able to move were considered alive, and non-moving one were considered dead. They were counted and mortality rate (death total/total) has been computed for each group/concentration and tick species.

Reference susceptible strain

The susceptible laboratory strain used as reference was *R. geigy*. It has been collected at Hounde (N 11.48333; W 3.51667), in the south-western BF in 2005. Engorged females were placed under optimal conditions of temperature (27 ± 2 °C) and relative humidity ($85 \pm 5\%$) for egg-laying (Adakal et al. 2013b). This strain is currently maintained in the laboratory of acarology at CIRDES. Over the years, its generations are continuously renewed by artificial infestations on the same cattle breed, Zebu \times N'Dama crossbred.

Data analysis

The package Dose–Response Curves (DRC) was used to perform a non-linear regression analysis of dose-mortality data in R 3.6.3 software. The choice of the model was based on that giving the lowest residual variance through the function `mselect` (Ritz et al. 2015). The four parameters (b: slope, c: lower value, d: upper value, and e: ED50) were computed with the generalized log-logistic function LL.4 (Ritz et al. 2015). Data were then imported and fitted in GraphPad Prism® 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) for dose–response curves visualization.

The lethal concentrations, LC_{50} and LC_{90} , and their 95% confidence intervals (95% CI) were estimated using the effective dose (ED) command. The resistance ratios (ratio between the studied strain ED and that of the reference strain) at 50% (RR_{50}) and 90% (RR_{90}) of *A. variegatum* and *R. microplus* were computed relatively to the susceptible reference strain *R. geigy*, with the function ED (Ritz et al. 2015). The resistance status was assessed regarding the reference scale from Jonsson and Hope (2007): a tick population is said to be sensitive to an acaricide when $RR < 4$; moderately resistant if $4 < RR < 10$, and highly resistant when $RR > 10$.

Results

Amblyomma variegatum and *R. microplus* resistance status to deltamethrin

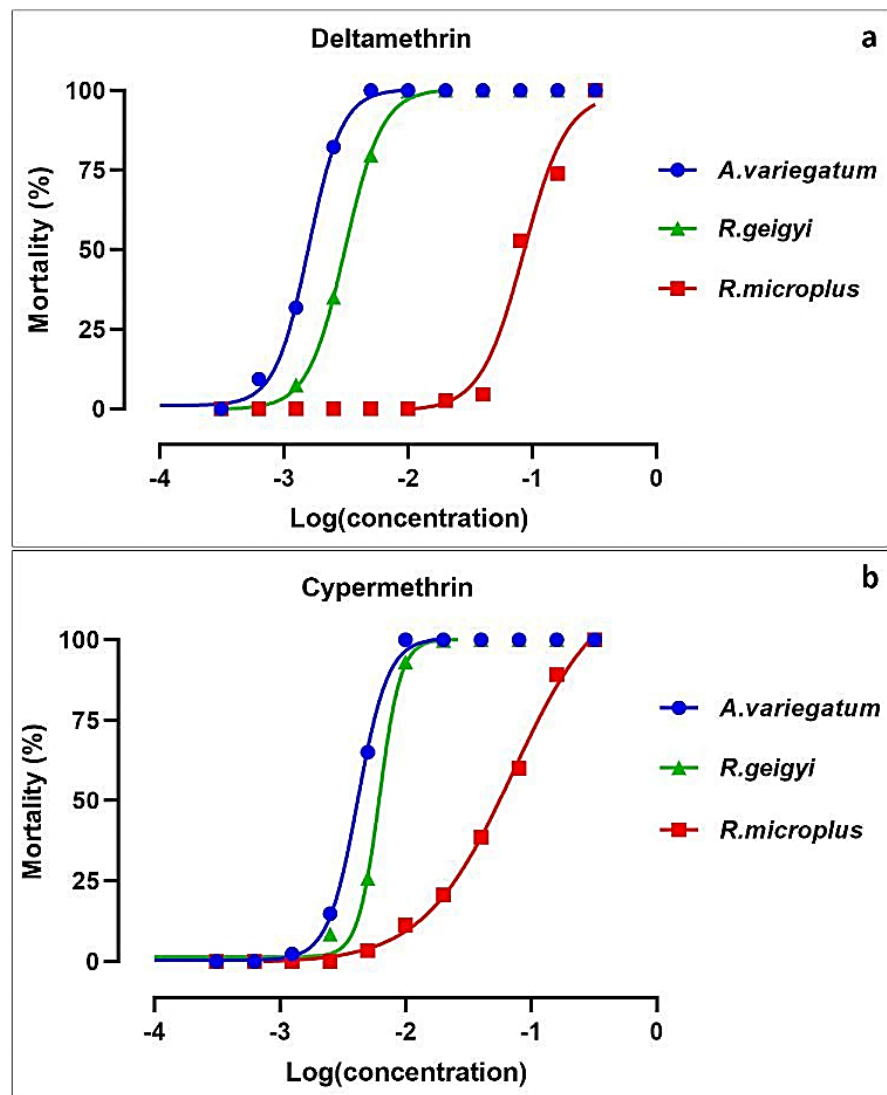
The strain of *A. variegatum* showed low LC_{50} and LC_{90} values (0.0016 g/l and 0.0031 g/l, respectively) (Table 1). The highest values were found with the *R. microplus* strain (0.0879 g/l and 0.2142 g/l, respectively). The reference strain *R. geigy* revealed LC_{50} and LC_{90} values lower than the *R. microplus* one (0.0031 g/l and 0.0066 g/l) (Table 1). This is illustrated in Fig. 2a, where *R. geigy* dose–response curve is located between those of *A. variegatum* (left) and *R. microplus* (right). The curve pattern is also the result of the fairly close slopes (-2.9 , -3 , and -2.4), reflecting a relatively parallelism. The RR_{50} and RR_{90} values of *A. variegatum* (respectively 0.50 and 0.48) are considerably lower than 4. This leads to conclude to a field strain very susceptible to deltamethrin. In the contrary, *R. microplus* shows RR_{50} and RR_{90} values above 10 (28.18 and 32.41, respectively), indicating a deltamethrin highly resistant strain.

Table 1 Lethal concentrations (g/l) of *Amblyomma variegatum* and *Rhipicephalus microplus* and their resistance to deltamethrin and cypermethrin regarding to strain *Rhipicephalus geigy* as reference strain

Tick species	LC_{50} (95% CI)	LC_{90} (95% CI)	RR_{50} (95% CI)	RR_{90} (95% CI)	Slopes
Deltamethrin					
<i>R. geigy</i>	0.0031 (0.0030–0.00323)	0.0066 (0.0064–0.0068)	—	—	-2.934 ± 0.125
<i>A. variegatum</i>	0.0016 (0.0015–0.0016)	0.0031 (0.0001–0.0032)	0.50 (0.48–0.53)	0.48 (0.43–0.53)	-3.161 ± 0.146
<i>R. microplus</i>	0.0879 (0.0776–0.0963)	0.2142 (0.1899–0.2385)	28.18 (24.93–32.41)	32.41 (25.24–45.25)	-2.437 ± 0.243
Cypermethrin					
<i>R. geigy</i>	0.0062 (0.0059–0.0065)	0.009567 (0.0091–0.010)	—	—	-5.020 ± 0.430
<i>A. variegatum</i>	0.0042 (0.0040–0.0044)	0.0076 (0.0073–0.0079)	0.68 (0.64–0.72)	0.79 (0.69–0.90)	-3.706 ± 0.255
<i>R. microplus</i>	0.0547 (0.0484–0.0610)	0.2258 (0.2012–0.2504)	8.79 (7.83–10.02)	23.15 (18.43–31.10)	-1.550 ± 0.003

Legend: *R*, *Rhipicephalus*; *A*, *Amblyomma*; *LC*, lethal concentration; *CI*, confidence interval; *RR*, resistance ratio.

Fig. 2 Dose–response curves of sampled *Amblyomma variegatum* and *Rhipicephalus microplus* strains in comparison to the susceptible reference strain *Rhipicephalus geigy* (Hounde, 2005) when tested with deltamethrin (a) and cypermethrin (b). Legend: The logarithm of the null (0) concentration (control), considered as 0.0001, (– 5) was excluded from the X axis for a best visualization



Amblyomma variegatum and *R. microplus* resistance status to cypermethrin

Regarding the LC_{50} and LC_{90} values, the same observations were found as in the case of deltamethrin. The values related to the reference strain *R. geigy* are intermediate to *A. variegatum* (low values, left curve) and *R. microplus* (higher values, right curve) (Table 1, Fig. 2b). However, the dose–response curves did not show any parallelism, as their slopes values are quite dissimilar (– 5; – 3.7; – 1.5) (Fig. 2b). The RR_{50} and RR_{90} values of *A. variegatum* (0.68 and 0.79) were lower than 4 indicating a high susceptibility to cypermethrin. On the opposite, *R. microplus* strain shows RR_{50} value between 4 and 10 (8.79) and a

RR_{90} value higher than 10 (23.15), leading to conclude to a cypermethrin moderate to highly resistant strain.

Discussion

Farmers' complaints on acaricidal treatment failures, associated with heavy tick infestations in livestock, were the first alert of *R. microplus* tick occurrence in southwestern BF (Adakal et al. 2013b). Even if the resistance of *R. microplus* to some acaricidal compounds has been evidenced in BF (Kande 2014), this study represents the first investigation involving the native tick species, *A. variegatum*. As suggested by Adakal et al. (2013b), we

assumed that *R. microplus* ticks from Kimini have been introduced in BF from Ivory Coast through transhumance, as hypothesized by local farmers. Thus, the resistance status evidenced here provides an explanation to previous observation on tick-control failures following *R. microplus* introduction in Ivory Coast (Madder et al. 2011). According to FAO (2004), emerging resistance can be suspected when RR_{50} is under 4, while RR_{90} is above, and the field strain slope smaller than the reference strain one. Here, both RR_{50} and RR_{90} values found for *R. microplus* Kimini strain were above 4, both for the commercial grade deltamethrin and cypermethrin. Moreover, the dose–response curve of this strain showed higher slope values than that of the reference strain *R. geigyi*. This leads to conclude to no emerging resistance in *R. microplus* tick population in south-western BF but to an established resistance previously existing in this tick population (Kande 2014). Considering the RR values, *R. microplus* studied strain's resistance level is in line with that of other strains tested in Brazil with the same compounds by LPT (Mendes et al. 2011; Klafke et al. 2017). Furthermore, some authors (Barré and Uilenberg 2010; Guerrero et al. 2012) suggest that mutations are favored by the rapid generation successions occurring in some parasite species and that could ease the selection of resistant subpopulations in species such as *R. microplus*. Its parasitic phase on the host lasts only 21 days and can have three or four generations per year (Cruz et al. 2020). In contrast, compared to *R. microplus*, the life cycle characteristics of the native tick species *A. variegatum* are different. It is a 3-host tick species, showing a life cycle lasting between about 140 and 270 days (Pegram and Banda 1990; Yonow 1995). The generation change is slow. Therefore, resistant mutations induced by rapid generation successions occurring in the case of *R. microplus* are less unlikely to happen. This could partially explain the high susceptibility of this strain. Moreover, *R. microplus* studied RR values are globally lower than that of some resistant strains reported in Benin (Adehan et al. 2016). This could reflect the various ways and habits in acaricidal compounds use among farmers in the two countries. Indeed, misuses of acaricides, such as the repeated use of the same acaricide, were highlighted in Benin (Achukwi et al. 2001). Furthermore, these results indicate that the aggregation pattern between both tick species on cattle in BF (Biguezoton et al. 2016) did not influence their reaction to the studied acaricides. The native tick species is highly susceptible, while the invasive tick species is resistant to the two acaricides. On contrary to our result, *A. variegatum* was found to be resistant to organophosphates and toxaphene in Ghana, a bordering country of BF (Turkson and Botchey 1999). Even if this finding is not updated, it could suggest a monitoring of tick acaricide resistance, mainly in bordering area in BF,

as risks of livestock invasion through transhumance movements remain.

In conclusion, the study provides current resistance status of *A. variegatum* and *R. microplus* regarding commercial grade synthetic pyrethroids in BF. Considering these results, there is a need of a wider investigation on acaricide resistance of the West African *R. microplus* strain and other tick species, for better control strategies of tick infestations. There is also a need to set up a mechanism to monitor the susceptibility status of *A. variegatum* strain to the most commonly used acaricidal compounds, as high selection pressure, through repeated use of the same compounds could lead to acaricidal resistance development.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02849-2>.

Acknowledgements The authors are grateful to Sébastien Zoungrana, lab technician at CIRDES, for its technical support. They thank farmers of Kimini commune for lending their animals for samples collection.

Author contribution Claude Saegerman, Laetitia Lempereur, Abel Biguezoton, and Patrick Yao Kouassi conceived and designed research. Achille S. Ouedraogo and Olivier M. Zannou collected samples. Achille S. Ouedraogo conducted the lab experience and wrote the original draft. All authors read and approved the final manuscript.

Data availability The datasets used during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethical approval This study was approved by CIRDES ethics committee (CE-CIRDES) for animal experimentation according to this reference number: 001–02/2017/CE-CIRDES.

Consent for publication All authors agreed to have the findings of this research published.

Conflict of interest The authors declare no competing interests.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- Achukwi, M.D., Tanya, V.N., Messiné, O., Njongmeta, L.M., 2001. Etude comparative de l'infestation des bovins Namchi (*Bos taurus*) et Goudali de Ngaoundéré (*Bos indicus*) par la tique adulte *Amblyomma variegatum*. Rev. D'élevage Médecine Vét. Pays Trop. 54, 37–41. <https://doi.org/10.19182/remvt.9803>
- Adakal, Biguezoton, A., Zougrana, S., Courtin, F., De Clercq, E.M., Madder, M., 2013a. Alarming spread of the Asian cattle tick *Rhipicephalus microplus* in West Africa—another three countries are affected: Burkina Faso, Mali and Togo. Exp. Appl. Acarol. 61, 383–386. <https://doi.org/10.1007/s10493-013-9706-6>
- Adakal, H., Stachurski, F., Chevillon, C., 2013b. Tick control practices in Burkina Faso and acaricide resistance survey in *Rhipicephalus (Boophilus) geigy* (Acari: Ixodidae). Exp. Appl. Acarol. 59, 483–491. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9610-5>
- Adehan S.B., Abel Biguezoton A, Adakal H, Assogba M. N, Zougrana S, Gbaguidi AM, 2016. Acaricide resistance of *Rhipicephalus microplus* ticks in Benin. Afr J Agric Res. 11(14):199–208. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10619>
- Allsopp, B. A., 2015. Heartwater-*Ehrlichia ruminantium* infection. Rev. Sci. Tech. Int. Off. Epizoot. 34, 557–568.
- Barré, N., Uilenberg, G., 2010. Spread of parasites transported with their hosts: case study of two species of cattle tick. Rev. Sci. Tech. 29, 149.
- Biguezoton, A., Adehan, S., Adakal, H., Zougrana, S., Farougou, S., Chevillon, C., 2016. Community structure, seasonal variations and interactions between native and invasive cattle tick species in Benin and Burkina Faso. Parasit. Vectors 9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1305-z>
- Cruz, B.C., de Lima Mendes, A.F., Maciel, W.G., dos Santos, I.B., Gomes, L.V.C., Felippelli, G., Teixeira, W.F.P., Ferreira, L.L., Soares, V.E., Lopes, W.D.Z., da Costa, A.J., de Oliveira, G.P., 2020. Biological parameters for *Rhipicephalus microplus* in the field and laboratory and estimation of its annual number of generations in a tropical region. Parasitol. Res. 119, 2421–2430. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06758-5>
- De Meneghi, D., Stachurski, F., Adakal, H., 2016. Experiences in Tick Control by Acaricide in the Traditional Cattle Sector in Zambia and Burkina Faso: Possible Environmental and Public Health Implications. Front. Public Health 4. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00239>
- Diarra, A. Z., Almeras, L., Laroche, M., Berenger, J.-M., Koné, A.K., Bocoum, Z., Dabo, A., Doumbo, O., Raoult, D., Parola, P., 2017. Molecular and MALDI-TOF identification of ticks and tick-associated bacteria in Mali. PLoS Negl. Trop. Dis. 11, e0005762. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005762>
- FAO., 2004. Resistance management and integrated parasite control in ruminants: guidelines. Module 1. Ticks: Acaricide Resistance: Diagnosis, Management and Prevention. FAO, Rome, Italy pp. 25–77.
- Guerrero, F.D., Lovis, L., Martins, J.R., 2012. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev. Bras. Parasitol. Veterinária 21, 1–6. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000100002>
- INSD (Institut national de la statistique et de la démographie), 2018. Annuaire statistique de la région des cascades. Septembre 2019
- Jonsson, N.N., Hope, M., 2007. Progress in the epidemiology and diagnosis of amitraz resistance in the cattle tick *Boophilus microplus*. Vet. Parasitol. 146, 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.03.006>
- Kande, S., 2014. Évaluation de la résistance des tiques *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) aux acaricides dans les zones d'introduction en Afrique de l'Ouest (Bénin, Burkina Faso et Côte d'Ivoire). Mémoire de fin de cycle. Univ. Polytechnique Bobo-Dioulasso, 54p
- Klafke, G., Webster, A., Dall Agnol, B., Pradel, E., Silva, J., de La Canal, L.H., Becker, M., Osório, M.F., Mansson, M., Barreto, R., Scheffer, R., Souza, U.A., Corassini, V.B., dos Santos, J., Reck, J., Martins, J.R., 2017. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. Ticks Tick-Borne Dis. 8, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.09.019>
- Lempereur, L., Beck, R., Fonseca, I., Marques, C., Duarte, A., Santos, M., Zúquete, S., Gomes, J., Walder, G., Domingos, A., Antunes, S., Baneth, G., Silaghi, C., Holman, P., Zintl, A., 2017. Guidelines for the Detection of *Babesia* and *Theileria* Parasites. Vector-Borne Zoonotic Dis. 17, 51–65. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1955>
- Madder, M., Thys, E., Achi, L., Touré, A., De Deken, R., 2011. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: a most successful invasive tick species in West-Africa. Exp. Appl. Acarol. 53, 139–145. <https://doi.org/10.1007/s10493-010-9390-8>
- Mendes, M.C., Lima, C.K.P., Nogueira, A.H.C., Yoshihara, E., Chiebao, D.P., Gabriel, F.H.L., Ueno, T.E.H., Namindome, A., Klafke, G.M., 2011. Resistance to cypermethrin, deltamethrin and chlorpyrifos in populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from small farms of the State of São Paulo, Brazil. Vet. Parasitol. 178, 383–388. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.01.006>
- Miller, R.J., Davey, R.B., George, J.E., 2002. Modification of the Food and Agriculture Organization Larval Packet Test to Measure Amitraz-Susceptibility Against Ixodidae. J. Med. Entomol. 39, 645–651. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.645>
- Muhanguzi, D., Byaruhanga, J., Amanyire, W., Ndekezi, C., Ochwo, S., Nkamwesiga, J., Mwiine, F.N., Tweyongyere, R., Fourie, J., Madder, M., Schetters, T., Horak, I., Juleff, N., Jongejan, F., 2020. Invasive cattle ticks in East Africa: morphological and molecular confirmation of the presence of *Rhipicephalus microplus* in south-eastern Uganda. Parasit. Vectors 13, 165. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04043-z>
- Ouedraogo, A.S., Zannou, O.M., Biguezoton, A.S., Yao, K.P., Belem, A., Farougou, S., Oosthuizen, M., Saegerman, C., Lempereur, L., 2021. Cattle ticks and associated tick-borne pathogens in Burkina Faso and Benin: apparent northern spread of *Rhipicephalus microplus* in Benin and first evidence of *Theileria velifeera* and *Theileria annulata*. Ticks Tick-Borne Dis. 101733. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101733>
- Pegram, R.G., Banda, D.S., 1990. Ecology and phenology of cattle ticks in Zambia: Development and survival of free-living stages. Exp. Appl. Acarol. 8, 291–301. <https://doi.org/10.1007/BF01202139>
- Ritz, C., Baty, F., Streibig, J.C., Gerhard, D., 2015. Dose-Response Analysis Using R. PLOS ONE 10, e0146021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146021>
- Stachurski, F., 2000. Invasion of West African cattle by the tick *Amblyomma variegatum*. Med. Vet. Entomol. 14, 391–399. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00246.x>
- Turkson, P.K., Botchey, M., 1999. Acaricide resistance in the cattle tick, *Amblyomma variegatum*, in the coastal savanna zone of Ghana. Ghana J. Agric. Sci. 32, 199–204.
- Yonow, T., 1995. The life-cycle of *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae): a literature synthesis with a view to modelling. Int. J. Parasitol. 25, 1023–1060. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(95\)00020-3](https://doi.org/10.1016/0020-7519(95)00020-3)

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Authors and Affiliations

Achille S. Ouedraogo^{1,2} · Olivier M. Zannou^{2,3} · Abel S. Biguezoton² ·
 Kouassi Yao Patrick⁴ · Adrien M. G. Belem⁵ · Souaibou Farougou⁶ ·
 Marinda Oosthuizen
 Claude Saegerman³ · Laetitia Lempereur^{8,9}

Olivier M. Zannou
 Olivier_mahuton@yahoo.fr

Abel S. Biguezoton
 babels005@yahoo.fr

Kouassi Yao Patrick
 ykpatrick@yahoo.fr

Adrien M. G. Belem
 belemamg@hotmail.fr

Souaibou Farougou
 s.farougou@gmail.com

Marinda Oosthuizen
 marinda.oosthuizen@up.ac.za

Claude Saegerman
 claude.saegerman@uliege.be

Laetitia Lempereur
 Laetitia.lempereur@health.fgov.be

¹ Center for Fundamental and Applied Research for Animal and Health (FARAH), Faculty of Veterinary Medicine, ULiège, 4000 Liège, Belgium

² Vector-Borne Diseases and Biodiversity Unit (UMaVeB), International Research and Development Centre on Livestock in Sub-Humid Areas (CIRDES), 454 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

³ Research Unit in Epidemiology and Risk Analysis Applied To Veterinary Sciences (UREAR-ULg), Fundamental and Applied Research for Animal and Health (FARAH), Center, Department of Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, ULiège, 4000 Liège, Belgium

⁴ UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny, , , BP V34, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

⁵ Institut du Développement Rural (IDR), Université Nazi BONI, 01 BP 1091 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

⁶ Communicable Diseases Research Unit, Polytechnic School of Abomey-Calavi, University of Abomey-Calavi, 01 BP 2009 Cotonou, Republic of Benin

⁷ Department of Veterinary Tropical Diseases, Faculty Veterinary Science, University of Pretoria, Onderspoort 0110, South Africa

⁸ Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases, Fundamental and Applied Research for Animal and Health (FARAH) Center, Department of Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, ULiège, 4000 Liège, Belgium

⁹ Present Address: Federal Public Service Public Health, Food Safety & Environment, President Services, Research Coordination, Place Victor Horta 40, 1060 Brussels, Belgium

Discussion - Perspectives

Discussion générale

Selon Estrada-Peña (2008), la température et l'hygrométrie interagissent pour définir une niche climatique pour chaque espèce de tique. Le microclimat est un facteur important de régulation de l'abondance des populations de tiques dans les couches de végétation. Le climat régule les périodes de l'année où les tiques sont actives. Il a des effets divers sur les taux de mortalité et de développement de la population de tiques (Estrada-Peña, 2015). C'est en cela que, de façon générale, les résultats enregistrés dans la caractérisation (tiques et hémoparasites) des zones de transhumance (Est BF et Nord BN), trouvent leurs explications.

Comme précédemment mentionné, au Nord BN, les pluviométries varient entre 900 et 1200 mm/an tandis qu'à l'Est du BF, elles varient de 700 à 900 mm/an. Ces caractéristiques climatiques permettent le développement d'habitats propices à la prolifération des tiques, plus au Nord BN qu'à l'est BF. Cependant, l'espèce de tique, *A. variegatum* est bien adaptée aux conditions climatiques des deux zones. C'est l'espèce la plus largement répandue et la plus abondamment collectée au cours de ces études. C'est une espèce qui peut occuper une grande variété de types d'habitats (forêts claires, parsemées, savanes boisées...), et peut supporter de très grandes variations de pluviosité (\approx 400-2000 mm).

Considérant les effectifs des tiques collectées dans les deux localités, une régression logistique multivariée a montré une association significative entre l'infestation des bovins par *A. variegatum* et *R. microplus* (OR : 1.1, CI : 1.01-1.1, p :0.01). Cela est similaire aux résultats de Biguezoton et al., (2016a), qui ont montré que l'incidence de *A. variegatum* augmente significativement du fait de la co-infestation des bovins avec *R. microplus*. Il en est de même pour *H. marginatum rufipes* (OR : 1.4, CI : 1.2-1.6, p < 0.0001) et *H. impressum* (OR :1.7, CI :1.1-2.5, p :0.023) qui apparaissent comme des variables à risque pour *H. truncatum*. Cela atteste du comportement agrégatif des espèces de tiques. La présence d'une espèce fragiliserait l'immunité de l'hôte, favorisant l'infestation d'une ou d'autres espèces. Ce schéma d'interaction positif d'espèces d'ectoparasites sur les mêmes individus hôtes a également été observé chez des tiques infestant des rats à trompes (*Elephantulus myurus*) (Lutermann et al., 2015), des puces de rongeurs (Krasnov et al., 2005) et des ectoparasites de chauves-souris (Presley, 2011). Le plus cité des mécanismes sous-tendant ce schéma d'association des tiques sur les hôtes vertébrés est la production de phéromones d'attraction-agrégation.

L'étude transversale n'a permis d'identifier *R. microplus* dans aucune des trois provinces prospectées à l'Est du BF. Les conditions climatiques (sus décrites) pourraient ne pas favoriser son implantation dans la zone, car sa présence a été rapportée dans la région du sud-ouest du BF (Adakal et al., 2013a), localité relativement plus humide que la région de l'Est. Pourtant, elle fût la deuxième espèce la plus abondante au Nord BN avec une abondance relative de 12,6 % après *A. variegatum*. Son expansion vers l'extrême

nord du Bénin, mise en évidence au cours de cette étude pourrait être induite par son adaptation à des conditions climatiques de plus en plus arides.

Quant aux autres espèces de tiques collectées, leur présence/absence de part et d'autre des deux zones frontalières pourrait être liée non seulement aux variations saisonnières de leur population, mais aussi aux caractéristiques climatiques des localités de collecte. Les espèces *R. muhsamae* et *R. senegalensis* n'ont pas été identifiées au Nord BN car la collecte d'échantillons dans cette zone a été réalisée de février à mars (saison sèche). Ce qui n'a pas coïncidé avec la période d'abondance de ces espèces, qui se situe entre août et octobre (saison pluvieuse) (Farougou et al., 2007b). L'absence de *H. impeltatum* à l'est du BF est corroborée par l'étude de Kouassi et al., (2016), selon laquelle cette espèce est uniquement confinée dans la région du sahel (Nord BF) qui est une zone désertique. C'est une tique qui est adaptée aux climats méditerranéens, de steppe et de désert (Walker et al., 2014). Au Nord Bénin, sa présence a été observée uniquement dans le département de l'Alibori (dans la zone frontalière Bénin-Niger).

En outre, six espèces d'agents pathogènes ont été identifiées dans le sang des bovins aussi bien à l'Est BF qu'au Nord BN. Ce sont : *T. mutans*, *T. velifera*, *T. annulata*, *B. bigemina*, *B. bovis*, *A. marginale*. Celles présentant les prévalences les plus élevées dans les deux zones étaient *T. mutans* et *T. velifera*, transmises par *A. variegatum* (Walker et al., 2014, Haghi et al., 2017). Ces deux espèces appartiennent au groupe des *Theileria* dits "non transformatrices" des schizontes. Ce sont des espèces qui n'induisent pas de prolifération des leucocytes, comparativement aux espèces dites "transformatrices" de schizontes, qui ont la capacité de transformer les leucocytes de l'hôte, de manière à permettre aux cellules infectées de proliférer indéfiniment avec les parasites qui les occupent. Les *Theileria* "non transformatrices" (*T. mutans*, *T. velifera*) sont considérées comme bénignes mais capables de provoquer des maladies et des degrés variables d'anémie, dépendant de la densité des piroplasmes dans les hématies. Généralement, la parasitémie est faible et l'infection est légère ou subclinique (Radostits et al., 2006, Sivakumar et al., 2014, Mans et al., 2015). La présence de *T. velifera* sur le continent Africain avait été précédemment rapportée (Abdela et Bekele, 2016). Cependant, cette étude représente sa première mise en évidence au BF et au BN. Bien que détectée avec de faibles prévalences, le cas de *T. annulata* (MT259958) est préoccupant. C'est une espèce pathogène, appartenant au groupe des "transformatrices" de schizontes et agent de la théleriose tropicale chez les bovins (Bishop et al., 2004 ; McKeever, 2009). Elle a été détectée dans les échantillons de sang des bovins, et dans ses tiques vectrices *Amblyomma*, *Hyalomma* et *Rhipicepalus* (Mans et al., 2015). Sur le continent africain, *T. annulata* est présente en Afrique du Nord, au Moyen-Orient et au Soudan (Mohamed et Ebied, 2014). Sa détection dans des tiques du genre *Hyalomma* en Mauritanie (Afrique de l'Ouest) (d'Oliveira et al., 1997) et dans la présente étude pourrait indiquer un changement dans sa distribution antérieure connue. Les agents pathogènes du genre *Babesia* mis en évidence sont *B. bovis* (MT259959), *B. bigemina* (MW545174), *B. occultans* et *B. microti*. Les

séquences des amplicons positifs (sur papier film RLB) en *B. occultans* et *B. microti* ont montré une plus grande similitude avec des séquences de *B. bigemina* disponibles sur GenBank (98-100% d'identité) via le programme BLAST du NCBI. Ce résultat conduit à suspecter un manque de spécificité des sondes utilisées. En conséquence, les positivités révélées par les sondes *B. occultans* (He et al., 2012) et *B. microti* (Nijhof et al., 2003) n'ont pas été prises en compte dans ces études du fait d'un manque de concordance entre les résultats du papier film (RLB) et le séquençage. Il en est de même pour la sonde *Theileria* genus-specific, *Babesia* 1 genus specific et *Babesia* 2 genus-specific (Nijhof, non publié). En dépit du manque de spécificité de certaines sondes, l'utilisation du RLB dans cette étude a permis la première détection de quelques espèces d'agents pathogènes transmis par les tiques au BF et au BN. Cette technique offre un avantage majeur, qui est l'identification simultanée de plusieurs agents pathogènes (≈ 43) sur un nombre important d'échantillons (≈ 43) (Schnittger et al., 2004). Cependant son emploi est encore peu répandu en Afrique de l'Ouest. Un autre agent pathogène nouvellement détecté dans la zone d'étude est *A. centrale*. Sa mise en évidence était inattendue, car sa principale tique vectrice est *Ixodes scapularis*, espèce de tique des climats tempérés, répandue à l'est et au sud-est des Etats Unis et du Canada (Gray et al., 2019). Cependant, l'implication de *R. sanguineus* s.l. (espèce de tique présente en Afrique de l'Ouest) et de *Haemaphysalis longicornis* dans la transmission de *Anaplasma* spp. a été rapportée (Parola and Raoult, 2001; Rymaszewska and Grenda, 2008). En conséquence, les risques de présence de *A. centrale* dans la zone subsistent. Sa détection a été signalée au Nigeria (Lorusso et al., 2016) sur base des résultats du papier film RLB. Dans la présente étude, son identification a été confirmée par la mise en évidence d'une séquence partielle du gène 16S rRNA (MW544746.1). *A. centrale* est très proche de *A. marginale*, en dehors de quelques caractéristiques morphologiques qui les différencient. Dans la plupart des cas d'infections bovines, *A. centrale* est responsable d'une anémie légère (Kuttler, 1984 ; Kocan et al., 2003 ; Rajput et al., 2005). Elle est reconnue comme moins pathogène pour le bétail qu'*A. marginale*, contre laquelle elle est en mesure d'induire une résistance chez l'hôte vertébré infecté. De ce fait, elle est utilisée pour la préparation de vaccin (*live vaccin*) assurant une protection immunologique contre l'anaplasmose bovine (Kocan et al., 2003) à *A. marginale*.

Les agents pathogènes détectés au cours de ces études étaient mis en évidence sur des bovins pour la plupart asymptomatiques. Le système d'élevage étant majoritairement extensif, les bovins vivent et pâturent dans l'environnement naturel et sont constamment exposés aux infestations par les tiques. Par conséquent, la région est devenue endémique pour de nombreux parasites transmis par les tiques (Lorusso et al., 2013 ; Adehan et al., 2016). Cette situation favorise le développement d'une immunité naturelle contre les tiques et les agents pathogènes transmis par les tiques. Dans le cas de la babésiose, les bovins s'infectent lorsqu'ils sont jeunes, alors qu'ils sont plus résistants à la maladie (Goff et al., 2001). Ils restent souvent porteurs et développent ainsi une immunité sur le long terme. Les animaux

adultes naïfs introduits ou les jeunes dont l'exposition aux tiques a été interrompue sont les plus à risque (Moutailler et al., 2015). En outre, la race bovine, *Bos indicus*, majoritairement représentée dans notre échantillonnage, est réputée être résistante à de fortes infestations de tiques et à l'anaplasmose (Kocan et al., 2010).

En plus des facteurs climatiques, la dissémination des populations de tiques et des agents pathogènes est soumise à l'influence de certaines actions anthropiques, telles que l'ouverture de nouveaux écosystèmes favorables à certaines espèces (Mccoy and Chevillon, 2016), et surtout le déplacement saisonnier des animaux à l'intérieur des pays ou à travers les frontières. C'est le cas des éleveurs de la région de l'Est BF, qui prennent départ pour la transhumance en saison sèche (T0BF) pour échapper à l'aridité du climat : assèchement des points d'eau, manque de pâturage (Abdourazakou, 2016). Leur séjour au Nord BN coïncide avec le début de la saison pluvieuse (T1BN), et leur retour dans leur région d'origine correspond à la saison pluvieuse (T2BF). *A. variegatum* était l'espèce de tique la plus abondamment collectée au cours de ces périodes majeures de la transhumance. L'accomplissement de son cycle biologique était apparent dans les données recueillies. Une évolution inverse des courbes d'abondance des adultes et des nymphes sur la durée de la transhumance saisonnière a été observée (Cf Fig. 4, Etude 2) : une majorité de nymphes a été collectée à T0BF, un mélange d'adultes et de nymphes à T1BN, et une majorité d'adultes à T2BF. Par ailleurs, l'influence de la température sur l'abondance des nymphes est également remarquable. L'augmentation de la température correspond à la diminution de l'abondance des nymphes (Coef de poisson : -0.06, p : 0.038). En présence d'humidité, l'accroissement de la température favoriserait la métamorphose nymphale chez *A. variegatum*. Les conditions optimales pour la métamorphose nymphale de cette espèce sont : une température de 20 à 35°C et une humidité de 40% à 85% (Bournez, 2014). Ensuite, il y a les espèces du genre *Hyalomma* : *H. truncatum* et *H. rufipes*. Ce sont généralement des espèces à deux hôtes, dont les adultes infestent les bovins à toutes les périodes de l'année avec des pics d'abondance entre février et juin et entre août et décembre (Biguezoton et al., 2016). Les espèces *R. decoloratus* et *R. geigy* ont également été collectées à toutes les étapes de la transhumance. Ce sont des tiques à un hôte (monophasique) qui ont un cycle de reproduction court, ce qui leur permet d'avoir plusieurs générations dans une même année (Farougou, 2009). Les abondances relatives de toutes les espèces de tiques susmentionnées (*A. variegatum*, *H. truncatum*, *H. rufipes*, *R. decoloratus*, *R. geigy*) n'ont montré aucune différence significative sur les 3 temps (T0BF, T1BN, T2BF) de la transhumance. Le déplacement saisonnier des bovins n'affecte donc pas les charges de tiques portées par les animaux transhumants. Nos travaux montrent que la transhumance influence plutôt d'une part l'infestation des animaux par de nouvelles espèces de tiques que celles circulant dans la zone de départ (ex. *H. impressum*, *H. nitidum*, et *R. lunulatus*). D'autre part elle favorise la dissémination de certaines espèces telles que *H. impeltatum* et *R. lunulatus* retrouvées sur les bovins transhumants du BF après leur retour du Nord BN. *H. impeltatum* est une tique à trois hôtes dont les stases immatures infestent les rongeurs, les lièvres, les oiseaux et les humains. Les adultes

ne présentent pas de préférence marquée pour un hôte et ont été mis en évidence sur une grande variété d'animaux sauvages et domestiques ainsi que sur les humains (Dohm et al., 1996). Le temps de gorgement moyen des femelles est de 8 jours (Logan et al., 1989). Ce temps de fixation paraît relativement court pour permettre le déplacement de la tique sur une grande distance. Cependant, selon les résultats de l'étude 1, cette tique était absente à l'est du BF, mais présente au Nord Bénin. Ce qui permet de conclure à une potentielle dissémination via la transhumance, en dépit de la variabilité saisonnière. L'infestation des bovins transhumants par cette espèce serait donc intervenue pendant le trajet du retour du nord du BN vers l'est du BF. Par contre, *R. lunulatus*, bien qu'étant une tique triphasique, les femelles présentent un temps de gorgement de 10 à 22 jours en moyenne. Cette durée de fixation sur l'hôte pouvant même atteindre 64 jours, dépendant de la température, de l'humidité relative de l'air et de la photopériode (Colborne, 1985). Ce qui a probablement favorisé sa dissémination du Nord BN vers l'Est BF.

Par ailleurs, 3 individus (2 femelles et 1 mâle) de l'espèce *R. microplus* ont été identifiées dans les échantillons collectés au retour des bovins de la transhumance à l'Est BF. En effet *R. microplus* est une tique monophasique. Le temps que passe les 3 stases sur l'hôte est d'environ 21 jours dans les conditions naturelles (Walker et al., 2014). Cette durée de fixation lui confère une plus grande susceptibilité d'être transportée par les bovins du nord du BN à l'est du BF, c'est-à-dire au cours du mouvement retour de la transhumance qui dure entre 7 et 21 jours. Cependant, ce résultat ne permet pas de conclure à un envahissement de la région de l'Est BF par cette espèce, car l'établissement d'une espèce de tique dans une zone précédemment indemne nécessite l'introduction d'un nombre assez élevé d'individus des deux sexes, dans des conditions climatiques pouvant permettre leur reproduction (Chevillon and Huber, 2016). Cette tique a été introduite pour la première fois en Afrique de l'Ouest à partir du sud de la Côte d'Ivoire en 2011 (Madder et al., 2011), puis au BN en 2012 (Madder et al., 2012). Selon De Clercq et al., (2012) sa présence dans les départements du Borgou et de la Donga au Nord Bénin était surprenante car elle requiert un taux d'humidité relativement élevé pour sa survie. Les spécimens mâles de cette espèce seraient en mesure de s'accoupler avec les femelles d'espèces proches natives, donnant des individus stériles hybrides (De Clercq et al., 2012). Son expansion à différents pays de la sous-région (Burkina Faso, Mali, Togo) a été très rapide (Adakal et al., 2013). Cet envahissement rapide de la sous région pourrait être lié aux caractéristiques biologiques de l'espèce. Son cycle de reproduction court lui confère un grand pouvoir de multiplication (Estrada-Peña et al., 2006; Walker et al., 2014). De plus, le génome de *R. microplus* est le plus grand génome d'arthropode connu. 40% de ce génome est constitué de séquences hautement répétées et 30% de séquences modérément répétées (Ullmann et al., 2005). La répétition de séquences étant une source de diversité biologique (Grechko, 2011), une telle structure génomique augmente la probabilité d'apparition de nouvelles mutations sur l'une ou l'autre des copies de gènes. Certaines de ces mutations seront aptes à modifier le métabolisme de vie de la tique, non seulement dans le sens d'une meilleure adaptation aux habitats nouvellement colonisés, mais aussi dans

le sens de développement de mécanismes de résistance à de nombreuses molécules acaricides (Chevillon and Huber, 2016). Ces différentes caractéristiques sont à l'origine du caractère invasif de *R. microplus*, et de sa capacité à remplacer des espèces proches (ex : *R. decoloratus*) comme ce fut le cas dans de nombreuses localités au sud du BN (De Clercq et al., 2012), en Ouganda (Muhanguzi et al., 2020) et en Afrique du Sud (Nyangiwe et al., 2013). Par conséquent, un nouvel échantillonnage suivi d'une caractérisation moléculaire de l'espèce et d'une étude sur sa dissémination spatiale dans l'ensemble de la région de l'est du BF s'avèrent nécessaires. Les variations (en termes de présence-absence) observées dans les populations de tiques au cours de la transhumance, ont probablement influencé les prévalences des agents pathogènes infectant les bovins. Les prévalences de *T. mutans* et *T. velifera* étaient similaires de T0BF à T1BN, tandis qu'une augmentation significative des prévalences de *B. bigemina* et *A. marginale* était observée. En effet, les espèces de tiques apparues à T1BN, telles que *H. impressum*, *H. nitidum* et *R. lunulatus* sont impliquées dans la transmission d'un certain nombre d'agents pathogènes. *H. impressum* et *H. nitidum* sont surtout considérées comme réservoirs et vectrices du virus de la fièvre hémorragique Crimée-Congo en Afrique sub-saharienne (Schulz et al., 2020). *Rickettsia africae* a été mis en évidence chez *H. impressum* (Ehounoud et al., 2016) et des kinètes de *Babesia* spp. y ont été observés (Apanaskevich and Horak, 2007). Quant à *R. lunulatus*, elle est associée à une toxicose provoquant la paralysie des agneaux, des moutons et des veaux. Son statut de vectrice d'agents pathogènes n'est pas bien établi (Walker, 2003).

L'identification de la plupart des agents pathogènes mis en évidence (aussi bien dans l'étude transversale, Etude 1, que longitudinale, Etude 2) dans le sang des bovins, a été confirmée par leur présence dans leurs tiques vectrices collectées. Cependant, certains agents pathogènes ont été retrouvés dans des espèces de tiques non reconnues comme leurs vectrices (Ex : *B. bovis* dans *H. rufipes*, *B. bigemina* dans *A. variegatum*). En dépit du fait que les intestins des tiques gorgées de sang aient été retirés avant les extractions d'ADN, il n'est pas exclu que les tiques non vectrices aient été contaminées via un repas sanguin pris sur un hôte vertébré infecté. En conséquence, la positivité des tiques (révélée dans cette étude) n'implique pas nécessairement leur compétence vectorielle pour les agents pathogènes identifiés. Ces études ont utilisé les tiques comme organismes sentinelles pour mettre en évidence des parasites et des bactéries présents à l'Est BF et au Nord BN. Dans la même optique, les tiques ont été utilisées pour rechercher de potentiels virus (arbovirus) circulant dans la zone. Cette recherche a abouti à l'identification de deux espèces de virus du genre *Parapoxvirus* : le virus de la stomatite papuleuse bovine (BPSV : MT122761) et le virus du pseudocowpox (PCPV : MT122762) identifiés pour la première fois au BF. Les espèces de tiques sur lesquelles ils ont été mis en évidence sont *A. variegatum* et *H. truncatum* pour le BPSV et le PCPV, et *H. rufipes* pour le PCPV uniquement. Leur transmissibilité par les tiques n'est pas encore établie, mais leur détection dans la présente étude est d'une importance significative. En effet, ce sont des virus dont le génome est constitué d'un ADN double brin linéaire, stable dans l'environnement (Nitsche et al., 2006). Le BPSV est responsable d'une pathologie

généralement bénigne chez les ruminants. Elle se caractérise par des papules et des ulcères dans la cavité buccale, sur le museau, et plus rarement dans l'œsophage et sur les mamelles (Jeckel et al., 2011 ; de Sant'Ana et al., 2012). Le PCPV provoque un ecthyma contagieux chez les ovins, les caprins et les bovins. Son infection se caractérise par un gonflement nodulaire ulcératif et des pustules sur le pis et les trayons chez la vache (Oğuzoğlu et al., 2014). Le BPSV et le PCPV sont tous deux zoonotiques. L'homme est occasionnellement infecté après un contact avec des lésions d'animaux infectés, ou suite à la manipulation de carcasses d'animaux infectés (Buchan, 1996). Les fermiers, les trayeurs et leurs proches peuvent développer des lésions sur les mains, les avant-bras, les jambes et le visage accompagnées de plusieurs symptômes systémiques (Abrahão et al., 2009 ; Holmes et al., 2011). Leur détection représente une réelle alerte dans le contexte ouest africain et particulièrement burkinabè, où les populations vivent en contact étroit avec les animaux d'élevage. Ils pratiquent le détiqage manuel pour limiter l'infestation du bétail par les tiques. La traite des vaches laitières y est également manuelle et la manipulation des carcasses se fait sans mesures de protection particulières (gants, bavette, masque...). Leur présence au BF (révélée par cette thèse) devra attirer l'attention des autorités en charge du secteur de l'élevage, afin que des mesures soient prises pour sensibiliser les communautés d'éleveurs, pour minimiser les risques d'infection et prévenir l'émergence de pathologies virales d'origine animale. En plus d'être exposés à des infections virales, certains éleveurs au BF sont confrontés à une inefficacité de certains composés acaricides commerciaux, utilisés dans le contrôle des populations de tiques. Il s'agit notamment des éleveurs du sud-ouest du pays, région envahie par la tique *R. microplus*, depuis une dizaine d'années suite à des mouvements de transhumance avec le nord de la Côte d'Ivoire (Adakal et al., 2013). Dans le but de pallier le manque d'information sur des cas d'inefficacité d'acaricides empiriquement rapportés, notre étude s'est proposée d'étudier la résistance de deux espèces de tiques de la région, aux pyréthrinoïdes de synthèse (commerciaux) les plus couramment utilisés : la deltaméthrine et la cyperméthrine. Les résultats obtenus ont confirmé une forte résistance de *R. microplus* à ces molécules comme cela avait été préalablement rapporté dans d'autres pays (Li et al., 2004 ; Shakya et al., 2020). Les valeurs des ratios de résistances (RR) indiquent que cette résistance n'est pas émergente. La région a été envahie par une souche préalablement résistante aux molécules testées. Quant à *A. variegatum*, elle a montré une forte sensibilité aux pyréthrinoïdes de synthèse testés, permettant de conclure que les problèmes d'inefficacité d'acaricides rapportés sont le fait de l'envahissement de la région par *R. microplus*. Cependant, eu égard aux mauvais usages des produits acaricides dans la zone (sur ou sous dosage, utilisation exagérément prolongée de la même molécule), des études ultérieures sont nécessaires pour tester la sensibilité d'autres espèces de tiques, afin de prévenir l'émergence de résistances.

Conclusions

En dépit des mouvements de transhumance entre l'est du BF et le nord du BN, dans ces deux pays frontaliers ouest africains, la problématique liée à la dissémination des tiques et des agents pathogènes associés a longtemps été reléguée au second plan. Cependant, depuis une dizaine d'années, l'invasion de la sous-région par la tique *R. microplus* a motivé l'initiation de nombreux projets de recherche dont le projet "TransTick" (Appui aux réseaux d'épidémiologie-surveillance des maladies animales et aspects sociologiques associés en Afrique de l'Ouest) dans lequel les études sus-rapportées ont été réalisées. Le volet parasitologique de ce projet, qui constituait l'objectif général de notre thèse, visait à déterminer l'impact de la transhumance bovine (entre l'est BF et le nord BN) sur la dissémination des tiques et des agents pathogènes associés, et à évaluer leurs implications zoonotiques. Dans un premier temps (Etude 1), il s'est agi de caractériser (tiques et hémoparasites associés) une zone de départ de la transhumance, les trois provinces de l'extrême Est BF (Gourma, Kompienga, Tapoa), et une zone d'arrivée, les quatre départements du Nord BN (Borgou, Alibori, Atacora, Donga). Nos résultats indiquent l'absence de *R. microplus* à l'est du BF, et son abondance dans les départements du Borgou et de la Donga au nord du BN, permettant de conclure à des risques parasitaires plus élevés dans cette dernière zone. Par conséquent, les échanges de parasites s'effectueraient plus du nord BN vers l'est BF, que l'inverse. Cela a été confirmé dans la deuxième partie de notre thèse (Etude 2), qui a analysé l'impact de la transhumance bovine sur la dissémination des tiques et des agents pathogènes associés entre les deux zones. Des espèces de tiques absentes au départ de la transhumance ont été collectées sur des bovins transhumants dans la zone d'arrivée. L'Est du BF était indemne de la tique *R. microplus* selon les résultats de l'étude 1, mais des spécimens de cette espèce y ont été identifiés au retour des bovins de la transhumance, soulignant des risques d'invasion de la zone par cette espèce. Ces résultats suggèrent une réelle implication de la transhumance dans la dissémination des tiques entre l'est du BF et le nord du BN. Cependant, l'impact de la transhumance se combine à l'effet des variations saisonnières, et provoque une fluctuation des abondances des tiques, influençant ainsi les prévalences des agents pathogènes transmis. De T0BF à T1BN, les prévalences de *T. mutans* et *T. velifera* étaient du même ordre de grandeur, tandis qu'une augmentation significative était observée dans le cas de *B. bigemina* et d'*A. marginale*. L'utilisation du RLB a favorisé la première description de *T. velifera*, *T. annulata* et *A. centrale* dans la zone d'étude. Cela constitue une contribution majeure à la connaissance des agents pathogènes transmis par les tiques au BF et au BN. Par ailleurs, une partie des échantillons de tiques collectées a servi d'organismes sentinelles pour mener la recherche de potentiels arbovirus circulant dans la région. Cela a abouti à la mise en évidence de deux espèces de virus du genre *Parapoxvirus* : le virus de la stomatite papuleuse bovine (BPSV) et le virus du pseudocowpox (PCPV) identifiés pour la première fois au BF. Leur transmissibilité par les tiques n'est pas encore établie. Cette découverte

intervient dans un milieu où les pratiques d'élevages exposent les fermiers à des risques d'infections zoonotiques. Par ailleurs, la mise en évidence de la résistance de *R. microplus* (souche Kimini) aux pyréthriinoïdes de synthèse commerciaux (deltaméthrine, cyperméthrine), confirme l'inefficacité des acaricides (empiriquement rapporté) dans la région du Sud-Ouest du BF. Des études ultérieures, incluant d'autres espèces de tiques et d'autres composés acaricides, sont nécessaires pour mieux cerner la problématique des souches résistantes, afin de proposer des stratégies de lutte efficaces et peu onéreuses.

Recommandations et Perspectives

En saison sèche, la transhumance vers le Nord BN constitue un moyen de subsistance pour les éleveurs de l'Est BF, mais en même temps un danger au niveau sanitaire, par exemple vis-à-vis des infestations par les tiques, notamment la tique *R. microplus*. De plus, la longueur des distances parcourues (150-200 km) soumet les bovins à d'énormes dépenses d'énergie et provoque une dégradation de leur condition physique. Cependant, au regard des enjeux économiques, sociaux et culturels que revêt cette pratique, son interdiction pourrait avoir un impact négatif important pour les pasteurs, si des conditions préalables, visant à pallier les contraintes environnementales ne sont pas réunies. Nous basant sur les résultats engrangés au cours de cette thèse, nous suggérons une limitation graduée des mouvements de transhumance, à travers la mise en place d'un certain nombre d'infrastructures et de cadres de formation, à savoir :

- La délimitation d'aires de pâturage interdites aux activités agricoles et la construction de retenus d'eau pérennes dans la région, de sorte à assurer l'abreuvement des troupeaux en saison sèche
- La création de micro-industries locales, spécialisées dans l'ensilage des résidus de récolte et d'espèces végétales prisées, pour impulser l'adhésion des éleveurs à un système d'élevage sédentaire avec intrants
- Un renforcement des capacités des agents des services vétérinaires locaux sur les connaissances des tiques et des agents pathogènes transmis, afin de favoriser une prise en charge efficace des maladies à tiques dans les zones frontalières

En attendant la mise en place de ces propositions, nous suggérons un accompagnement des éleveurs pratiquant la transhumance à travers la sensibilisation sur les bonnes pratiques pouvant limiter l'infestation de leurs animaux et la dissémination des espèces de tiques. Cette approche émane également des résultats de nos travaux de terrain et de laboratoire. Elle constitue une première étape à l'approche ci-dessus suggérée.

L'espèce de tique *A. variegatum* est l'espèce de tique la plus abondante aussi bien à l'Est BF, qu'au Nord BN. Bien qu'elle soit sensible aux pyréthriinoïdes de synthèse testés, de nombreux cas de fortes infestations, avec de graves conséquences ont été observées sur le terrain. L'accès aux produits acaricides ou le mésusage (sous dosage) étaient souvent en cause. Par conséquent, nous suggérons:

- Une plus grande implication des services vétérinaires dans le contrôle des produits acaricides commercialisés et utilisés dans la zone
- La mise en place de cadres de formation des éleveurs (conférences périodiques, campagnes de sensibilisation) sur les techniques d'usage des produits acaricides, les risques pour la santé humaine, animale et environnementale
- La promotion à long terme des méthodes de lutte écologique, génétique et immunologiques (conception de vaccins) pour limiter au minimum l'usage des composés chimiques

En perspective, il s'avère nécessaire de procéder à:

- Une nouvelle prospection sur la dissémination des tiques dans l'ensemble de la région de l'Est, avec un focus sur l'espèce *R. microplus* au regard des risques d'invasion mis en évidence dans cette thèse. Cette prospection devra tenir compte des mouvements de transhumance
- Des recherches plus approfondies sur les arbovirus ainsi que sur d'autres agents pathogènes à caractère zoonotique transmis par les tiques (ex : *Rickettsia*) dans le bétail et au sein des populations d'éleveurs de la zone d'étude (dans une approche "One Health"), pour favoriser le développement et le renforcement de la surveillance
- Une étude sur la compétence vectorielle des espèces de tiques (*A. variegatum*, *H. marginatum rufipes* et *H. truncatum*) dans la transmission du BPSV et du PCPV
- Une évaluation de la résistance/sensibilité des espèces de tiques d'intérêt vétérinaire (*A. variegatum*, *R. microplus*, *H. rufipes*...) aux composés acaricides les plus couramment utilisés au BF et au BN, pour identifier les espèces de tiques à cibler dans le cadre de la mise au point de stratégies de lutte

Bibliographie

Bibliographie générale

- Abanda, B., Paguem, A., Abdoumoumini, M., Kingsley, M.T., Renz, A., Eisenbarth, A., 2019. Molecular identification and prevalence of tick-borne pathogens in zebu and taurine cattle in North Cameroon. *Parasites & Vectors* 12, 448. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3699-x>
- Abbas, R.Z., Zaman, M.A., Colwell, D.D., Gilleard, J., Iqbal, Z., 2014. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: The state of play. *Vet. Parasitol.* 203, 6–20. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.03.006>
- Abdela, N., Bekele, T., 2016. Bovine theileriosis and its control: a review. *Adv Biol Res* 10, 200–12.
- Abdourazakou, a., 2016. La transhumance transfrontalière: source de dégradation du couvert végétal et de conflits dans la région des savanes (nord-togo). *Revue de Géographie de l'Université Ouaga I Pr Joseph Ki-Zerbo* N° 05- Oct. 2016, Vol. 2
- Abrahão, J.S., Lima, L.S., Assis, F.L., Alves, P.A., Silva-Fernandes, A.T., Cota, M.M., Ferreira, V.M., Campos, R.K., Mazur, C., Lobato, Z.I., Trindade, G.S., Kroon, E.G., 2009. Nested-multiplex PCR detection of Orthopoxvirus and Parapoxvirus directly from exanthematic clinical samples. *Virology Journal* 6, 140. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-6-140>
- Abrahão, J.S., Silva-Fernandes, A.T., Assis, F.L., Guedes, M.I., Drumond, B.P., Leite, J.A., Coelho, L.F.L., Turrini, F., Fonseca, F.G., Lobato, Z.I.P., Madureira, M., Ferreira, P.C., Bonjardim, C.A., Trindade, G.S., Kroon, E.G., 2010. Human Vaccinia virus and Pseudocowpox virus co-infection: Clinical description and phylogenetic characterization. *Journal of Clinical Virology* 48, 69–72. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2010.02.001>
- Abubakar, M., Perera, P.K., 2019. Ticks and Tick-Borne Pathogens. BoD-Books on Demand
- Achukwi, M.D., Tanya, V.N., Messiné, O., Njongmeta, L.M., 2001. Etude comparative de l'infestation des bovins Namchi (*Bos taurus*) et Goudali de Ngaoundéré (*Bos indicus*) par la tique adulte *Amblyomma variegatum*. *Rev. D'élevage Médecine Vét. Pays Trop.* 54, 37–41. <https://doi.org/10.19182/remvt.9803>
- Adakal, Biguezoton, A., Zoungrana, S., Courtin, F., De Clercq, E.M., Madder, M., 2013a. Alarming spread of the Asian cattle tick *Rhipicephalus microplus* in West Africa - another three countries are affected: Burkina Faso, Mali and Togo. *Exp Appl Acarol* 61, 383–386. <https://doi.org/10.1007/s10493-013-9706-6>
- Adakal, H., Gavotte, L., Stachurski, F., Konkobo, M., Henri, H., Zoungrana, S., Huber, K., Vachieri, N., Martinez, D., Morand, S., Frutos, R., 2010. Clonal origin of emerging populations of *Ehrlichia*

- ruminantium* in Burkina Faso. *Infection, Genetics and Evolution* 10, 903–912.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2010.05.011>
- Adakal, H., Stachurski, F., Chevillon, C., 2013. Tick control practices in Burkina Faso and acaricide resistance survey in *Rhipicephalus (Boophilus) geigy* (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.* 59, 483–491. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9610-5>
- Adehan S.B., Abel Biguezoton A, Adakal H, Assogba MN, Zoungrana S, Gbaguidi AM, 2016. Acaricide resistance of *Rhipicephalus microplus* ticks in Benin. *Afr J Agric Res* (2016) 11(14):1199–208. doi:10.5897/AJAR2015. 10619
- Adehan, B.S., Abel, B., Aquilas, D., Marc, N.A., Razacki, A., Hassane, A., Guy, A.M., Soua iuml bou, F., Maxime, M., 2016. Blood survey of *Babesia* spp and *Theileria* spp in Monos cattle, Benin. *Afr. J. Agric. Res.* 11, 1266–1272. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10055>
- Adeyinka, A., Muco, E., Pierre, L., 2021. Organophosphates, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)
- Adjou Moumouni, P.F., Aplogan, G.L., Katahira, H., Gao, Y., Guo, H., Efstratiou, A., Jirapattharasate, C., Wang, G., Liu, M., Ringo, A.E., Umemiya-Shirafuji, R., Suzuki, H., Xuan, X., 2018. Prevalence, risk factors, and genetic diversity of veterinary important tick-borne pathogens in cattle from *Rhipicephalus microplus*-invaded and non-invaded areas of Benin. *Ticks and Tick-borne Diseases* 9, 450–464. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.12.015>
- Agbede, R.I.S., Kemp, D.H., 1985. Digestion in the cattle-tick *Boophilus microplus*: Light microscope study of the gut cells in nymphs and females. *International Journal for Parasitology* 15, 147–157. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(85\)90080-3](https://doi.org/10.1016/0020-7519(85)90080-3)
- Ahmed, J.S., 2016. *Theileria* Species, in: Mehlhorn, H. (Ed.), *Encyclopedia of Parasitology*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 2651–2661. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43978-4_3146
- Akinboade, O.A., Dipeolu, O.O., 1981. Detection of *Babesia bovis* infections in *Boophilus geigy* with egg crushings, larval smears, and haemolymph puncture. *Vet. Q.* 3, 143–147
- Akinboade, O.A., Dipeolu, O.O., 1985. Bovine babesiosis in Nigeria: the vectorial capability of *Boophilus decoloratus* and *Boophilus geigy* for *Babesia bigemina* and *Babesia bovis*. *Acarologia* 26, 235–237
- Alexander, G.I., Reason, G.K., Clark, C.H. (Queensland D. of P.I., 1984. The development of the Australian Friesian Sahiwal, a tick-resistant dairy breed. *World Animal Review* (FAO)

- Alidou, S.M., 2016. Cross-border transhumance corridors in West Africa. CapEx Support. Pastor. Dev. 8
- Allsopp, M.T.E.P., Allsopp, B.A., 2006. Molecular Sequence Evidence for the Reclassification of Some *Babesia* Species. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1081, 509–517. <https://doi.org/10.1196/annals.1373.076>
- Altay, K., Aydin, M.F., Dumanli, N., Aktas, M., 2008. Molecular detection of *Theileria* and *Babesia* infections in cattle. *Veterinary Parasitology* 158, 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.025>
- Alvarez, J.A., Rojas, C., Figueroa, J.V., 2019. Diagnostic Tools for the Identification of *Babesia* sp. in Persistently Infected Cattle. *Pathogens* 8, 143. <https://doi.org/10.3390/pathogens8030143>
- Apanaskevich, D.A., Horak, I.G., 2007. The genus *Hyalomma* Koch, 1844. III. Redescription of the adults and larva of *H. (Euhyalomma) impressum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) with a first description of its nymph and notes on its biology. *Folia Parasitol. (Praha)* 54, 51
- Apanaskevich, D.A., Horak, I.G., 2008. The genus *Hyalomma* Koch, 1844: v. re-evaluation of the taxonomic rank of taxa comprising the *H. (Euhyalomma) marginatum* koch complex of species (Acari: Ixodidae) with redescription of all parasitic stages and notes on biology. *International Journal of Acarology* 34, 13–42. <https://doi.org/10.1080/01647950808683704>
- Apanaskevich, D.A., Oliver, J.H., Sonenshine, D.E., Roe, R.M., 2013. Life cycles and natural history of ticks. *Biology of ticks* 1, 59–73
- Aubry, P., Geale, D.W., 2011. A review of bovine anaplasmosis. *Transbound. Emerg. Dis.* 58, 1–30. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01173.x>
- Baek, B.-K., Lee, Y.-J., Kim, B.-S., 2002. Antiparasitic Effect of Diminazene Aceturate on *Theileria sergenti* Types in Calves. *Korean Journal of Veterinary Research* 42, 261–268
- Bakirci, S., Sarali, H., Aydin, L., Latif, A., Eren, H., Karagenç, T., 2011. *Hyalomma rufipes* (Koch, 1844) infesting cattle in the West Aegean region of Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 35, 359–363
- Balashov Y.S. (1972). Bloodsucking ticks (Ixodoidea): vectors of diseases of man and animals. *In* Miscellaneous publications of the Entomological Society of America (ESA), Vol. VIII. ESA, College Park, Maryland, 161–376
- Barker, S.C., Murrell, A., 2004. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology* 129, S15–S36. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005207>

- Barré, N., 1988. Mesures agronomiques permettant une diminution des populations de la tique *Amblyomma variegatum*. Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux 41, 387–393. <https://doi.org/10.19182/remvt.8658>
- Barré, N., Garris, G., Camus, E., 1995. Propagation of the tick *Amblyomma variegatum* in the Caribbean. Rev. Sci. Tech.-Off. Int. Épizooties 14, 841–841
- Barré, N., Garris, G.I., Borel, G., Camus, E., 1988. Hosts and Population Dynamics of *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae) on Guadeloupe, French West Indies. J. Med. Entomol. 25, 111–115. <https://doi.org/10.1093/jmedent/25.2.111>
- Barré, N., Uilenberg, G., 2010. Spread of parasites transported with their hosts: case study of two species of cattle tick. Rev. Sci. Tech. 29, 149
- Beati, L., Keirans, J.E., 2001. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12s ribosomal dna gene sequences and morphological characters. Journal of Parasitology 87, 32–48. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2001\)087\[0032:AOTSRA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2001)087[0032:AOTSRA]2.0.CO;2)
- Bekker, C.P.J., 2002. Molecular Detection and Characterization of *Ehrlichia ruminantium* (PhD Thesis)
- Bekker, C.P.J., de Vos, S., Taoufik, A., Sparagano, O.A.E., Jongejan, F., 2002. Simultaneous detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ruminants and detection of *Ehrlichia ruminantium* in *Amblyomma variegatum* ticks by reverse line blot hybridization. Veterinary Microbiology 89, 223–238. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00179-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00179-7)
- Bell-Sakyi, L., Palomar, A., Bradford, E.L., Shkap, V., 2015. Propagation of the Israeli vaccine strain of *Anaplasma centrale* in tick cell lines. Vet. Microbiol. 179. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.07.008>
- Bente, D.A., Forrester, N.L., Watts, D.M., McAuley, A.J., Whitehouse, C.A., Bray, M., 2013. Crimean-Congo hemorrhagic fever: History, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. Antiviral Research 100, 159–189. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.07.006>
- Bezuidenhout, J.D., Jacobsz, C.J., 2014. Proof of transovarial transmission of *Cowdria ruminantium* by *Amblyomma hebraeum*
- Bezuidenhout, J.D., Stutterheim, C.J., 1980. A critical evaluation of the role played by the red-billed oxpecker *Buphagus erythrorhynchus* in the biological control of ticks. Une Evaluation Critique du role Joue par l'oiseau, *Buphagus er Ythrorhynchus*, dans le Controle Biologique des Tiques

- Bianchi, M.W., Barré, N., 2003. Factors affecting the detachment rhythm of engorged *Boophilus microplus* female ticks (Acari: Ixodidae) from Charolais steers in New Caledonia. *Veterinary Parasitology* 112, 325–336. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00271-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00271-6)
- Biguezoton, A., Adehan, S., Adakal, H., Zoungrana, S., Farougou, S., Chevillon, C., 2016a. Community structure, seasonal variations and interactions between native and invasive cattle tick species in Benin and Burkina Faso. *Parasites & Vectors* 9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1305-z>
- Biguezoton, A., Noel, V., Adehan, S., Adakal, H., Dayo, G.-K., Zoungrana, S., Farougou, S., Chevillon, C., 2016b. *Ehrlichia ruminantium* infects *Rhipicephalus microplus* in West Africa. *Parasites & Vectors* 9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1651-x>
- Bishop, R., Musoke, A., Morzaria, S., Gardner, M., Nene, V., 2004. *Theileria*: intracellular protozoan parasites of wild and domestic ruminants transmitted by ixodid ticks. *Parasitology* 129, S271–S283. <https://doi.org/10.1017/S0031182003004748>
- Bissinger, B.W., Roe, R.M., 2010. Tick repellents: Past, present, and future. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 96, 63–79. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.09.010>
- Bloomquist, J.R., 2003. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 54, 145–156. <https://doi.org/10.1002/arch.10112>
- Bock, R., Jackson, L., Vos, A.D., Jorgensen, W., 2004. Babesiosis of cattle. *Parasitology* 129, S247–S269. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005190>
- Bonnet, S., George, J.C., Boulanger, N., 2015. L’interface tique-hôte et la transmission des pathogènes. *Tiques et Maladies à Tiques*; IRD: Marseille, France 165–191
- Bonnet, S., Huber, K., Joncour, G., René-Martellet, M., Stachurski, F., Zenner, L., 2016. 2. Biologie des tiques, in: *Tiques et Maladies à Tiques - Biologie, Écologie Évolutive, Épidémiologie*, Collection Didactiques. IRD Editions, p. 338 p
- Boulanger, N., Stachurski, F., 2015. Contrôle des populations de tiques et prévention: aspects vétérinaires et humains
- Bouslikhane M. 2015. Cross border movements of animals and animal products and their relevance to the epidemiology of animal diseases in Africa. Paris, France: L’Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE)
- Boussini, H., Lamien, C.E., Nacoulma, O.G., Kabore, A., Poda, G., Viljoen, G.J., 2014. Prevalence of Rift Valley fever in domestic ruminants in the central and northern regions of Burkina Faso: -EN- - FR- Prévalence de la fièvre de la vallée du Rift chez les ruminants domestiques dans les régions

centrale et septentrionale du Burkina Faso -E. Rev. Sci. Tech. OIE 33, 893–901.

<https://doi.org/10.20506/rst.33.3.2327>

Bradway, D.S., de Echaide, S.T., Knowles, D.P., Hennager, S.G., McElwain, T.F., 2001. Sensitivity and Specificity of the Complement Fixation Test for Detection of Cattle Persistently Infected with *Anaplasma marginale*. J VET Diagn Invest 13, 79–81. <https://doi.org/10.1177/104063870101300117>

Brottem, L., Turner, M.D., Butt, B., Singh, A., 2014. Biophysical Variability and Pastoral Rights to Resources: West African Transhumance Revisited. Hum Ecol 42, 351–365.

<https://doi.org/10.1007/s10745-014-9640-1>

Buchan, J., 1996. Characteristics of orf in a farming community in mid-Wales. BMJ 313, 203–204.

<https://doi.org/10.1136/bmj.313.7051.203>

Burger, T.D., Shao, R., Labruna, M.B., Barker, S.C., 2014. Molecular phylogeny of soft ticks (Ixodida: Argasidae) inferred from mitochondrial genome and nuclear rRNA sequences. Ticks Tick-Borne Dis. 5, 195–207. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.10.009>

Büttner, M., Rziha, H.-J., 2002. Parapoxviruses: From the Lesion to the Viral Genome. J. Vet. Med. Ser. B 49, 7–16. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2002.00539.x>

Campbell, W.C., Burg, R.W., Fisher, M.H., Dybas, R.A., 1984. The Discovery of Ivermectin and Other Avermectins, in: Pesticide Synthesis Through Rational Approaches, ACS Symposium Series. American Chemical Society, pp. 5–20. <https://doi.org/10.1021/bk-1984-0255.ch001>

Carvalho, T.S., Silva, M. da, Cabral, J.F., Brasil, R.B., Moura, L. de, Giovannini, C.I., Neves, R.B.S., 2015. Effect of recombinant bovine somatotropin application intervals on Girolando cows' milk production and composition. African Journal of Biotechnology 14, 1114–1121

Carelli, G., Decaro, N., Lorusso, A., Elia, G., Lorusso, E., Mari, V., Ceci, L., Buonavoglia, C., 2007a. Detection and quantification of *Anaplasma marginale* DNA in blood samples of cattle by real-time PCR. Veterinary Microbiology 124, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.03.022>

Castro Janer, E., Klafke, G.M., Fontes, F., Capurro, M.L., Schumaker, T.S.S., 2019. Mutations in *Rhipicephalus microplus* GABA gated chloride channel gene associated with fipronil resistance. Ticks and Tick-borne Diseases 10, 761–765. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.03.009>

Castro Janer, E., Klafke, G.M., Fontes, F., Capurro, M.L., Schumaker, T.S.S., 2019. Mutations in *Rhipicephalus microplus* GABA gated chloride channel gene associated with fipronil resistance. Ticks and Tick-borne Diseases 10, 761–765. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.03.009>

CEDEAO, 2010. Plan d'action pour le développement et la transformation de l'élevage dans l'espace

- Chae, J., Lee, J., Kwon, O., Holman, P.J., Waghela, S.D., Wagner, G.G., 1998. Nucleotide sequence heterogeneity in the small subunit ribosomal RNA gene variable (V4) region among and within geographic isolates of *Theileria* from cattle, elk and white-tailed deer. Note: Nucleotide sequence data reported in this paper have been submitted to the GenBank™ data base with the accession numbers U97047, U97048, U97051, U97052, U97053, U97054, U97055.1. *Veterinary Parasitology* 75, 41–52. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00183-0](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00183-0)
- Chauvin, A., Moreau, E., Bonnet, S., Plantard, O., Malandrin, L., 2009. *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Vet. Res.* 40, 1–18. <https://doi.org/10.1051/vetres/2009020>
- Chen, A.C., He, H., Davey, R.B., 2007. Mutations in a putative octopamine receptor gene in amitraz-resistant cattle ticks. *Veterinary Parasitology* 148, 379–383. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.026>
- Chevillon, C., Huber, K., 2016. 5. Les tiques invasives, in: *Tiques et maladies à tiques: biologie, écologie évolutive & épidémiologie*. IRD Éditions, pp. 141–164
- Colborne, J., 1985. The life cycle of *Rhipicephalus lunulatus* Neumann, 1907 (Acarina: Ixodidae) under laboratory conditions, with notes on its ecology in Zimbabwe. *Experimental & applied acarology* 1, 317–325
- Cook, S., Moureau, G., Harbach, R.E., Mukwaya, L., Goodger, K., Ssenfuka, F., Gould, E., Holmes, E.C., de Lamballerie, X., 2009. Isolation of a novel species of flavivirus and a new strain of *Culex* flavivirus (Flaviviridae) from a natural mosquito population in Uganda. *J. Gen. Virol.* 90, 2669–2678. <https://doi.org/10.1099/vir.0.014183-0>
- Corley, S.W., Jonsson, N.N., Piper, E.K., Cutullé, C., Stear, M.J., Seddon, J.M., 2013. Mutation in the RmβAOR gene is associated with amitraz resistance in the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *PNAS* 110, 16772–16777. <https://doi.org/10.1073/pnas.1309072110>
- Cowdry, E.V., 1925. Studies on the Etiology of Heartwater: II. *Rickettsia Ruminantium* (n. Sp.) in the Tissues of Ticks Transmitting the Disease. *Journal of Experimental Medicine* 42, 253–274. <https://doi.org/10.1084/jem.42.2.253>
- Crawley M.J., 2007. *The R, Book*. England: John Wiley & Sons Ltd
- Criado-Fornelio, A., Martinez-Marcos, A., Buling-Saraña, A., Barba-Carretero, J.C., 2003. Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and Hepatozoon in southern Europe: Part I. Epizootiological aspects. *Veterinary Parasitology* 113, 189–201. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(03\)00078-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(03)00078-5)

- Cuisance, D., Barré, N., De Deken, R., 1994. Ectoparasites des animaux : méthodes de lutte écologique, biologique, génétique et mécanique. Revue scientifique et Technique - Office International des Epizooties. <https://doi.org/10.20506/rst.13.4.823>
- d'Oliveira, C., van der Weide, M., Jacquiet, P., Jongejan, F., 1997. Detection of *Theileria annulata* by the PCR in ticks (Acari: *Ixodidae*) collected from cattle in Mauritania. *Exp Appl Acarol* 21, 279–291. <https://doi.org/10.1023/A:1018455223462>
- da Silva, J.B., da Fonseca, A.H., 2014. Risk factors for anaplasmosis in dairy cows during the peripartum. *Trop. Anim. Health Prod.* 46, 461–465. <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0514-0>
- Dantas-Torres F: The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Vet Parasitol.* 2008, 152: 173-185. 10.1016/j.vetpar.2007.12.030
- Dantas-Torres, F., Chomel, B.B., Otranto, D., 2012. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends in Parasitology* 28, 437–446. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2012.07.003>
- Davidson, W.R., Goff, W.L., Williams, E.S., Barker, I.K., 2001. Anaplasmosis, in: *Infectious Diseases of Wild Mammals*. Iowa State University Press Ames, IA
- DE (Direction de l'Élevage), 2017. Performance du sous secteur élevage : quelques données de 2016. Rapport d'étape. République du Bénin. 5 pp
- De Clercq, E.M., Estrada-Peña, A., Adehan, S., Madder, M., Vanwambeke, S.O., 2013. An update on distribution models for *Rhipicephalus microplus* in West Africa
- De Clercq, E.M., Vanwambeke, S.O., Sungirai, M., Adehan, S., Lokossou, R., Madder, M., 2012. Geographic distribution of the invasive cattle tick *Rhipicephalus microplus*, a country-wide survey in Benin. *Experimental and Applied Acarology* 58, 441–452. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9587-0>
- de la Fuente, J., Kocan, K.M., 2013. Development of vaccines for control of tick infestations and interruption of pathogen transmission. *Biology of ticks* 2, 333–52
- De Meneghi, D., Stachurski, F., Adakal, H., 2016. Experiences in Tick Control by Acaricide in the Traditional Cattle Sector in Zambia and Burkina Faso: Possible Environmental and Public Health Implications. *Front. Public Health* 4. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00239>
- de Sant'Ana, F.J.F., Rabelo, R.E., Vulcani, V.A.S., Cargnelutti, J.F., Flores, E.F., 2012. Bovine papular stomatitis affecting dairy cows and milkers in midwestern Brazil. *J. Vet. Diagn. Invest.* 24, 442–445. <https://doi.org/10.1177/1040638711434799>

- Debeila, E.M., 2013. Occurrence of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in African buffalo (*Syncerus caffer*) in Kruger National Park and Hluhluwe-iMfolozi Park in South Africa (Dissertation). University of Pretoria
- Demessie, Y., Derso, S., 2015. Tick borne hemoparasitic diseases of ruminants: A review. *Advances in Biological Research* 9, 210–224
- Dhooria, M.S., 2016. Morphology and Anatomy of Acari, in: *Fundamentals of Applied Acarology*. Springer, Singapore, pp. 41–61. https://doi.org/10.1007/978-981-10-1594-6_4
- Diarra, A.Z., Almeras, L., Laroche, M., Berenger, J.-M., Koné, A.K., Bocoum, Z., Dabo, A., Doumbo, O., Raoult, D., Parola, P., 2017. Molecular and MALDI-TOF identification of ticks and tick-associated bacteria in Mali. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11, e0005762. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005762>
- Dohm, D.J., Logan, T.M., Linthicum, K.J., Rossi, C.A., Turell, M.J., 1996. Transmission of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus by *Hyalomma impeltatum* (Acari: Ixodidae) after Experimental Infection. *J Med Entomol* 33, 848–851. <https://doi.org/10.1093/jmedent/33.5.848>
- Dreher, U.M., Hofmann-Lehmann, R., Meli, M.L., Regula, G., Cagienard, A.Y., Stärk, K.D.C., Doherr, M.G., Filli, F., Hässig, M., Braun, U., Kocan, K.M., Lutz, H., 2005. Seroprevalence of anaplasmosis among cattle in Switzerland in 1998 and 2003: No evidence of an emerging disease. *Veterinary Microbiology* 107, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.01.001>
- Drosten, C., Götting, S., Schilling, S., Asper, M., Panning, M., Schmitz, H., Günther, S., 2002. Rapid Detection and Quantification of RNA of Ebola and Marburg Viruses, Lassa Virus, Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus, Rift Valley Fever Virus, Dengue Virus, and Yellow Fever Virus by Real-Time Reverse Transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 40, 2323–2330. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.7.2323-2330.2002>
- Du Plessis, J.L., 1970. Pathogenesis of heartwater. I. *Cowdria ruminantium* in the lymph nodes of domestic ruminants
- Ducornez, S., Barré, N., Miller, R.J., Garine-Wichatitsky, M. de, 2005. Diagnosis of amitraz resistance in *Boophilus microplus* in New Caledonia with the modified Larval Packet Test. *Veterinary Parasitology* 130, 285–292. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.018>
- Dumler, J.S., Barbet, A.F., Bekker, C.P., Dasch, G.A., Palmer, G.H., Ray, S.C., Rikihisa, Y., Rurangirwa, F.R., 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and “HGE agent” as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*.

International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 51, 2145–2165.

<https://doi.org/10.1099/00207713-51-6-2145>

Edwards, K. T, J. Goddard, A. S. Varela-Stokes, 2009. Examination of the Internal Morphology of the Ixodid Tick, *Amblyomma maculatum* Koch, (Acari: Ixodidae); a “How-to” Pictorial Dissection Guide. Midsouth Entomologist

Ehounoud, C.B., Yao, K.P., Dahmani, M., Achi, Y.L., Amanzougaghene, N., N’Douba, A.K., N’Guessan, J.D., Raoult, D., Fenollar, F., Mediannikov, O., 2016. Multiple Pathogens Including Potential New Species in Tick Vectors in Côte d’Ivoire. PLoS Negl. Trop. Dis. 10, e0004367.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004367>

Eisen, L., Dolan, M.C., 2016. Evidence for Personal Protective Measures to Reduce Human Contact With Blacklegged Ticks and for Environmentally Based Control Methods to Suppress Host-Seeking Blacklegged Ticks and Reduce Infection with Lyme Disease Spirochetes in Tick Vectors and Rodent Reservoirs. Journal of Medical Entomology 53, 1063–1092. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw103>

Elsify, A., Sivakumar, T., Nayel, M., Salama, A., Elkhtam, A., Rizk, M., Mosaab, O., Sultan, K., Elsayed, S., Igarashi, I., Yokoyama, N., 2015. An epidemiological survey of bovine *Babesia* and *Theileria* parasites in cattle, buffaloes, and sheep in Egypt. Parasitology International 64, 79–85.

<https://doi.org/10.1016/j.parint.2014.10.002>

Estrada-Peña, A., 2008. Climate, niche, ticks, and models: what they are and how we should interpret them. Parasitol Res 103, 87–95. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-1056-7>

Estrada-Peña, A., 2015. Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. Rev. Sci. Tech.

<https://doi.org/10.20506/RST.34.1.2345>

Estrada-Peña, A., Bouattour, A., Camicas, J.-L., Guglielmone, A., Horak, I., Jongejan, F., Latif, A., Pegram, R., Walker, A.R., 2006a. The Known Distribution and Ecological Preferences of the Tick Subgenus *Boophilus* (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. Exp Appl Acarol 38, 219–235.

<https://doi.org/10.1007/s10493-006-0003-5>

Estrada-Peña, A., García, Z., Sánchez, H.F., 2006b. The Distribution and Ecological Preferences of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in Mexico. Exp Appl Acarol 38, 307–316.

<https://doi.org/10.1007/s10493-006-7251-2>

Estrada-peña, A., Venzal, J.M., 2007. Climate Niches of Tick Species in the Mediterranean Region: Modeling of Occurrence Data, Distributional Constraints, and Impact of Climate Change. Journal of Medical Entomology 44, 1130–1138. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2007\)](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2007)44[1130:CNOTSI]2.0.CO;2)

44[1130:CNOTSI]2.0.CO;2

- Fall, G., Paola, N. Di, Faye, M., Dia, M., Freire, C.C. de M., Loucoubar, C., Zanotto, P.M. de A., Faye, O., Sall, A.A., 2017. Biological and phylogenetic characteristics of West African lineages of West Nile virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006078>
- FAO, 2019. Le devenir de l'élevage au Burkina Faso: Opportunités et défis face aux incertitudes. FAO, Rome, Italy
- FAO.,2004. Resistance management and integrated parasite control in ruminants: guidelines. Module 1. Ticks: Acaricide Resistance: Diagnosis, Management and Prevention. FAO, Rome, Italy pp. 25–77
- Farougou S, Kpodekon M, Adakal H, Sagbo R, Boko C (2007a) Seasonal abundance of ticks (Acari: Ixodidae) infesting sheep in the southern area of Benin. *Revue Med Vet* 158:627–632
- Farougou S., Kpodekon M, Tassou AWY., 2007b. Abondance saisonnière des tiques (Acari : Ixodidae) parasites des bovins dans la zone soudanienne du Bénin : cas des départements du Borgou et de l'Alibori. *Rev Afric Santé Prod Anim.*;5:61–7
- Farougou S., Tassou AW, Tchabode DM, Podekon M, Boko C, Youssao AKI., 2007a. Tiques et hémoparasites du bétail dans le nord-Bénin. *Rev. Méd. Vét.* 158(8-9):463-467
- Farougou, 2009. Tiques et hémoparasites du bétail dans le nord-Bénin. *Revue Méd. Vét.*
- Farougou, S., Adakal, H., Biguezoton, A.S., Boko, C., 2012. Prévalence de l'infection d'*Amblyomma variegatum* par *Ehrlichia ruminantium* dans les élevages extensifs du Bénin. *Revue de Médecine Vétérinaire* 163, 261
- Farougou, S., Adakal, H., Boko, C., 2013. Assessment of the prevalence of heartwater in domestic ruminants in Benin. *Rev. Médecine Vét.* 164, 572–576
- Farougou, S., Tassou, A.W., Tchabode, D.M., Kpodekon, M., Boko, C., Youssao, A.K.I., 2007. Tiques et hémoparasites du bétail dans le nord-Bénin. *Rev Méd Vét* 158, 463–467
- Favier, C., Chalvet-Monfray, K., Sabatier, P., Lancelot, R., Fontenille, D., Dubois, M.A., 2006. Rift Valley fever in West Africa: the role of space in endemicity. *Trop. Med. Int. Health* 11, 1878–1888. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2006.01746.x>
- Fielden, L.J., Duncan, F.D., 2013. Structure and function. *Biology of Ticks* vVolume 1 240
- Filippitzi, M.E., Goumperis, T., Robinson, T., Saegerman, C., 2017. Microbiological Zoonotic Emerging Risks, Transmitted Between Livestock Animals and Humans (2007-2015). *Transbound. Emerg. Dis.* 64, 1059–1070. <https://doi.org/10.1111/tbed.12484>

- French, D.M., Brown, W.C., Palmer, G.H., 1999. Emergence of *Anaplasma marginale* Antigenic Variants during Persistent Rickettsemia. *Infect. Immun.* 67, 5834–5840.
<https://doi.org/10.1128/IAI.67.11.5834-5840.1999>
- Fuente, J. de la, Lew, A., Lutz, H., Meli, M.L., Hofmann-Lehmann, R., Shkap, V., Molad, T., Mangold, A.J., Almazán, C., Naranjo, V., Gortázar, C., Torina, A., Caracappa, S., García-Pérez, A.L., Barral, M., Oporto, B., Ceci, L., Carelli, G., Blouin, E.F., Kocan, K.M., 2005. Genetic diversity of *Anaplasma* species major surface proteins and implications for anaplasmosis serodiagnosis and vaccine development. *Animal Health Research Reviews* 6, 75–89.
<https://doi.org/10.1079/AHR2005104>
- Gachohi, J., Skilton, R., Hansen, F., Ngumi, P., Kitala, P., 2012. Epidemiology of East Coast fever (*Theileria parva* infection) in Kenya: past, present and the future. *Parasites Vectors* 5, 194.
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-194>
- George, J.E., Pound, J.M., Davey, R.B., 2004. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitology* 129, S353–S366.
<https://doi.org/10.1017/S0031182003004682>
- Georges, K., Loria, G.R., Riili, S., Greco, A., Caracappa, S., Jongejan, F., Sparagano, O., 2001. Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridisation with a note on the distribution of ticks in Sicily. *Vet. Parasitol.* 99, 273–286. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00488-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00488-5)
- Ginsberg, H.S., 2014. Tick control: trapping, bio-control, host management and other alternative strategies: Chapter 15
- Goff, W.L., Johnson, W.C., Parish, S.M., Barrington, G.M., Tuo, W., Valdez, R.A., 2001. The age-related immunity in cattle to *Babesia bovis* infection involves the rapid induction of interleukin-12, interferon-gamma and inducible nitric oxide synthase mRNA expression in the spleen. *Parasite Immunol.* 23, 463–471
- Goff, W.L., McElwain, T.F., Suarez, C.E., Johnson, W.C., Brown, W.C., Norimine, J., Knowles, D.P., 2003. Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Based on a Rhostry-Associated Protein 1 Epitope Specifically Identifies *Babesia bovis*-Infected Cattle. *Clin Diagn Lab Immunol* 10, 38–43.
<https://doi.org/10.1128/CDLI.10.1.38-43.2003>
- Gray, J.S., Dautel, H., Estrada-Peña, A., Kahl, O., Lindgren, E., 2009. Effects of Climate Change on Ticks and Tick-Borne Diseases in Europe. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases* 2009, e593232. <https://doi.org/10.1155/2009/593232>

- Gray, J.S., Estrada-Peña, A., Zintl, A., 2019. Vectors of Babesiosis. *Annu. Rev. Entomol.* 64, 149–165. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011118-111932>
- Grechko, V.V., 2011. Repeated DNA sequences as an engine of biological diversification. *Mol Biol* 45, 704. <https://doi.org/10.1134/S0026893311050050>
- Grisi, L., Leite, R.C., Martins, J.R. de S., Barros, A.T.M. de, Andreotti, R., Caçado, P.H.D., León, A.A.P. de, Pereira, J.B., Villela, H.S., Grisi, L., Leite, R.C., Martins, J.R. de S., Barros, A.T.M. de, Andreotti, R., Caçado, P.H.D., León, A.A.P. de, Pereira, J.B., Villela, H.S., 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 23, 150–156. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014042>
- Grubhoffer, L., Rudenko, N., Vancova, M., Golovchenko, M., Sterba, J., 2014. Circulatory System And Hemolymph
- Gubbels, J.M., Vos, A.P. de, Weide, M. van der, Viseras, J., Schouls, L.M., Vries, E. de, Jongejan, F., 1999. Simultaneous Detection of Bovine *Theileria* and *Babesia* Species by Reverse Line Blot Hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1782–1789
- Gubbels, M.-J., Katzer, F., Hide, G., Jongejan, F., Shiels, B.R., 2000. Generation of a mosaic pattern of diversity in the major merozoite-piropiasm surface antigen of *Theileria annulata*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 110, 23–32. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(00\)00253-X](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(00)00253-X)
- Guerrero, F.D., Lovis, L., Martins, J.R., 2012. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Veterinária* 21, 1–6. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000100002>
- Haghi, M.M., Etemadifar, F., Fakhari, M., Teshnizi, S.H., Soosaraei, M., Shokri, A., Hajihassani, A., Mashhadi, H., 2017. Status of babesiosis among domestic herbivores in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Parasitol Res* 116, 1101–1109. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5368-8>
- Hanotte, O., Bradley, D.G., Ochieng, J.W., Verjee, Y., Hill, E.W., Rege, J.E.O., 2002. African Pastoralism: Genetic Imprints of Origins and Migrations. *Science* 296, 336–339. <https://doi.org/10.1126/science.1069878>
- Harrison, A., Bown, K.J., Horak, I.G., 2011. Detection of *Anaplasma bovis* In An Undescribed Tick Species Collected from the Eastern Rock Sengi *Elephantulus myurus*. *Journal of Parasitology* 97, 1012–1016. <https://doi.org/10.1645/GE-2800.1>
- He, L., Feng, H.-H., Zhang, W.-J., Zhang, Q.-L., Fang, R., Wang, L.-X., Tu, P., Zhou, Y.-Q., Zhao, J.-L., Oosthuizen, M.C., 2012. Occurrence of *Theileria* and *Babesia* species in water buffalo (*Bubalus*

- babalis*, Linnaeus, 1758) in the Hubei province, South China. *Vet. Parasitol.* 186, 490–496.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.021>
- Hewetson, R.W., 1972a. The Inheritance of Resistance by Cattle to Cattle Tick. *Australian Veterinary Journal* 48, 299–303. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1972.tb05161.x>
- Holmes, P., Richey, M., McInnes, C., Wood, A., Schock, A., Wilson, E., Verney, P., 2011. Zoonotic transmission of bovine papular stomatitis virus. *Veterinary Record* 169, 235–236.
<https://doi.org/10.1136/vr.d5426>
- Homewood, K., Trench, P., Randall, S., Lynen, G., Bishop, B., 2006. Livestock health and socio-economic impacts of a veterinary intervention in Maasailand: Infection-and-treatment vaccine against East Coast fever. *Agricultural Systems* 89, 248–271. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2005.09.004>
- Hoogstraal, H., 1956. African Ixodoidea. Vol. I. Ticks of the Sudan (with special reference to Equatoria Province and with Preliminary Reviews of the Genera *Boophilus*, *Margaropus*, and *Hyalomma*)
- Hoogstraal, H., 1979. Review Article 1: The Epidemiology of Tick-Borne Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in Asia, Europe, and Africa²³. *Journal of Medical Entomology* 15, 307–417.
<https://doi.org/10.1093/jmedent/15.4.307>
- Hope, M., Menzies, M., Kemp, D., 2010. Identification of a Dieldrin Resistance-Associated Mutation in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Journal of Economic Entomology* 103, 1355–1359. <https://doi.org/10.1603/EC09267>
- Horak, I.G., Camicas, J.-L., Keirans, J.E., 2003. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names, in: Jongejans, F., Kaufman, W.R. (Eds.), *Ticks and Tick-Borne Pathogens: Proceedings of the 4th International Conference on Ticks and Tick-Borne Pathogens The Banff Centre Banff, Alberta, Canada 21–26 July 2002*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 27–54. https://doi.org/10.1007/978-94-017-3526-1_2
- Huang, T., Tulman, E.R., Diel, D.G., Khatiwada, S., Sims, W., Edwards, J.F., Wen, X., Kutish, G.F., Rock, D.L., Delhon, G., 2015. Coinfection with multiple strains of bovine papular stomatitis virus. *Arch. Virol.* 160, 1527–1532. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2394-2>
- Hubálek, Z., Rudolf, I., 2012. Tick-borne viruses in Europe. *Parasitol Res* 111, 9–36.
<https://doi.org/10.1007/s00436-012-2910-1>
- Hunfeld, K.-P., Hildebrandt, A., Gray, J.S., 2008. Babesiosis: Recent insights into an ancient disease. *International Journal for Parasitology*, Cover image © Copyright of Frank Balthis

(<http://www.digitalrailroad.net/FrankBalthis>) 38, 1219–1237.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.001>

Ibrahim, H.M., Adjou Moumouni, P.F., Mohammed-Geba, K., Sheir, S.K., Hashem, I.S.Y., Cao, S., Terkawi, M.A., Kamyngkird, K., Nishikawa, Y., Suzuki, H., Xuan, X., 2013. Molecular and serological prevalence of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in cattle and water buffalos under small-scale dairy farming in Beheira and Faiyum Provinces, Egypt. *Veterinary Parasitology* 198, 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.028>

Jain, P., Satapathy, T., Pandey, R.K., 2020. *Rhipicephalus microplus*: A parasite threatening cattle health and consequences of herbal acaricides for upliftment of livelihood of cattle rearing communities in Chhattisgarh. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 26, 101611. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101611>

Janadaree Bandara, K.M.U., Parakrama Karunaratne, S.H.P., 2017. Mechanisms of acaricide resistance in the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Sri Lanka. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 139, 68–72. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.05.002>

Jeckel, S., Bidewell, C., Everest, D., McInnes, C., Wood, A., Dare, J., Schock, A., 2011. Severe oesophagitis in an adult bull caused by bovine papular stomatitis virus. *Vet. Rec.* 169, 317–317. <https://doi.org/10.1136/vr.d5894>

Jongejan, F., 1991. Protective immunity to heartwater (*Cowdria ruminantium* infection) is acquired after vaccination with in vitro-attenuated rickettsiae. *Infect. Immun.* 59, 729–731

Jongejan, F., Uilenberg, G., 2004. The global importance of ticks. *Parasitology* 129, S3–S14. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005967>

Jonsson, N.N., 2006. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Vet. Parasitol.* 137, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.010>

Jonsson, N.N., Hope, M., 2007. Progress in the epidemiology and diagnosis of amitraz resistance in the cattle tick *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol.* 146, 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.03.006>

Kabi, F., Magona, J. w., Nasinyama, G. w., Walubengo, J., 2008. Sero-prevalences of Tick-borne infections among the Nkedi Zebu and Ankole cattle in Soroti district, Uganda. *J. Protozool. Res.* 18, 61–70. https://doi.org/10.32268/jprotozoolres.18.2_61

Kabore, H., Salembere, M.S., Tamboura, H.H., 1998. Seasonal Variation of Ticks on Cattle in Burkina Faso. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 849, 398–401. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb11080.x>

- Kagaruki, L.K., 1991. Tick (Acari: Ixodidae) resistance to organochlorine acaricides in Tanzania. *International Journal of Pest Management* 37, 33–36
- Kande, S., 2014. Évaluation de la résistance des tiques *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) aux acaricides dans les zones d'introduction en Afrique de l'Ouest (Bénin, Burkina Faso et Côte d'Ivoire). Mémoire de fin de cycle. Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, 54p
- Kardjadj, M., Diallo, A., Lancelot, R., 2019. Transboundary animal diseases in Sahelian Africa and connected regions. Springer
- Katiyatiya, C.L.F., Muchenje, V., Mushunje, A., 2014. Farmers' Perceptions and Knowledge of Cattle Adaptation to Heat Stress and Tick Resistance in the Eastern Cape, South Africa. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 27, 1663–1670. <https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14174>
- Katzer, F., McKellar, S., Kirvar, E., Shiels, B., 1998. Phylogenetic analysis of *Theileria* and *Babesia equi* in relation to the establishment of parasite populations within novel host species and the development of diagnostic tests. *Molecular and Biochemical Parasitology* 95, 33–44. [https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(98\)00085-1](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(98)00085-1)
- Kehrli, M., Nonnecke, B., Roth, J., 1989. Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period. *American Journal of Veterinary Research* 50, 215–220
- Kelly, P., Lucas, H., Beati, L., Yowell, C., Mahan, S., Dame, J., 2010. *Rickettsia africae* in *Amblyomma variegatum* and Domestic Ruminants on Eight Caribbean Islands. *Journal of Parasitology* 96, 1086–1088. <https://doi.org/10.1645/GE-2552.1>
- Kelly, P.J., Beati, L., Mason, P.R., Matthewman, L.A., Roux, V., Raoult, D. 1996. *Rickettsia africae* sp. nov., the Etiological Agent of African Tick Bite Fever. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 46, 611–614. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-2-611>
- Kivaria, F.M., 2006. Estimated direct economic costs associated with tick-borne diseases on cattle in Tanzania. *Trop Anim Health Prod* 38, 291–299. <https://doi.org/10.1007/s11250-006-4181-2>
- Klafke, G., Webster, A., Dall Agnol, B., Pradel, E., Silva, J., de La Canal, L.H., Becker, M., Osório, M.F., Mansson, M., Barreto, R., Scheffer, R., Souza, U.A., Corassini, V.B., dos Santos, J., Reck, J., Martins, J.R., 2017. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. *Ticks Tick-Borne Dis.* 8, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.09.019>
- Klompen, J.S.H., Oliver, J.H., Keirans, J.E., Homsher, P.J., 1997. A re-evaluation of relationships in the Metastratiata (Acari: Parasitiformes: Ixodidae). *Syst Parasitol* 38, 1–24. <https://doi.org/10.1023/A:1005815925466>

Kocan, K.M., Blouin, E.F., Barbet, A.F., 2000. Anaplasmosis control: past, present, and future. *Annals of the New York Academy of Sciences* 916, 501–509

Kocan, K.M., de la Fuente, J., 2003. Co-feeding studies of ticks infected with *Anaplasma marginale*. *Veterinary Parasitology* 112, 295–305. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(03\)00018-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(03)00018-9)

Kocan, K.M., de la Fuente, J., Blouin, E.F., Coetzee, J.F., Ewing, S.A., 2010. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet. Parasitol., Ticks and Tick-borne Pathogens* 167, 95–107. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.012>

Kocan, K.M., Fuente, J. de la, Guglielmone, A.A., Meléndez, R.D., 2003. Antigens and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 698–712. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.4.698-712.2003>

Kocan, K.M., Fuente, J.D.L., Blouin, E.F., Garcia-Garcia, J.C., 2004. *Anaplasma marginale* span (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host–pathogen adaptations of a tick-borne rickettsia. *Parasitology* 129, S285–S300. <https://doi.org/10.1017/S0031182003004700>

Kocan, K.M., Stiller, D., Goff, W.L., Claypool, P.L., Edwards, W., Ewing, S.A., McGuire, T.C., Hair, J.A., Barron, S.J., 1992. Development of *Anaplasma marginale* in male *Dermacentor andersoni* transferred from parasitemic to susceptible cattle. *Am J Vet Res* 53, 499–507.

Kouassi P., Y., Zoungrana S., . Hema M., D., Diallo M., K., Biguezoton A., Traore A., Toure A., 2016. Distribution Des Tiques Du Bétail dans cinq régions du Burkina Faso et évaluation de la connaissance de ces ectoparasites par les éleveurs : Nécessité de campagnes de sensibilisation. *Science et Technique*

Krasnov, B.R., Mouillot, D., Shenbrot, G.I., Khokhlova, I.S., Poulin, R., 2005. Abundance patterns and coexistence processes in communities of fleas parasitic on small mammals. *Ecography* 28, 453–464. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2005.04182.x>

Kulesh, D.A., Baker, R.O., Loveless, B.M., Norwood, D., Zwiers, S.H., Mucker, E., Hartmann, C., Herrera, R., Miller, D., Christensen, D., Wasieloski, L.P., Huggins, J., Jahrling, P.B., 2004. Smallpox and pan-Orthopox Virus Detection by Real-Time 3'-Minor Groove Binder TaqMan Assays on the Roche Light Cycler and the Cepheid Smart Cycler Platforms. *J. Clin. Microbiol.* 42, 601–609. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.2.601-609.2004>

Kuttler, K.L., 1984. *Anaplasma* infections in wild and domestic ruminants: A review. *Journal of Wildlife Diseases* 20, 12–20. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-20.1.12>

Laguardia-Nascimento, M., Sales, É.B., Gasparini, M.R., de Souza, N.M., da Silva, J.A.G., Souza, G.G., Carani, F.R., dos Santos, A.F., Rivetti Júnior, A.V., Camargos, M.F., Fonseca Júnior, A.A.,

2016. Detection of multiple viral infections in cattle and buffalo with suspected vesicular disease in Brazil. *J. Vet. Diagn. Invest.* 28, 377–381. <https://doi.org/10.1177/1040638716645836>
- Lambert, A.J., Lanciotti, R.S., 2009. Consensus Amplification and Novel Multiplex Sequencing Method for S Segment Species Identification of 47 Viruses of the Orthobunyavirus, Phlebovirus, and Nairovirus Genera of the Family Bunyaviridae. *J. Clin. Microbiol.* 47, 2398–2404. <https://doi.org/10.1128/JCM.00182-09>
- Laure Bournez, 2014. Facteurs explicatifs de la répartition spatiale en Afrique australe de deux espèces de tiques parapatriques, vectrices de la cowdriose, *Amblyomma variegatum* et *A. hebraeum*, et rôle de la compétition (Thèse). Université des Antilles et de la Guyane
- Lecointre, G., Guyader, H.L., 2006. *The Tree of Life: A Phylogenetic Classification*. Harvard University Press
- Lederman, E.R., Tao, M., Reynolds, M.G., Li, Y., Zhao, H., Smith, S.K., Sitler, L., Haberling, D.L., Davidson, W., Hutson, C., Emerson, G., Schnurr, D., Regnery, R., Zhu, B.-P., Pue, H., Damon, I.K., 2013. An Investigation of a Cluster of Parapoxvirus Cases in Missouri, Feb–May 2006: Epidemiologic, Clinical and Molecular Aspects. *Animals* 3, 142–157. <https://doi.org/10.3390/ani3010142>
- Lefevre, P.C., Blancou, J., Chermette, R., Uilenberg, G., 2010. *Infectious and Parasitic Diseases of Livestock*. CABI
- Legendre, P., Gauthier, O., 2014. Statistical methods for temporal and space–time analysis of community composition data. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281, 20132728. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2728>
- Lempereur, L. (2012). *Epidemiology of Babesiosis: their tick vectors and vertebrate hosts with emphasis on potentially zoonotic species*. Doctoral thesis, Université de Liège, Belgique
- Lempereur, L., Beck, R., Fonseca, I., Marques, C., Duarte, A., Santos, M., Zúquete, S., Gomes, J., Walder, G., Domingos, A., Antunes, S., Baneth, G., Silaghi, C., Holman, P., Zintl, A., 2017. Guidelines for the Detection of *Babesia* and *Theileria* Parasites. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 17, 51–65. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1955>
- Lesse, P., Houinato, M.R.B., Djenontin, J., Dossa, H., Yabi, B., Toko, I., Tente, B., Sinsin, B., 2015. Transhumance en République du Bénin : états des lieux et contraintes. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9, 2668–2681. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i5.37>

- Li, A.Y., Davey, R.B., Miller, R.J., George, J.E., 2004. Detection and Characterization of Amitraz Resistance in the Southern Cattle Tick, *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 41, 193–200. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.2.193>
- Lloyd, C.M., Walker, A.R., 1993. The systemic effect of adult and immature *Amblyomma variegatum* ticks on the pathogenesis of dermatophilosis. *Rev. D'élevage Médecine Vét. Pays Trop.* 46, 313–316. <https://doi.org/10.19182/remvt.9385>
- Logan, T.M., Linthicum, K.J., Kondig, J.P., Bailey, C.L., 1989. Biology of *Hyalomma impeltatum* (Acari: Ixodidae) Under Laboratory Conditions. *Journal of Medical Entomology* 26, 479–483. <https://doi.org/10.1093/jmedent/26.5.479>
- Lorusso, V., Gruszka, K.A., Majekodunmi, A., Igweh, A., Welburn, S.C., Picozzi, K., 2013. *Rickettsia africae* in *Amblyomma variegatum* Ticks, Uganda and Nigeria. *Emerg. Infect. Dis.* 19, 1705–1707. <https://doi.org/10.3201/eid1910.130389>
- Lorusso, V., Wijnveld, M., Majekodunmi, A.O., Dongkum, C., Fajinmi, A., Dogo, A.G., Thrusfield, M., Mugenyi, A., Vaumourin, E., Igweh, A.C., Jongejan, F., Welburn, S.C., Picozzi, K., 2016. Tick-borne pathogens of zoonotic and veterinary importance in Nigerian cattle. *Parasites & Vectors* 9, 217. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1504-7>
- Lovis, L., Guerrero, F.D., Miller, R.J., Bodine, D.M., Betschart, B., Sager, H., 2012. Distribution patterns of three sodium channel mutations associated with pyrethroid resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* populations from North and South America, South Africa and Australia. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist., Including Articles from Keystone Symposium on “Drug Discovery for Protozoan Parasites”*; pp. 230–270 2, 216–224. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2012.08.001>
- Lovis, L., Mendes, M.C., Perret, J.-L., Martins, J.R., Bouvier, J., Betschart, B., Sager, H., 2013. Use of the Larval Tarsal Test to determine acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Brazilian field populations. *Veterinary Parasitology* 191, 323–331. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.011>
- Lubinga, J.C., Tuppurainen, E.S.M., Coetzer, J.A.W., Stoltsz, W.H., Venter, E.H., 2014. Transovarial passage and transmission of LSDV by *Amblyomma hebraeum*, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Rhipicephalus decoloratus*. *Exp. Appl. Acarol.* 62, 67–75. <https://doi.org/10.1007/s10493-013-9722-6>
- Luguru, S.M., Chizyuka, H.G.B., Musisi, F.L., 1987. A survey for resistance to acaricides in cattle ticks (Acari: Ixodidae) in three major traditional cattle areas in Zambia. *Bulletin of entomological Research* 77, 569–574

- Lutermann, H., Fagir, D.M., Bennett, N.C., 2015. Complex interactions within the ectoparasite community of the eastern rock sengi (*Elephantulus myurus*). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, Including Articles from 'International Congress on Parasites of Wildlife'*, pp. 49 - 158 4, 148–158. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.02.001>
- Madder, M., Adehan, S., Deken, R. De, Adehan, R., Lokossou, R., 2012. New foci of *Rhipicephalus microplus* in West Africa. *Exp. Appl. Acarol.* 56, 385–390. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9522-4>
- Madder, M., Thys, E., Achi, L., Touré, A., De Deken, R., 2011. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: a most successful invasive tick species in West-Africa. *Exp. Appl. Acarol.* 53, 139–145. <https://doi.org/10.1007/s10493-010-9390-8>
- Madruga, C.R., Kessler, R.H., Schenk, M.A.M., Miguita, M., 2000. A agglutination test for rapid detection of antibodies against *Babesia bigemina*. *Pesq. Vet. Bras.* 20, 161–166. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2000000400006>
- Maharana, B.R., Tewari, A.K., Saravanan, B.C., Sudhakar, N.R., 2016. Important hemoprotozoan diseases of livestock: Challenges in current diagnostics and therapeutics: An update. *Vet World* 9, 487–495. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.487-495>
- Mans, B.J., Pienaar, R., Latif, A.A., 2015. A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, Including Articles from 'International Congress on Parasites of Wildlife'*, pp. 49 - 158 4, 104–118. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.12.006>
- Martins Joao, R., Corrêa, B.L., Ceresér, V.H., Arteché C, C.P., 1995. A situation report on resistance to acaricides by the cattle tick *Boophilus microplus* in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Publicacion Especial*
- Mathison, B.A., Gerth, W.J., Pritt, B.S., Baugh, S., 2015. Introduction of the exotic tick *Hyalomma truncatum* on a human with travel to Ethiopia: A case report. *Ticks and Tick-borne Diseases* 6, 152–154. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.11.005>
- Maya-Delgado, A., Madder, M., Benítez-Ortíz, W., Saegerman, C., Berkvens, D., Ron-Garrido, L., 2020. Molecular screening of cattle ticks, tick-borne pathogens and amitraz resistance in ticks of Santo Domingo de los Tsáchilas province in Ecuador. *Ticks Tick-Borne Dis.* 11, 101492. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101492>

- Mccooy, K.D., Chevillon, C., 2016. 4. Structuration des populations et adaptation des tiques : implications en épidémiologie, in: Tiques et maladies à tiques: biologie, écologie évolutive & épidémiologie. IRD Éditions, pp. 113–140
- Mediannikov, O., Diatta, G., Fenollar, F., Sokhna, C., Trape, J.-F., Raoult, D., 2010a. Tick-Borne Rickettsioses, Neglected Emerging Diseases in Rural Senegal. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 4, e821. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000821>
- Mediannikov, O., Trape, J.-F., Diatta, G., Parola, P., Fournier, P.-E., Raoult, D., 2010b. *Rickettsia africae*, Western Africa. *Emerg Infect Dis* 16, 571–573. <https://doi.org/10.3201/eid1603.090346>
- Mehlhorn, H., 2016. Ectoparasites (Arthropods: Acari, Insecta, Crustacea), in: Mehlhorn, H. (Ed.), *Animal Parasites: Diagnosis, Treatment, Prevention*. Springer International Publishing, Cham, pp. 499–662. https://doi.org/10.1007/978-3-319-46403-9_6
- Mehlhorn, H., Schein, E., 1985. The Piroplasms: Life Cycle and Sexual Stages Supported by DFG., in: Baker, J.R., Muller, R. (Eds.), *Advances in Parasitology*. Academic Press, pp. 37–103. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60285-7](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60285-7)
- Meliani, P., Khatibi, S., Randazzo, S., Gorenflot, A., Marchou, B., 2006. Babésioses humaines. *Médecine et Maladies Infectieuses* 36, 499–504. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2006.07.002>
- Mendes, M.C., Lima, C.K.P., Nogueira, A.H.C., Yoshihara, E., Chiebao, D.P., Gabriel, F.H.L., Ueno, T.E.H., Namindome, A., Klafke, G.M., 2011. Resistance to cypermethrin, deltamethrin and chlorpyrifos in populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from small farms of the State of São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.* 178, 383–388. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.01.006>
- Miller, R.J., Davey, R.B., George, J.E., 2002. Modification of the Food and Agriculture Organization Larval Packet Test to Measure Amitraz-Susceptibility Against Ixodidae. *J. Med. Entomol.* 39, 645–651. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.645>
- Minjauw, B., McLeod, A., 2003. Tick-borne diseases and poverty: the impact of ticks and tick-borne diseases on the livelihoods of small-scale and marginal livestock owners in India and eastern and southern Africa. Tick-borne diseases and poverty: the impact of ticks and tick-borne diseases on the livelihoods of small-scale and marginal livestock owners in India and eastern and southern Africa
- Mohamed, G., Ebied, M.H., 2014. Epidemiological studies on bovine Babesiosis and Theileriosis in Qalubia governorate. *Benha Veterinary Medical Journal* 27, 36–48
- Molad, T., Mazuz, M.L., Fleiderovitz, L., Fish, L., Savitsky, I., Krigel, Y., Leibovitz, B., Molloy, J., Jongejan, F., Shkap, V., 2006. Molecular and serological detection of *A. centrale*- and *A. marginale*-

infected cattle grazing within an endemic area. *Veterinary Microbiology* 113, 55–62.

<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.10.026>

Molia, S., Frebling, M., Vachiéry, N., Pinarello, V., Petitclerc, M., Rousteau, A., Martinez, D., Lefrançois, T., 2008. *Amblyomma variegatum* in cattle in Marie Galante, French Antilles: Prevalence, control measures, and infection by *Ehrlichia ruminantium*. *Veterinary Parasitology* 153, 338–346.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.046>

Mothes, U., Seitz, K.A., 1981. Functional microscopic anatomy of the digestive system of *Tetranychus urticae* (Acari, Tetranychidae). *Acarologia* 22, 257–270

Moutailler, S., George, J.C., Hansmann, Y., Degeilh, B., Joncour, G., Jourdain, E., Malandrin, L., Umhang, G., Vayssier-Taussat, M., Vial, L., Bonnet, S., Boulanger, N., 2015. Principales maladies transmises par les tiques : epidemiologie, clinique et diagnostic, in: *Tiques et Maladies à Tiques : Biologie, Ecologie Evolutive, Epidemiologie* / Karen D. McCoy (Ed.), Nathalie Boulanger (Ed.). IRD, Marseille, pp. 193–238

Muhanguzi, D., Byaruhanga, J., Amanyire, W., Ndekezi, C., Ochwo, S., Nkamwesiga, J., Mwiine, F.N., Tweyongyere, R., Fourie, J., Madder, M., Schetters, T., Horak, I., Juleff, N., Jongejan, F., 2020. Invasive cattle ticks in East Africa: morphological and molecular confirmation of the presence of *Rhipicephalus microplus* in southeastern Uganda. *Parasit. Vectors* 13, 165.

<https://doi.org/10.1186/s13071-020-04043-z>

Muhanguzi, D., Picozzi, K., Hatendorf, J., Thrusfield, M., Welburn, S.C., Kabasa, J.D., Waiswa, C., 2014. Prevalence and spatial distribution of *Theileria parva* in cattle under crop-livestock farming systems in Tororo District, Eastern Uganda. *Parasites Vectors* 7, 91. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-91>

Murrell, A., Barker, S.C., 2003. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Syst Parasitol* 56, 169–172.

<https://doi.org/10.1023/B:SYPA.0000003802.36517.a0>

Murrell, A., Campbell, N.J.H., Barker, S.C., 2000. Phylogenetic Analyses of the Rhipicephaline Ticks Indicate That the Genus *Rhipicephalus* Is Paraphyletic. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16, 1–7. <https://doi.org/10.1006/mpev.2000.0762>

Murrell, A., Campbell, N.J.H., Barker, S.C., 2001. Recurrent gains and losses of large (84–109 bp) repeats in the rDNA internal transcribed spacer 2 (ITS2) of Rhipicephaline ticks. *Insect Molecular Biology* 10, 587–596. <https://doi.org/10.1046/j.0962-1075.2001.00298.x>

- Murrell, Anna, Campbell, N.J.H., Barker, S.C., 2001. A Total-Evidence Phylogeny of Ticks Provides Insights into the Evolution of Life Cycles and Biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 21, 244–258. <https://doi.org/10.1006/mpev.2001.1018>
- Nabeth, P., Thior, M., Faye, O., Simon, F., 2004. Human Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Sénégal. *Emerg Infect Dis* 10, 1881–1882. <https://doi.org/10.3201/eid1010.040586>
- Nagar, G., Sharma, A.K., Kumar, Sachin, Saravanan, B.C., Kumar, R., Gupta, S., Kumar, Satyanshu, Ghosh, S., 2018. Molecular mechanism of synthetic pyrethroid and organophosphate resistance in field isolates of *Rhipicephalus microplus* tick collected from a northern state of India. *Exp Appl Acarol* 75, 319–331. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0265-8>
- Nicholson, W.L., Allen, K.E., McQuiston, J.H., Breitschwerdt, E.B., Little, S.E., 2010. The increasing recognition of rickettsial pathogens in dogs and people. *Trends Parasitol.* 26, 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.01.007>
- Nijhof, A.M., Penzhorn, B.L., Lynen, G., Mollé, J.O., Morkel, P., Bekker, C.P.J., Jongejan, F., 2003. *Babesia bicornis* sp. nov. and *Theileria bicornis* sp. nov.: Tick-Borne Parasites Associated with Mortality in the Black Rhinoceros (*Diceros bicornis*). *Journal of Clinical Microbiology* 41, 2249–2254. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.5.2249-2254.2003>
- Nijhof, A.M., Pillay, V., Steyl, J., Prozesky, L., Stoltsz, W.H., Lawrence, J.A., Penzhorn, B.L., Jongejan, F., 2005. Molecular Characterization of *Theileria* Species Associated with Mortality in Four Species of African Antelopes. *Journal of Clinical Microbiology* 43, 5907–5911. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.12.5907-5911.2005>
- Nitsche, A., Büttner, M., Wilhelm, S., Pauli, G., Meyer, H., 2006. Real-Time PCR Detection of Parapoxvirus DNA. *Clin. Chem.* 52, 316–319. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.060335>
- Noaman, V., Shayan, P., Amininia, N., 2009. Molecular Diagnostic of *Anaplasma marginale* in Carrier Cattle. *Iranian Journal of Parasitology* 4, 26–33
- Nogueira Domingues, L., dos Santos Alves Figueiredo Brasil, B., Passos de Paiva Bello, A.C., Pinto da Cunha, A., Thadeu Medeiros de Barros, A., Cerqueira Leite, R., Silaghi, C., Pfister, K., Friche Passos, L.M., 2012. Survey of pyrethroid and organophosphate resistance in Brazilian field populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Detection of C190A mutation in domain II of the para-type sodium channel gene. *Vet. Parasitol.* 189, 327–332. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.04.031>
- Norval, R. a. I., 1992. Host susceptibility to infestation with *Amblyomma hebraeum*. *International Journal of Tropical Insect Science* 13, 489–494. <https://doi.org/10.1017/S1742758400016064>

- [Nugteren and Le Côme, 2016](#). Libérer le potentiel du pastoralisme pour développer l’Afrique de l’Ouest. Fred Zaal , Thea Hilhorst et Jacqueline Sluijs
- Nyangiwe, N., Harrison, A., Horak, I.G., 2013. Displacement of *Rhipicephalus decoloratus* by *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in the Eastern Cape Province, South Africa. *Exp Appl Acarol* 61, 371–382. <https://doi.org/10.1007/s10493-013-9705-7>
- Ogo, N.I., de Mera, I.G.F., Galindo, R.C., Okubanjo, O.O., Inuwa, H.M., Agbede, R.I.S., Torina, A., Alongi, A., Vicente, J., Gortázar, C., de la Fuente, J., 2012. Molecular identification of tick-borne pathogens in Nigerian ticks. *Vet. Parasitol.* 187, 572–577. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.01.029>
- Oğuzoğlu, T.Ç., Koç, B.T., Kirdeci, A., Tan, M.T., 2014. Evidence of zoonotic pseudocowpox virus infection from a cattle in Turkey. *VirusDis.* 25, 381–384. <https://doi.org/10.1007/s13337-014-0214-z>
- Ohta, M., Inoue, H., Cotticelli, M.G., Kastury, K., Baffa, R., Palazzo, J., Siprashvili, Z., Mori, M., McCue, P., Druck, T., Croce, C.M., Huebner, K., 1996. The FHIT Gene, Spanning the Chromosome 3p14.2 Fragile Site and Renal Carcinoma–Associated t (3;8) Breakpoint, Is Abnormal in Digestive Tract Cancers. *Cell* 84, 587–597. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81034-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81034-X)
- Ouedraogo, A.S., Zannou, O.M., Biguezoton, A.S., Yao, K.P., Belem, A., Farougou, S., Oosthuizen, M., Saegerman, C., Lempereur, L., 2021. Cattle ticks and associated tick-borne pathogens in Burkina Faso and Benin: apparent northern spread of *Rhipicephalus microplus* in Benin and first evidence of *Theileria velifera* and *Theileria annulata*. *Ticks and Tick-borne Diseases* 101733. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101733>
- Pages, F., Dautel, H., Duvallet, G., Kahl, O., de Gentile, L., Boulanger, N., 2014. Tick Repellents for Human Use: Prevention of Tick Bites and Tick-Borne Diseases. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 14, 85–93. <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1410>
- Palmer, G.H., Waghela, S.D., Barbet, A.F., Davis, W.C., McGuire, T.C., 1987. Characterization of a neutralization-sensitive epitope on the Am 105 surface protein of *Anaplasma marginale*. *International Journal for Parasitology* 17, 1279–1285. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(87\)90093-2](https://doi.org/10.1016/0020-7519(87)90093-2)
- Parola, P., Inokuma, H., Camicas, J.-L., Brouqui, P., Raoult, D., 2001. Detection and Identification of Spotted Fever Group Rickettsiae and Ehrlichiae in African Ticks - Volume 7, Number 6—December 2001 - *Emerging Infectious Diseases journal* - CDC. <https://doi.org/10.3201/eid0706.010616>
- Parola, P., Raoult, D., 2001. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. *Clinical Infectious Diseases* 32, 897–928. <https://doi.org/10.1086/319347>

- Paul, O., 2016 : Rapport préliminaire sur la finalisation de la stratégie régionale pour la promotion du pastoralisme au sahel et en Afrique de l'ouest : État des lieux de l'élevage et du pastoralisme au Bénin, 64p
- Pegram, R.G., Banda, D.S., 1990. Ecology and phenology of cattle ticks in Zambia: Development and survival of free-living stages. *Exp. Appl. Acarol.* 8, 291–301. <https://doi.org/10.1007/BF01202139>
- Perez-Cogollo, L.C., Rodriguez-Vivas, R.I., Ramirez-Cruz, G.T., Miller, R.J., 2010. First report of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* resistant to ivermectin in Mexico. *Veterinary Parasitology* 168, 165–169. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.10.021>
- Pérez-González, I.E., Prado-Ochoa, M.G., Muñoz-Guzmán, M.A., Vázquez-Valadez, V.H., Velázquez-Sánchez, A.M., Avila-Suárez, B.L., Cuenca-Verde, C., Angeles, E., Alba-Hurtado, F., 2014. Effect of new ethyl and methyl carbamates on *Rhipicephalus microplus* larvae and adult ticks resistant to conventional ixodicides. *Veterinary Parasitology* 199, 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.07.042>
- Petney, T.N., Kolonin, G.V., Robbins, R.G., 2007. Southeast Asian ticks (Acari: Ixodida): a historical perspective. *Parasitol Res* 101, 201. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0687-4>
- Pienaar, J.G., 1970. Electron microscopy of *Cowdria (Rickettsia) ruminantium* (Cowdry, 1926) in the endothelial cells of the vertebrate host
- Piesman, J., Eisen, L., 2008. Prevention of Tick-Borne Diseases. *Annu. Rev. Entomol.* 53, 323–343. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.53.103106.093429>
- Plowright, W., 1956. Cutaneous streptothricosis of Cattle. I. Introduction and epizootiological features in Nigeria. *Vet. Rec.* 68
- Pohl, P.C., Klafke, G.M., Júnior, J.R., Martins, J.R., da Silva Vaz, I., Masuda, A., 2012. ABC transporters as a multidrug detoxification mechanism in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Parasitol Res* 111, 2345–2351. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3089-1>
- Poncet, Y., 1999. Le temps de sahel, Paris IRD, 203 pp
- Potgieter, F.T., Stoltz, W.H., 2004. Bovine anaplasmosis. *Infectious diseases of livestock*, Volume One 594–616
- Poxviridae, 2017. , in: Fenner's Veterinary Virology. Elsevier, pp. 157–174
- Presley, S.J., 2011. Interspecific aggregation of ectoparasites on bats: importance of hosts as habitats supersedes interspecific interactions. *Oikos* 120, 832–841. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.19199.x>

- Prozesky, L., Plessis JL, J., 1985. The pathology of heartwater. II. A study of the lung lesions in sheep and goats infected with the Ball3 strain of *Cowdria ruminantium*. Onderstepoort J Vet Res 52, 81–85.
- Purnell, R.E., Gunter, T.D., Schroder, J., 1989. Development of a prophylactic regime using long-acting tetracycline for the control of redwater and heartwater in susceptible cattle moved into an endemic area. Trop Anim Health Prod 21, 11–19. <https://doi.org/10.1007/BF02297335>
- Qayyum, M., Farooq, U., Samad, H.A., Chauhdry, H.R., 2010. Prevalence, clinicotherapeutic and prophylactic studies on theileriosis in district Sahiwal (Pakistan). J Anim Plant Sci 20, 266–270
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D., 2006. Veterinary Medicine E-Book: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Elsevier Health Sciences
- Rahikainen, A.-L., Palo, J.U., de Leeuw, W., Budowle, B., Sajantila, A., 2016. DNA quality and quantity from up to 16 years old post-mortem blood stored on FTA cards. Forensic Science International 261, 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.02.014>
- Rajput, Z.I., Hu, S., Arijo, A.G., Habib, M., Khalid, M., 2005. Comparative study of *Anaplasma* parasites in tick carrying buffaloes and cattle. J. Zhejiang Univ. Sci. B 6, 1057–1062. <https://doi.org/10.1631/jzus.2005.B1057>
- Randolph, S.E., 1998. Ticks are not Insects: Consequences of Contrasting Vector Biology for Transmission Potential. Parasitol. Today 14, 186–192. [https://doi.org/10.1016/S0169-4758\(98\)01224-1](https://doi.org/10.1016/S0169-4758(98)01224-1)
- Raoult, D., Parola, P., 2007. Rickettsial Diseases. CRC Press
- Rar, V., Golovljova, I., 2011. *Anaplasma*, *Ehrlichia*, and “*Candidatus neoehrlichia*” bacteria: Pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. Infection, Genetics and Evolution 11, 1842–1861. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.09.019>
- Rawlins, S.C., Mansingh, A., 1978. Patterns of resistance to various acaricides in some Jamaican populations of *Boophilus microplus*. Journal of Economic Entomology 71, 956–960
- Reason, G.K., 1983. Dairy cows with tick resistance: twenty years of the Australian Friesian Sahiwal. Queensland agricultural journal
- Rechav, Y., 1992. Naturally acquired resistance to ticks — A global view. International Journal of Tropical Insect Science 13, 495–504. <https://doi.org/10.1017/S1742758400016076>
- Regassa, A., de Castro, J.J., 1993. Tick resistance to acaricides in western Ethiopia. Tropical Animal Health and Production 25, 69–74

- Reye, A.L., Arinola, O.G., Hübschen, J.M., Muller, C.P., 2012. Pathogen Prevalence in Ticks Collected from the Vegetation and Livestock in Nigeria. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 2562–2568. <https://doi.org/10.1128/AEM.06686-11>
- Rheinbaben, F. v., Gebel, J., Exner, M., Schmidt, A., 2007. Environmental resistance, disinfection, and sterilization of poxviruses, in: Mercer, A.A., Schmidt, A., Weber, O. (Eds.), *Poxviruses*. Birkhäuser Basel, Basel, pp. 397–405
- Rhemrev-Boom, M.M., Yates, M., Rudolph, M., Raedts, M., 2001. (Immuno) affinity chromatography: a versatile tool for fast and selective purification, concentration, isolation and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 24, 825–833. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(00\)00549-5](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(00)00549-5)
- Richey, E.J., 1981. Management of anaplasmosis in beef cattle. *The Bovine Practitioner* 134–136.
- Ristic, M., 2018. *Babesiosis of Domestic Animals and Man*. CRC Press
- Ritz, C., Baty, F., Streibig, J.C., Gerhard, D., 2015. Dose-Response Analysis Using R. *PLOS ONE* 10, e0146021. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146021>
- Rocchi, M.S.L., Ballingall, K.T., MacHugh, N.D., McKeever, D.J., 2006. The kinetics of *Theileria parva* infection and lymphocyte transformation in vitro. *International Journal for Parasitology* 36, 771–778. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2006.02.017>
- Rodríguez -Vivas, R.I., Grisi, L., Pérez de León, A.A., Silva Villela, H., Torres-Acosta, J.F. de J., Fragoso Sánchez, H., Romero Salas, D., Rosario Cruz, R., Saldierna, F., García Carrasco, D., 2017. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. *Review. Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 8
- Rodriguez-Vivas, R.I., Jonsson, N.N., Bhushan, C., 2018. Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitol. Res.* 117, 3–29
- Rodriguez-Vivas, R.I., Li, A.Y., Ojeda-Chi, M.M., Trinidad-Martinez, I., Rosado-Aguilar, J.A., Miller, R.J., Pérez de León, A.A., 2013. In vitro and in vivo evaluation of cypermethrin, amitraz, and piperonyl butoxide mixtures for the control of resistant *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology* 197, 288–296. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.07.018>
- Rodríguez-Vivas, R.I., Rosado-Aguilar, J.A., Ojeda-Chi, M.M., Pérez-Cogollo, L.C., Trinidad-Martínez, I., Bolio-González, M.E., 2014. Control integrado de garrapatas en la ganadería bovina. *Ecosistemas Recur. Agropecu.* 1, 295–308

- Romoser, W.S., 2004. Introduction to Arthropods: Systematics, Behavior and Ecology, in: Medical Entomology. Springer, Dordrecht, pp. 53–97. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1009-2_3
- Rosario-Cruz, R., Almazan, C., Miller, R.J., Dominguez-Garcia, D.I., Hernandez-Ortiz, R., de la Fuente, J., 2009. Genetic basis and impact of tick acaricide resistance
- Roy, B.C., Estrada-Peña, A., Krücken, J., Rehman, A., Nijhof, A.M., 2018. Morphological and phylogenetic analyses of *Rhipicephalus microplus* ticks from Bangladesh, Pakistan and Myanmar. Ticks Tick-Borne Dis. 9, 1069–1079. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.03.035>
- Rymaszewska, A., Grenda, S., 2008. Bacteria of the genus *Anaplasma*—characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. Vet Med 53, 573–584
- Salih, D.A., El Hussein, A.M., Singla, L.D., 2015. Diagnostic approaches for tick-borne haemoparasitic diseases in livestock. J. Vet. Med. Anim. Health 7, 45–56
- Santoze, A., Gicheha, M., 2019. The status of cattle genetic resources in west africa: a review. Adv Anim Vet Sci 7, 112–21
- Schnittger, L., Yin, H., Qi, B., Gubbels, M.J., Beyer, D., Niemann, S., Jongejan, F., Ahmed, J.S., 2004. Simultaneous detection and differentiation of *Theileria* and *Babesia* parasites infecting small ruminants by reverse line blotting. Parasitol. Res. 92, 189–196. <https://doi.org/10.1007/s00436-003-0980-9>
- Schouls, L.M., Pol, I.V.D., Rijpkema, S.G.T., Schot, C.S., 1999. Detection and Identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato, and *Bartonella* Species in Dutch *Ixodes ricinus* Ticks. J. Clin. Microbiol. 37, 2215–2222. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.7.2215-2222.1999>
- Schulz, A., Karger, A., Bettin, B., Eisenbarth, A., Sas, M.A., Silaghi, C., Groschup, M.H., 2020. Molecular discrimination of *Hyalomma* tick species serving as reservoirs and vectors for Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in sub-Saharan Africa. Ticks Tick-Borne Dis. 11, 101382. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101382>
- Shakya, M., Kumar, S., Fular, A., Upadhaya, D., Sharma, A.K., Bisht, N., Nandi, A., Ghosh, S., 2020. Emergence of fipronil resistant *Rhipicephalus microplus* populations in Indian states. Exp. Appl. Acarol. <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00481-7>
- Silatsa, B.A., Simo, G., Githaka, N., Mwaura, S., Kamga, R.M., Oumarou, F., Keambou, C., Bishop, R.P., Djikeng, A., Kuate, J.-R., Njiokou, F., Pelle, R., 2019. A comprehensive survey of the prevalence and spatial distribution of ticks infesting cattle in different agro-ecological zones of Cameroon. Parasites Vectors 12, 489. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3738-7>

- Silva, M.G., Henriques, G., Sanchez, C., Marques, P.X., Suarez, C.E., Oliva, A., 2009. First survey for *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle from Central and Southern regions of Portugal using serological and DNA detection methods. *Veterinary parasitology* 166, 66–72
- Simuunza, M., Weir, W., Courcier, E., Tait, A., Shiels, B., 2011. Epidemiological analysis of tick-borne diseases in Zambia. *Veterinary Parasitology* 175, 331–342.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.09.027>
- Sisson, D., Hufschmid, J., Jolles, A., Beechler, B., Jabbar, A., 2017. Molecular characterisation of *Anaplasma* species from African buffalo (*Syncerus caffer*) in Kruger National Park, South Africa. *Ticks and Tick-borne Diseases* 8, 400–406. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.01.003>
- Sivakumar, T., Hayashida, K., Sugimoto, C., Yokoyama, N., 2014. Evolution and genetic diversity of Theileria. *Infection, Genetics and Evolution* 27, 250–263.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.07.013>
- Sohier, C., Haegeman, A., Mostin, L., De Leeuw, I., Campe, W. Van, De Vleeschauwer, A., Tuppurainen, E.S.M., van den Berg, T., De Regge, N., De Clercq, K., 2019. Experimental evidence of mechanical lumpy skin disease virus transmission by *Stomoxys calcitrans* biting flies and *Haematopota* spp. horseflies. *Sci. Rep.* 9, 20076. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56605-6>
- Spengler, J., Estrada-Peña, A., Garrison, A., Schmaljohn, C., Spiropoulou, C., Bergeron, E., Bente, D., 2016. A chronological review of experimental infection studies of the role of wild animals and livestock in the maintenance and transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Antiviral Res.* 135, 31–47. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.09.013>
- Sprygin, A., Pestova, Y., Wallace, D.B., Tuppurainen, E., Kononov, A. V., 2019. Transmission of lumpy skin disease virus: A short review. *Virus Res.* 269, 197637.
<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.05.015>
- Stachurski, F., 1993. Variability of cattle infestation by *Amblyomma variegatum* and its possible utilisation for tick control. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*
- Stachurski, F., 2000. Invasion of West African cattle by the tick *Amblyomma variegatum*. *Med. Vet. Entomol.* 14, 391–399. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00246.x>
- Stachurski, F., 2000. Modalités de la rencontre entre la stase adulte de la tique *Amblyomma variegatum* (acari : Ixodida) et les bovins : applications potentielles à la lutte contre ce parasite
- Stachurski, F., 2006. Attachment kinetics of the adult tick *Amblyomma variegatum* to cattle. *Medical and Veterinary Entomology* 20, 317–324. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2006.00633.x>

- Stachurski, F., 2007. Poor inheritance of low attractiveness for *Amblyomma variegatum* in cattle. *Veterinary Parasitology* 146, 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.02.025>
- Stachurski, F., Adakal, H., 2010. Exploiting the heterogeneous drop-off rhythm of *Amblyomma variegatum* nymphs to reduce pasture infestation by adult ticks. *Parasitology* 137, 1129–1137. <https://doi.org/10.1017/S0031182009992071>
- Stachurski, F., Musonge, E.N., Achu-kwi, M.D., Saliki, J.T., 1993. Impact of natural infestation of *Amblyomma variegatum* on the liveweight gain of male Gudali cattle in Adamawa (Cameroon). *Veterinary Parasitology* 49, 299–311. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90128-A](https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90128-A)
- Stafford III K.C. (2007): Tick management handbook. In: The Connecticut Agricultural Experiment Station, Bulletin No.1010. EPS Printing II, LLC, South Windsor, Connecticut. 9–18
- Stewart, C.G., 1987. Specific immunity in farm animals to heartwater. Heartwater : past, present and future : proceedings of a workshop held at Berg en Dal, Kruger National Park, on 8-16 September 1986
- Stuen, S., Granquist, E.G., Silaghi, C., 2013. *Anaplasma phagocytophilum*—a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 3. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00031>
- Suarez, C.E., Noh, S., 2011. Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. *Vet. Parasitol.*, Special Issue: Towards good management practises in parasite control 180, 109–125. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.032>
- Sule, W.F., Oluwayelu, D.O., Hernández-Triana, L.M., Fooks, A.R., Venter, M., Johnson, N., 2018. Epidemiology and ecology of West Nile virus in sub-Saharan Africa. *Parasit. Vectors* 11, 414. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2998-y>
- Sungirai, M., Moyo, D.Z., De Clercq, P., Madder, M., Vanwambeke, S.O., De Clercq, E.M., 2018. Modelling the distribution of *Rhipicephalus microplus* and *R. decoloratus* in Zimbabwe. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 14, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.08.006>
- Swei Andrea, I, C., L, C., Kapan Durrell, Bennett Shannon, 2019. Patterns, Drivers, and Challenges of Vector-Borne Disease Emergence. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2432>
- Swei, A., Couper, L.I., Coffey, L.L., Kapan, D., Bennett, S., 2019. Patterns, Drivers, and Challenges of Vector-Borne Disease Emergence. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 20, 159–170. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2432>

- Tabassum-Abbasi, Abbasi, T., Abbasi, S.A., 2016. Reducing the global environmental impact of livestock production: the minilivestock option. *Journal of Cleaner Production*, Preventing Smog Crises 112, 1754–1766. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.02.094>
- Takiguchi, Y., Mishima, H., Okuda, M., Terao, M., Aoki, A., Fukuda, R., 1980. Milbemycins, a new family of macrolide antibiotics: fermentation, isolation and physico-chemical properties. *J. Antibiot.* 33, 1120–1127. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.33.1120>
- Temeyer, K.B., Pruett, J.H., Olafson, P.U., Chen, A.C., 2007. R86Q, a Mutation in BmAChE3 Yielding a *Rhipicephalus microplus* Organophosphate-Insensitive Acetylcholinesterase. *Journal of Medical Entomology* 44, 1013–1018. <https://doi.org/10.1093/jmedent/44.6.1013>
- Thornton, P.K., 2010. Livestock production: recent trends, future prospects. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365, 2853–2867. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0134>
- Tomassone, L., Camicas, J.-L., Pagani, P., Diallo, O.T., Mannelli, A., Meneghi, D.D., 2004. Monthly dynamics of ticks (Acari: Ixodida) infesting N'Dama cattle in the Republic of Guinea. *Exp. Appl. Acarol.* 32, 209–218. <https://doi.org/10.1023/B:APPA.0000021771.34520.ab>
- Tomassone, L., De Meneghi, D., Adakal, H., Rodighiero, P., Pressi, G., Grego, E., 2016. Detection of *Rickettsia aeschlimannii* and *Rickettsia africae* in ixodid ticks from Burkina Faso and Somali Region of Ethiopia by new real-time PCR assays. *Ticks and Tick-borne Diseases* 7, 1082–1088. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.09.005>
- Tønnesen, M.H., Penzhorn, B.L., Bryson, N.R., Stoltz, W.H., Masibigiri, T., 2004. Displacement of *Boophilus decoloratus* by *Boophilus microplus* in the Soutpansberg region, Limpopo Province, South Africa. *Exp. Appl. Acarol.* 32, 199–208. <https://doi.org/10.1023/B:APPA.0000021789.44411.b5>
- Turkson, P.K., Botchey, M., 1999. Acaricide resistance in the cattle tick, *Amblyomma variegatum*, in the coastal savanna zone of Ghana. *Ghana J. Agric. Sci.* 32, 199–204
- Uilenberg, G., Barre, N., Camus, E., Burrige, M.J., Garris, G.I., 1984. Heartwater in the Caribbean. *Prev. Vet. Med.* 2, 255–267. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(84\)90068-0](https://doi.org/10.1016/0167-5877(84)90068-0)
- Uilenberg, G., Goff, W.L., 2006. Polyphasic Taxonomy. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1081, 492–497. <https://doi.org/10.1196/annals.1373.073>
- Ullmann, A.J., Lima, C.M.R., Guerrero, F.D., Piesman, J., Black, W.C., 2005. Genome size and organization in the blacklegged tick, *Ixodes scapularis* and the Southern cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Molecular Biology* 14, 217–222. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2005.00551.x>

- Underwood, W.J., Blauwiekel, R., Delano, M.L., Gillesby, R., Mischler, S.A., Schoell, A., 2015. Biology and Diseases of Ruminants (Sheep, Goats, and Cattle), in: Laboratory Animal Medicine. Elsevier, pp. 623–694
- Utech, K.B.W., Wharton, R.H., 1982. Breeding for Resistance to *Boophilus microplus* in Australian Illawarra Shorthorn and Brahman X Australian Illawarra Shorthorn Cattle. Australian Veterinary Journal 58, 41–46. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1982.tb02684.x>
- Vannier, E., Krause, P.J., 2012. Human Babesiosis. New England Journal of Medicine 366, 2397–2407. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1202018>
- Venter, M., 2018. Assessing the zoonotic potential of arboviruses of African origin. Curr. Opin. Virol., Emerging viruses: intraspecies transmission Viral Immunology 28, 74–84. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.11.004>
- Vial, H.J., Gorenflot, A., 2006. Chemotherapy against babesiosis. Vet. Parasitol., Babesiosis 138, 147–160. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.048>
- Vilela, V.L.R., Feitosa, T.F., Bezerra, R.A., Klafke, G.M., Riet-Correa, F., 2020. Multiple acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* in the semi-arid region of Paraíba State, Brazil. Ticks Tick-Borne Dis. 101413. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101413>
- Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol Mar Biol Biotechnol 3, 294–9
- Vudriko, P., Okwee-Acai, J., Tayebwa, D.S., Byaruhanga, J., Kakooza, S., Wampande, E., Omara, R., Muhindo, J.B., Tweyongyere, R., Owiny, D.O., Hatta, T., Tsuji, N., Umemiya-Shirafuji, R., Xuan, X., Kanameda, M., Fujisaki, K., Suzuki, H., 2016. Emergence of multi-acaricide resistant *Rhipicephalus* ticks and its implication on chemical tick control in Uganda. Parasites & Vectors 9, 4. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1278-3>
- Waghela, S.D., Rurangirwa, F.R., Mahan, S.M., Yunker, C.E., Crawford, T.B., Barbet, A.F., Burrridge, M.J., McGuire, T.C., 1991. A cloned DNA probe identifies *Cowdria ruminantium* in *Amblyomma variegatum* ticks. J. Clin. Microbiol. 29, 2571–2577
- Walker B. J., Olwage A., 1987. The tick vectors of *Cowdria ruminantium* (Ixodoidea, Ixodidae, genus *Amblyomma*) and their distribution. Onderstepoort J. vet. Res. <https://doi.org/54,353-379> (1987)
- Walker RA, Bouttaour A, Camicas JL, 2003. Ticks of domestic animals in Africa. A guide to identification of species. Edinburgh, UK: Bioscience Reports, 2003: 114

- Walker, A., A. Bouattour, J.-L. Camicas, A. Estrada-Peña, I.G. Horak, A.A. Latif, R.G. Pegram, P.M. Preston, 2003. Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species. Bioscience Reports, Edinburgh
- Walker, A., A. Bouattour, J.-L. Camicas, A. Estrada-Peña, I.G. Horak, A.A. Latif, R.G. Pegram, P.M. Preston, 2003. Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species. Bioscience Reports, Edinburgh, UK: Bioscience Reports, 2003: 114
- Wölfel, R., Paweska, J.T., Petersen, N., Grobbelaar, A.A., Leman, P.A., Hewson, R., Georges-Courbot, M.-C., Papa, A., Günther, S., Drosten, C., 2007. Virus Detection and Monitoring of Viral Load in Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Patients. *Emerg. Infect. Dis.* 13, 1097–1100. <https://doi.org/10.3201/eid1307.070068>
- Yabsley, M.J., Shock, B.C., 2013. Natural history of Zoonotic Babesia: Role of wildlife reservoirs. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 2, 18–31. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2012.11.003>
- Yakhchali, M., Hosseine, A., 2006. Prevalence and ectoparasites fauna of sheep and goats flocks in Urmia suburb, Iran. *Vet. Arh.* 76, 431–442
- Yang Quek, J., P. Davis, T., B. Lowe, A., 2013. Amidine functionality as a stimulus-responsive building block. *Chemical Society Reviews* 42, 7326–7334. <https://doi.org/10.1039/C3CS60065C>
- Yawa, M., Nyangiwe, N., Muchenje, V., Kadzere, C.T., Mpendulo, T.C., Marufu, M.C., 2018. Ecological preferences and seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on and off bovine hosts in the Eastern Cape Province, South Africa. *Exp. Appl. Acarol.* 74, 317–328. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0234-2>
- Yeruham, I., Hadani, A., Galker, F., Rosen, S., 1996. The seasonal occurrence of ticks (Acari: Ixodidae) on sheep and in the field in the Judean area of Israel. *Exp. Appl. Acarol.* 20, 47–56. <https://doi.org/10.1007/BF00051476>
- Yisaschar-Mekuzas, Y., Jaffe, C.L., Pastor, J., Cardoso, L., Baneth, G., 2013. Identification of *Babesia* species infecting dogs using reverse line blot hybridization for six canine piroplasms, and evaluation of co-infection by other vector-borne pathogens. *Vet. Parasitol.* 191, 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.002>
- Zannou, O.M., Ouedraogo, A.S., Biguezoton, A.S., Lempereur, L., Patrick Yao, K., Abatih, E., Zoungrana, S., Lenaert, M., Toe, P., Farougou, S., Saegerman, C., 2020. First digital characterization of the transhumance corridors through Benin used by cattle herds from Burkina Faso and associated

risk scoring regarding the invasion of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Transbound. Emerg. Dis.*
<https://doi.org/10.1111/tbed.13855>

Zannou, O.M., Ouedraogo, A.S., Biguezoton, A.S., Yao, K.P., Abatih, E., Farougou, S., Lenaert, M., Lempereur, L., Saegerman, C., 2021. First tick and tick damage perception survey among sedentary and transhumant pastoralists in Burkina Faso and Benin. *Veterinary Medicine and Science* n/a.
<https://doi.org/10.1002/vms3.414>

Zhao, H., Wilkins, K., Damon, I.K., Li, Y., 2013. Specific qPCR assays for the detection of orf virus, pseudocowpox virus and bovine papular stomatitis virus. *J. Virol. Methods* 194, 229–234.
<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.08.027>

Zintl, A., Mulcahy, G., Skerrett, H.E., Taylor, S.M., Gray, J.S., 2003. *Babesia divergens*, a Bovine Blood Parasite of Veterinary and Zoonotic Importance. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 622–636.
<https://doi.org/10.1128/CMR.16.4.622-636.2003>

References web

Anaplasma marginale - an overview | ScienceDirect Topics [WWW Document], n.d. URL
<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/anaplasma-marginale>
(accessed 5.10.21).

Babesiosis - Circulatory System [WWW Document], n.d. . Vet. Man. URL
<https://www.msdtvetmanual.com/en-au/circulatory-system/blood-parasites/babesiosis> (accessed 5.10.21).

Babesiosis - Circulatory System [WWW Document], n.d. . Vet. Man. URL
<https://www.msdtvetmanual.com/en-au/circulatory-system/blood-parasites/babesiosis> (accessed 5.10.21).

Babesiosis - Circulatory System [WWW Document], n.d. . Vet. Man. URL
<https://www.msdtvetmanual.com/en-au/circulatory-system/blood-parasites/babesiosis> (accessed 5.10.21).

Catalogue of Organisms, n.d. URL <http://coo.fieldofscience.com/2012/02/> (accessed 5.10.21).

CEDEAO [WWW Document], horizon 2011/2020, décembre 2010. URL
<https://www.alimenterre.org/plan-d-action-pour-le-developpement-et-la-transformation-de-l-elevage-dans-l-espace-cedeao> (accessed 4.15.21).

FAOSTAT [WWW Document], 2019. URL <http://www.fao.org/faostat/fr/#data> (accessed 4.15.21).

Haemaphysalis sp. - ESCCAP France [WWW Document], n.d. URL <https://www.esccap.fr/par-fiches/haemaphysalis-sp.html> (accessed 5.19.21b).

Les dynamiques du pastoralisme au Sahel Archives, n.d. . Afrique Contemporaine. URL http://www.afrique-contemporaine.info/numero_revue/2014-1-les-dynamiques-du-pastoralisme-au-sahel/ (accessed 7.13.21).

MRAH [WWW Document], n.d. URL <https://www.insd.bf/> (accessed 6.16.21)

Tropical theileriosis - background to the disease [WWW Document], n.d. URL <http://www.theileria.org/ahdw/background.htm> (accessed 4.17.)



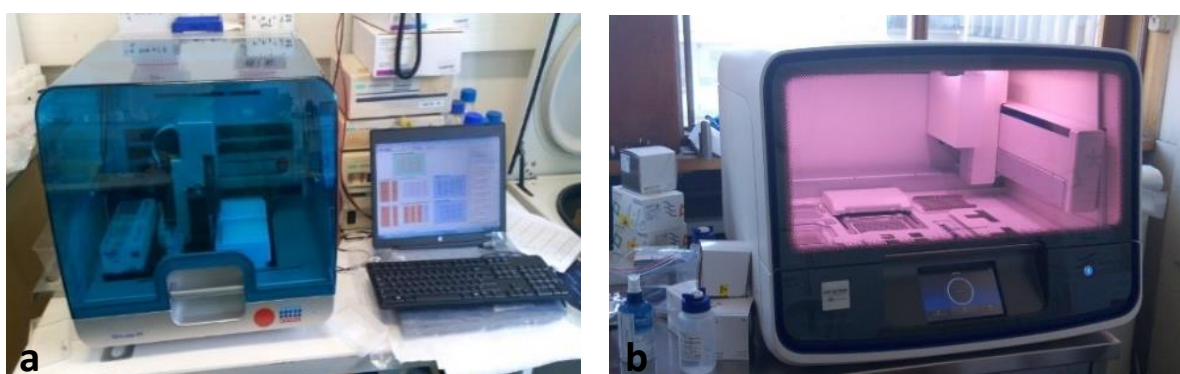
1 Campement peulh à l'est du Burkina Faso



2-Administration de questionnaire d'enquête socio-épidémiologique aux éleveurs



3 a-Collecte des tiques, b-Collecte de sang, c-Identification des tiques



4 a-Extracteur automatique d'acide nucléique (QIAcube HT, Qiagen), b-Séquenceur NGS (Ion Torrent, Life Technologies)



5 a-Dilution des acaricides, b-Empaquetage des larves

Presses de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège

4000 Liège (Belgique)

D/2021/0480/10
ISBN 978-2-87543-176-9

