

MASTER GESTION INTEGREE DES ZONOSSES ET MALADIES ANIMALES TROPICALES (GIZMAT)

Rapport de Stage

ETUDE DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX INFLUENÇANT LA PRESENCE DE LA TIQUE *RHIPICEPHALUS MICROPLUS* DANS LES PATURAGES ET DE LA RESISTANCE AUX ACARICIDES DES POPULATIONS LOCALES A LA REUNION

Présenté par

AVLESSI SENAN PRICE MARX



Réalisé sous la direction de : Marlène Dupraz¹ et Yannick Grimaud²

Laboratoire/Organisme/Structure : ¹Cirad UMR ASTRE Réunion, ²GDS Réunion

Période du stage : 15/02/2024 au 29/07/2024

Date de Soutenance :

Année Universitaire : 2023-2024

REMERCIEMENTS

A ma mère, qui a toujours cru en moi. Infiniment merci pour votre amour inconditionnel et pour vos prières. Vous êtes une source intarissable de motivation.

A mon défunt père, mon repère et ma source de motivation. Je ne regrette pas une seconde d'avoir emprunté votre chemin.

A mes frères Joan, Igor, Elfried et en particulier Nicéphore pour son soutien inconditionnel. Vous êtes les meilleurs.

A Edwige KPODO, Assioor.

A mes encadrants, Marlène DUPRAZ et Yannick GRIMAUD. Infiniment merci pour votre encadrement, votre rigueur, votre méticulosité, vos orientations et vos précieux conseils.

A toute l'équipe du CIRAD/ASTRE en particulier Anaïs et Brice pour l'accompagnement technique.

A mes amis du GIZMAT, en particulier Bastiano el padre, Anaëlla, Antona.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	2
LISTE DES FIGURES	5
I. INTRODUCTION	6
1. La tique du bétail <i>Rhipicephalus microplus</i>	8
1.1. Caractéristique et répartition géographique	8
1.2. Cycle biologique	8
1.3. Conséquences sanitaires pour l'hôte et impact économique	10
1.4. Stratégie de lutte contre la tique <i>R. microplus</i> à La Réunion	10
1.4.1. Lutte acaricide	11
1.4.2. Lutte agroécologique	11
1.4.3. Lutte immunologique	11
1.4.4. Lutte génétique	12
2. Développement de résistances de la tique <i>R. microplus</i> aux acaricides	12
2.1. Définition et types de résistance	12
2.2. Résistance de la tique <i>R. microplus</i> dans le monde	12
2.3. Méthodes d'évaluation de la résistance	13
2.3.1. Adult Immersion Test (AIT)	13
2.3.2. Le Larval Packet Test (LPT)	14
2.3.3. Le Larval Tarsal Test (LTT)	14
3. Les facteurs environnementaux influençant la présence des tiques <i>R. microplus</i>	14
II. MATERIELS ET METHODES	15
1. Présentation générale de la Réunion	15
1.1. Géographie	15
1.2. Climat	15
1.3. Végétation	16
1.4. Elevage bovin à La Réunion	16
2. Population d'étude et échantillonnage	18
3. La collecte de tiques femelles gorgées	18
4. Evaluation des résistances des tiques aux acaricides : de la collecte au laboratoire du CIRAD/CYROI	18
5. Méthode d'estimation de l'infestation en larves de tiques et évaluation du couvert végétal	20
5.1. Estimation de l'infestation en larves de tiques dans les prairies	20
5.2. Evaluation du couvert végétal	22
6. Notion de la sole fourragère	22
7. Relevés de paramètres environnementaux	23
8. Analyse statistique	24
8.1. Présélection et transformation des variables	24

8.2. Analyse de la structuration des prairies par les espèces productrices	25
8.3. Choix du modèle à utiliser pour la détermination des paramètres susceptibles d'influencer l'abondance des larves de tiques	25
III. RESULTATS	27
1. Evaluation des résistances des tiques aux acaricides	27
2. Estimation de l'infestation en larves de tiques et évaluation du couvert végétal.....	27
2.1. Estimation de l'infestation en larves de tiques dans les prairies	28
2.2. Evaluation de la variabilité du couvert végétal sur les transects de l'étude.....	28
2.2.1. Structuration et variabilité du recouvrement par les espèces herbacées	28
2.2.2. Structuration et variabilité de la contribution des espèces herbacées à la couverture du sol	32
3. Détermination des paramètres expliquant l'abondance des larves de tiques	35
IV. DISCUSSION ET PERSPECTIVES	37
1. Résistances des tiques aux acaricides.....	37
2. Estimation de l'infestation en larves de tiques et évaluation du couvert végétal.....	38
3. Détermination des paramètres expliquant l'abondance des larves de tiques	39
V- CONCLUSION	41
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	42
ANNEXE I : Autorisation de collecte d'échantillons	45
ANNEXE 2: Questionnaire d'enquête	47
ANNEXE 3 : Protocole du Tarsal Larval Test.....	51
ANNEXE 4 : Cartographie de quelques passages de drapeau sur les parcelles d'étude	55
ANNEXE 5: Fiche de terrain de collecte de passage de drapeau	60
ANNEXE 6: Grille de notation de l'état des parcelle	61

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Cycle de la tique du bétail <i>R. microplus</i> (Barré and Deltathière, 2010)	9
Figure 2: Photographies de larves infestantes en attente d'un hôte dans les pâturages (©CIRAD) : a) Les larves sont à l'extrémité des hautes herbes ; (b) plan sur une herbe.....	10
Figure 3: Présentation de l'archipel des Mascareignes et localisation de l'île de la Réunion ((Jean-Michel Jauze, 2009).....	15
Figure 4: Répartition du cheptel des bovins sur l'île de La Réunion (DAAF, 2020)	17
Figure 5: Protocole du LTT, de la collecte des tiques à la lecture des plaques	19
Figure 6: Plaques de 96 puits correspondant à un replicat	19
Figure 7: Carte de répartition des parcelles d'étude.....	21
Figure 8: Photographies aériennes d'une parcelle avec des transects prévisionnels de 25 mètres.....	21
Figure 9: Préleveur trainant un drapeau pour récolter des tiques	21
Figure 10: Comptage des larves (Crédit photo : CIRAD).....	21
Figure 11: Identification d'espèce d'herbe	23
Figure 12: Mesure de la hauteur d'herbe en utilisant un herbomètre	23
Figure 13: Observation d'éclosion des œufs à la loupe	27
Figure 14: a) Eclosion dans le lot témoin b) Plan sur les larves de tiques dans le lot témoin	27
Figure 15: Distribution des larves de tiques	28
Figure 16: Distribution croissante du nombre de tiques collectées par drapeau positif tiques.....	28
Figure 17: Recouvrement des espèces productrices sur l'ensemble des prairies visitées	29
Figure 18: Analyse en composantes principales pour la structuration ou variabilité du recouvrement par les espèces productrices.....	31
Figure 19: Contribution des espèces productrices à la couverture du sol sur l'ensemble des prairies visitées.....	32
Figure 20: Analyse en composantes principales pour la structuration ou variabilité de la diversité du couvert végétal par les espèces productrices	34
Figure 21: Importance des variables pour la détermination des paramètres expliquant l'abondance des larves de tiques	36

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Localité et altitude des parcelles échantillonnées	20
--	----

I. INTRODUCTION

Les tiques sont considérées comme les vecteurs les plus importants d'agents pathogènes chez les animaux domestiques et sauvages. D'après l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), plus de 80% du cheptel mondial est infesté par les tiques (FAO, 1987 in Rodriguez-Vivas et al., 2018). A l'échelle mondiale, les pertes économiques annuelles liées aux infestations par les tiques sont estimées entre 11,8 et 15,8 milliards d'euros (Estrada-Peña and Salman, 2013). Parmi les espèces de tiques infestant les bovins, l'espèce *Rhipicephalus microplus* est celle ayant le plus d'impact dans la zone intertropicale (Rodriguez-Vivas et al., 2018). Cette tique, originaire du sud de l'Asie, s'est répandue dans l'ensemble des zones subtropicales et tropicales du globe à l'occasion des exportations de bovins au cours des XVIIIe et XIXe siècles (Barré and Uilenberg, 2010).

A ce jour, la présence de la tique *R. microplus* est avérée dans plusieurs territoires tropicaux français (Départements et Régions d'Outre-Mer et Collectivités d'Outre-Mer, i.e. les – DROM- COM) et notamment à La Réunion, Mayotte, la Martinique, la Guadeloupe, la Guyane et la Nouvelle-Calédonie (Huber et al., 2015). A La Réunion, cette tique est dans un premier temps à l'origine d'impacts directs tels que la spoliation sanguine, la dépréciation du cuir et les abcès aux points de piqûres. Cependant, la première préoccupation vis-à-vis de cette tique concerne son rôle de vecteur biologique d'agents pathogènes tels que *Babesia bovis* et *Babesia bigemina*, responsables des deux babésioses bovines circulants sur l'île, ainsi que d'*Anaplasma marginale* responsable de l'anaplasmose bovine. Ces trois maladies constituent trois des quatre hémoparasitoses rencontrées sur l'île, la quatrième étant la cowdriose.

De par leur impact direct et leur rôle de vecteur d'agents pathogènes, les tiques ont fait l'objet de différentes stratégies de lutte afin de préserver la santé des animaux d'élevage. Dans ce contexte, le programme POSEIDOM vétérinaire (Programme d'Options Spécifiques à l'Eloignement et à l'Insularité des Départements français d'Outre-Mer - 1991) été mise en place à La Réunion depuis 1994 pour lutter contre les hémoparasitoses, maladies du bétail transmises par les tiques mais également par les stomoxes. Les méthodes de lutte contre ces vecteurs furent d'abord chimiques par application régulière de la deltaméthrine sur les bovins au cours des campagnes estivales de traitement. Dans un deuxième temps, la lutte biologique contre les stomoxes a été développée pour la production et le lâcher de parasitoïdes de leurs larves et de leurs pupes, impliqués dans la transmission de l'anaplasmose. Les résultats de ce programme de lutte ont permis de souligner l'importance de mettre en place un programme de lutte intégrée contre les vecteurs d'hémoparasitoses incluant plusieurs méthodes de lutte. Contre les tiques,

ces méthodes comprendraient la lutte chimique, la lutte immunologique, la lutte génétique et la lutte environnementale. C'est dans ce cadre que le GDS Réunion (Groupement de Défense Sanitaire de La Réunion) apporte un appui technique aux éleveurs pour améliorer l'état sanitaire du cheptel réunionnais.

Historiquement, une tentative d'éradication de *R. microplus* basée sur le traitement des élevages au Diethon a été réalisée et a permis de réduire de moitié une zone d'infestation sur l'île de La Réunion (Barré, 1981). Depuis, la lutte contre *R. microplus* à La Réunion repose principalement sur l'usage d'acaricides et principalement dans une visée curative. Toutefois, les ré-infestations sont fréquentes et obligent à des recours continuels à cette forme de lutte chimique. Face à l'émergence de phénomène de résistance déjà constaté à La Réunion (Hüe, T. and R. Ceniceros, 2007) et dans d'autres régions de la ceinture tropicale (Yessinou et al., 2016), la lutte chimique contre *R. microplus* devient de plus en plus problématique et contraignante. Les méthodes de lutte telles que la lutte environnementale basée sur la modification des habitats des tiques durant leur phase libre ou la mise en défens des parcelles, existe sur l'île mais est peu pratiquée en raison du mode de gestion des élevages pour la plupart intensif et en rotation rapide.

En absence d'autres méthodes de lutte comme la lutte génétique (sélection de races ou de lignées bovines résistantes) ou la lutte immunologique (vaccination anti-tique) et de programme de lutte intégrée, il est indispensable aujourd'hui d'avoir une maîtrise de l'usage des acaricides pour limiter ou retarder l'apparition des résistances. Par ailleurs, la maîtrise de l'écologie des tiques, peu étudiée depuis 40 ans, est également essentielle pour adapter les méthodes de lutte à leur cycle biologique, à leur dynamique saisonnière et définir les périodes à risque d'infestation des parcelles. Des études antérieures ont démontré que les facteurs environnementaux telles que la température, l'humidité et la végétation pourraient impacter de manière significative l'abondance c'est-à-dire la présence ou l'absence des larves de tiques (Cruz et al., 2020; Urdaz-Rodríguez et al., 2012).

Cependant à La Réunion, il n'existe à notre connaissance aucune donnée récente sur les paramètres environnementaux susceptibles d'influencer la présence des tiques et sur la situation de l'île de la Réunion par rapport à la résistance des tiques aux acaricides. C'est dans ce cadre d'étude que s'inscrit mon stage qui a pour objectif d'étudier 1) les facteurs environnementaux influençant la présence de la tique *Rhipicephalus microplus* dans les pâturages et 2) la résistance aux acaricides des populations locales à La Réunion.

1. La tique du bétail *Rhipicephalus microplus*

1.1. Caractéristique et répartition géographique

Les tiques sont des Arthropodes de la classe des Arachnides, appartenant à la sous-classe des Acariens et à l'ordre des *Ixodida*. A La Réunion, deux espèces de tiques parasitent les bovins (Barré and Morel, 1983). Il s'agit de :

- ✚ *Amblyomma variegatum* qui est cantonnée à l'Ouest de l'île et est le vecteur biologique de *Ehrlichia. ruminantium* responsable de la cowdriose. Elle est retrouvée à La Réunion à moins de 300 m d'altitude.
- ✚ *Rhipicephalus microplus* qui s'est répartie très largement dans les zones tropicales et subtropicales en suivant les mouvements des bovins par l'homme. Elle est aujourd'hui présente dans les îles du Pacifique, l'Asie du Sud, l'Amérique du Sud et Centrale, et l'est de l'Afrique. La présence de la tique *Rhipicephalus microplus* est avérée dans tous les pâturages bovins de la Réunion, d'altitude pouvant atteindre 2200m (limite haute des pâtures) (Barré and Morel, 1983), ce qui justifie l'intérêt de mener notre étude sur cette espèce de tique.

Selon la règle générale de la systématique l'espèce *Rhipicephalus microplus* est classée comme suit (Guglielmone and Nava, 2014) :

Règne	:	<i>Animalia</i>
Embranchement	:	<i>Arthropoda</i>
Classe	:	<i>Arachnida</i>
Sous-classe	:	<i>Acari</i>
Ordre	:	<i>Ixodida</i>
Famille	:	<i>Ixodidae</i>
Sous-famille	:	<i>Rhipicephalinae</i>
Genre	:	<i>Rhipicephalus</i>
Sous-genre	:	<i>Boophilus</i>
Espèce	:	<i>microplus</i>

1.2. Cycle biologique

Le cycle de *R. microplus* présente deux phases : une phase parasitaire lorsque la tique est sur l'hôte et une phase libre, dans le milieu extérieur. L'ensemble de sa phase parasitaire s'effectue sur le même individu-hôte et qualifie donc un cycle monoxène.

✚ Phase parasitaire

La phase parasitaire implique trois stades : la larve, la nymphe puis le stade adulte (Figure 3, Barré and Delathière, 2010). Cette phase commence par la larve en quête dans la végétation qui s'est agrippée au poil d'un hôte, le plus souvent le bovin mais on peut également

les trouver chez les chevaux, les ânes, les chèvres, les moutons, les chameaux, les porcs et les chiens (Spickler, Anna Rovid, 2022). La larve mue en nymphe après un repas de sang puis la nymphe en adulte après un deuxième repas de sang. La phase parasitaire se termine chez la femelle gorgée de sang qui se détache de l'hôte. Les phases de repas de sang durent environ sept jours (Barré and Delathière, 2010). L'accouplement des tiques se déroule lors du repas de sang de la femelle. Les mâles quant à eux peuvent réaliser plusieurs accouplements et font de multiples et courts repas de sang (Barré and Delathière, 2010). La femelle adulte prend un repas de sang progressif puis très rapide lors des dernières heures du repas, constituant le « gorgement ». Au total, la phase parasitaire dure de 20 à 25 jours en moyenne. La suite du cycle se déroule ensuite dans le milieu extérieur, sauf pour le male qui reste sur l'hôte et peut s'accoupler à d'autres femelles).

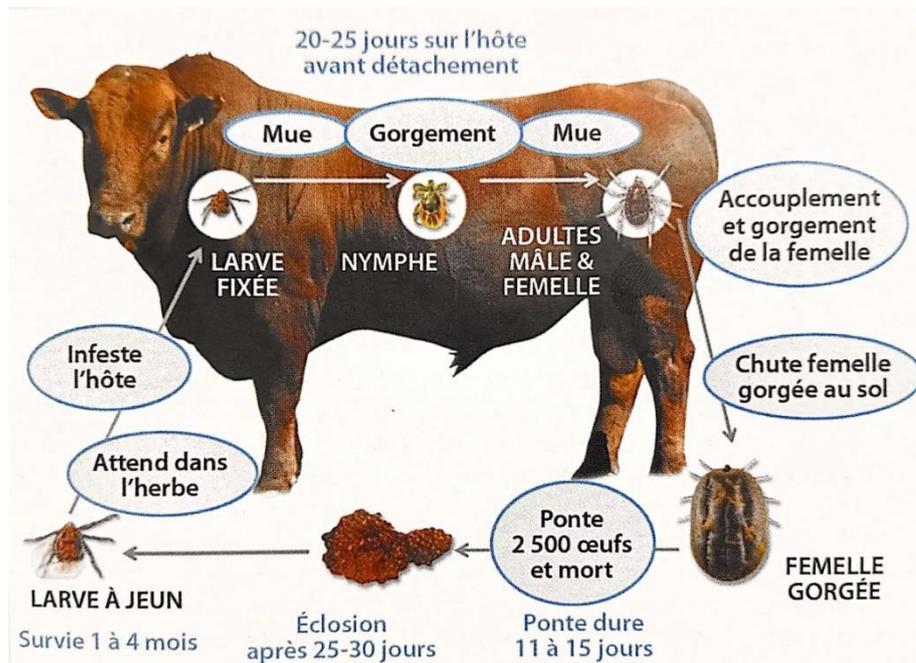


Figure 1: Cycle de la tique du bétail *R. microplus* (Barré and Delathière, 2010)

🚦 Phase libre

La phase libre commence avec la femelle gorgée de sang, détachée de son hôte, majoritairement le matin. Le détachement des tiques gorgées est encore plus rapide lorsque les journées sont ensoleillées et lorsque les bovins se déplacent (Barré and Delathière, 2010). Une tique gorgée peut se déplacer jusqu'à 2 mètres après son détachement (Desquesnes, 1987). La femelle gorgée a besoin d'un sol frais et ombragé pour survivre. Elle ne survit pas sur un sol nu. Elle se positionne dans la couche superficielle du sol et pond 3 à 4 jours après s'être détachée de l'hôte. La femelle meurt après une ponte allant de 11 à 15 jours. Une femelle peut produire 2 600 à 3 000 œufs dans des conditions optimales, c'est-à-dire à une température comprise entre 22 et 27°C et une humidité relative de 85% (Barré and Delathière, 2010). L'incubation des œufs dure de 20 à 25 jours et les premières larves éclosent entre 34 à 44 jours après la chute de la

femelle (Barré and Delathière, 2010). Les larves se regroupent ensuite à l'extrémité des herbes et attendent l'approche d'un hôte (Figure 2).



Figure 2: Photographies de larves infestantes en attente d'un hôte dans les pâturages (©CIRAD) : a) Les larves sont à l'extrémité des hautes herbes ; (b) plan sur une herbe

1.3. Conséquences sanitaires pour l'hôte et impact économique

En cas d'infestation, *R. microplus* peut avoir un impact direct tels que la spoliation sanguine, des réactions allergiques à la salive des tiques, la dépréciation du cuir et les abcès aux points de piqûres. *Rhipicephalus microplus* peut ainsi impacter les performances zootechniques des élevages. L'infestation par de nombreuses tiques peut provoquer des retards de croissance, des pertes de poids et de production du bétail, voire de la mortalité sur des veaux. Il a été démontré que lors d'une infestation comprenant plus de 50 tiques femelles gorgées, la réduction annuelle de poids peut atteindre les 0.5kg par tique en plus de pouvoir diminuer la production annuelle de lait de 200 litres par animal (P. Junquera, 2022).

Rhipicephalus microplus peut avoir un impact indirect par la transmission d'une large variété de micro-organismes pathogènes, notamment des protozoaires parasites sanguins tels que les *Babesia bigemina* et *Babesia bovis*, ainsi que la bactérie *Anaplasma marginale* (Andreotti et al., 2011; Madder et al., 2013). Ces micro-organismes sont en effet à l'origine d'hémoparasitoses, la première cause de mortalité bovine jusqu'en 2007 et la 5^{ème} en 2014 selon données d'autopsie remontées au service public d'équarrissage. Au Brésil et en Australie, les pertes économiques annuelles engendrées par la tique *R. microplus* sont respectivement estimées à 3,24 milliards de dollars américains (Grisi, 2014 dans Rodriguez-Vivas et al., 2018) et 110 millions d'euros (Lew-Tabor and Valle, 2016).

Vu l'impact sanitaire et économique engendrées par la tique du bétail, plusieurs moyens de luttent ont vu le jour.

1.4. Stratégie de lutte contre la tique *R. microplus* à La Réunion

Il existe plusieurs méthodes de lutte contre les tiques :

1.4.1. Lutte acaricide

Le traitement acaricide des animaux contre les tiques reste la principale méthode de contrôle des niveaux d'infestation par *R. microplus*. Les produits les plus utilisés sur l'île sont des spécialités commerciales à bases de deltaméthrine (pyréthriinoïdes : Butox ® 7.5 pour-on ou Butox 50®), phoxime (Sebacil® 50%) utilisées comme antiparasitaires externes et appliquées en pulvérisation, ou en pour-on (Hüe, T. and R. Cenicerros, 2007). L'utilisation d'acaricides est relativement facile à mettre en place et soulage immédiatement les bovins infestés. Cependant, l'utilisation systématique à intervalle fixe, ou à trop fort ou trop faible dosage, a entraîné l'émergence du phénomène de résistance à La Réunion (Hüe, T. and R. Cenicerros, 2007). Dû à la diminution du nombre de molécules actives disponibles sur le marché, d'autres méthodes de lutttes pourrait être appliquées.

1.4.2. Lutte agroécologique

La lutte agroécologique s'appuie sur la biologie de la tique l'aménagement des zones pâturées pour identifier et gérer les risques en conséquence. Elle est basée sur :

- ✚ L'identification et l'isolement des zones infestées
- ✚ La réduction des gites larvaires dans les parcelles et couloirs, c'est-à-dire des sites permettant de garder des conditions de température et d'humidité favorables à la survie des œufs et des larves telles que les haies non entretenues et les hautes herbes (Cabot & al., 2011).
- ✚ La rotation des troupeaux qui est un volet important de la lutte agronomique et qui consiste à gérer les rotations de parcelles tout en évitant les pâtures infestées par les tiques. Il est ainsi indispensable d'enregistrer les rotations des troupeaux et de noter quand des tiques sont observées sur les animaux.

1.4.3. Lutte immunologique

La lutte immunologique consiste à stimuler les défenses immunitaires des bovins contre les tiques. L'immunisation des bovins avec la protéine antigénique « Bm86 » conduit à une diminution du repas de sang des tiques femelles et par conséquent à une très forte diminution de l'oviposition et à la réduction progressive de la population dans l'environnement. Deux vaccins ont déjà fait leurs preuves : le TickGard® a été développé en Australie mais n'est plus commercialisé (Rodríguez et al., 1994) tandis que le Gavac ® est fabriqué à Cuba et commercialisé en Amérique Latine (Willadsen et al., 1995). Ces vaccins ayant montré une spécificité de souches, leur utilisation n'ont pas été efficace sur tous les territoires sur lesquels ils ont été testé (Pereira et al., 2021). Par conséquent, de nombreuses recherches portent actuellement sur l'identification de nouveaux antigènes pour le développement de vaccins (Pereira et al., 2021). A La Réunion, il n'existe pas encore de vaccin autorisé mais un projet d'essai vaccinal est en cours. L'utilisation potentielle d'un vaccin serait considérée dans un plan

de lutte intégrée incluant l'utilisation raisonnée des acaricides et la lutte environnementale reliée aux pratiques d'élevage afin d'agir sur les différentes phases de vie de la tique.

1.4.4. Lutte génétique

La lutte génétique consiste à élever des bovins naturellement résistants à la tique, soit en sélectionnant systématiquement les bovins les plus résistants du troupeau, soit en utilisant des races résistantes telles que des races pures ou en croisement avec des races résistantes (brahman, senopol, droughtmaster, belmont red) (Molento et al., 2013). Bien que la lutte génétique soit développée dans certains pays, cette méthode n'est pas appliquée à La Réunion.

2. Développement de résistances de la tique *R. microplus* aux acaricides

2.1. Définition et types de résistance

Trois principaux types de résistance aux acaricides sont généralement connus :

La résistance métabolique

Elle est engendrée par l'augmentation du métabolisme de détoxification de la tique qui fait suite à la surexpression des enzymes de dégradation de l'acaricide telles que le cytochrome P-450 (CYP), les estérases et la glutathion S-transférase (GST) (Guerrero et al., 2012).

La résistance par modification du site cible

Elle est développée par des changements de conformation du site de fixation de l'acaricide par mutation génétique, ce qui empêche la fixation de l'acaricide sur sa cible, comme les canaux sodiques dans le cas des pyréthrinoïdes (Coles and Dryden, 2014). Il y a ainsi absence d'effets neurotoxique sur la tique.

La résistance par pénétration réduite ou résistance cuticulaire

Elle est caractérisée par des modifications de la couche externe de la tique (exosquelette) qui engendre la diminution de la pénétration des acaricides dans l'environnement interne du corps (Guerrero et al., 2012).

2.2. Résistance de la tique *R. microplus* dans le monde

L'utilisation d'acaricides de synthèse est actuellement la méthode de lutte la plus utilisée contre les tiques *R. microplus* (Rodriguez-Vivas et al., 2018). Les composés arsenicaux ont été utilisés pour la première fois en 1895 pour lutter contre les tiques. Il était couramment utilisé sous forme aqueuse (As₂O₃) en bain ou « dipping », jusqu'à l'apparition de la résistance en 1937 en Afrique du Sud (Bekker, J.P 1960). La nécessité de développer des acaricides organiques de synthèse est alors apparue évidente en raison des résidus toxiques dans les tissus des animaux et une frontière peu marquée entre la dose toxique pour les bovins et la dose efficace contre les tiques.

A la fin des années 1930, les premiers composés organochlorés ont été introduits sur le marché pour lutter contre les tiques devenues résistantes à l'arsenic. Les premières résistances ont été rapportées au Brésil à partir des années 1952 et ils ont été retirés du marché en raison de leur très forte toxicité à la fois pour l'environnement et l'homme, et de leur durée de vie longue (Freire JJ, 1953).

L'introduction des acaricides organophosphorés est arrivée peu de temps après celle des organochlorés. Suite à l'apparition des premières résistances des tiques aux organophosphorés, les pyréthriinoïdes de synthèse ont été introduits et sont actuellement utilisés dans la plupart des élevages bovins. Ils présentent l'avantage d'être très peu toxiques pour les mammifères et sont facilement dégradés dans l'environnement en raison de leur instabilité chimique.

Cependant, la résistance des tiques, en particulier *R. microplus*, à cette classe d'acaricides est courante dans de nombreux pays, notamment aux Etats-Unis, à Cuba, au Brésil, Argentine, en Australie, Nouvelle-Calédonie et au Bénin (Rodriguez-Vivas et al., 2018). La capacité des populations de *R. microplus* à développer une résistance aux acaricides a été bien documentée dans un large éventail de circonstances (Dzemo et al., 2022).

Les élevages bovins sur l'île de La Réunion sont également concernés par la résistance des tiques *R. microplus* aux acaricides. En effet, des tests de résistance des tiques présentés dans les élevages bovins réunionnais ont révélés une émergence du phénomène de résistance vis-à-vis de la deltaméthrine (Butox®) (Hüe, T. and R. Ceniceros, 2007). Cette émergence serait due à l'usage continu des acaricides dans une visée curative comme déjà démontré dans plusieurs endroits du monde (Yessinou et al., 2016). Il est ainsi indispensable d'évaluer les niveaux de résistance des tiques dans les pâturages réunionnais afin que les éleveurs puissent obtenir des informations sur le profil de résistance des tiques dans leur exploitation et aussi des conseils sur l'utilisation de composés alternatifs.

2.3. Méthodes d'évaluation de la résistance

Il existe plusieurs tests utilisables en routine dans un laboratoire nécessitant la mise en contact des tiques femelles gorgées et des dilutions d'acaricides mises en contact. Le délai d'obtention des résultats se compte en semaine. L'évaluation des niveaux de résistance est essentielle pour chaque exploitation afin d'appliquer des plans de gestion adaptés. En outre, les différents facteurs environnementaux et pratiques d'élevage peuvent influencer la présence des tiques du bétail et la prévalence de la résistance aux acaricides.

2.3.1. Adult Immersion Test (AIT)

L'Adult Immersion Test (AIT) est le test le plus répandu dans le monde car peu coûteux et rapide à mettre en œuvre. Des femelles gorgées sont traitées avec des dilutions graduelles d'acaricides puis les facultés de ponte et d'éclosion sont évaluées et comparées entre les tiques traitées et non traitées. Cependant, il n'est pas adapté pour tester la résistance aux amidines. Il

présente néanmoins le désavantage de constituer des lots de tiques femelles en nombre important pour tester différents acaricides et réaliser des réplicats.

2.3.2. Le Larval Packet Test (LPT)

Le Larval Packet Test (LPT) est aujourd'hui recommandé par la FAO pour standardiser les résultats de résistance, en raison de la praticité, le faible coût et la sensibilité du test. Il consiste à mettre en contact des larves avec des papiers imprégnés d'acaricides de dilution croissante. La mortalité larvaire est ensuite évaluée après 24 heures. Le LPT a été adapté en 2008 par Miller pour améliorer la faisabilité et la répétabilité du test (Miller et al., 2008). La préparation des papiers imprégnés est néanmoins déléguée à chaque laboratoire et ce test peut donc présenter des résultats variables en fonction de la qualité des dilutions réalisées.

2.3.3. Le Larval Tarsal Test (LTT)

Le Larval Tarsal Test (LTT) développé par Lovis (Lovis et al., 2011) est le test de diagnostic de résistance choisi par le CIRAD en Guadeloupe. Des œufs sont disposés dans des plaques de 96 puits dans lesquels des dilutions d'acaricides étaient préparées. Après éclosion, les larves entrent en contact avec les acaricides. Il est ainsi possible de tester avec le LTT une large gamme de dilutions par composé acaricide. Il présente également comme avantages par rapport aux autres tests, de nécessiter d'un faible nombre de tiques femelles gorgées et de manipuler des œufs et non des larves.

3. Les facteurs environnementaux influençant la présence des tiques *R. microplus*

Plusieurs facteurs peuvent influencer la présence des tiques dans les pâturages. Il s'agit des facteurs biotiques et les facteurs abiotiques. Les facteurs biotiques (végétation, abondance des animaux, etc.) ont une grande importance sur le développement des stades des tiques sur les bovins (phase parasitaire) (Cumming, 1999; Urdaz-Rodríguez et al., 2012). Par exemple, la végétation conditionne la hauteur des supports sur lesquels les tiques vont se placer à l'affût et ainsi agir sur leur accessibilité aux hôtes. A La Réunion, certaines espèces végétales (marie-éteintée, kikuyu) et les haies non entretenues sont considérées comme des gîtes larvaires favorables au maintien des conditions de température et d'humidité permettant la survie des œufs et des larves (Dernburg, 2018). Les facteurs abiotiques quant à eux (température, humidité relative et précipitation) ont une influence directe sur la phase libre des larves tiques, pouvant ainsi accélérer ou retarder cette dernière (Cruz et al., 2020; Pfäffle et al., 2013). Les travaux de Randolph (Randolph, 2000) ont démontré que ces facteurs peuvent varier selon les régions, les habitats et même dans l'environnement immédiat de l'animal. Ces facteurs environnementaux pourraient impacter de manière significative l'abondance des tiques (Andreotti et al., 2019). Par conséquent, l'évaluation des facteurs tels que la température, l'humidité, la végétation est

importante pour fournir des méthodes de contrôle supplémentaires qui pourraient être développées pour compléter celles qui sont actuellement utilisées sur l'île.

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif de cette étude qui a pour objectif d'étudier dans un premier temps les facteurs environnementaux influençant la présence de la tique *R. microplus* dans les pâturages tels que la température, l'humidité et le couvert végétal. Dans un deuxième temps, il s'agit de déterminer les niveaux de résistance des populations locales de *R. microplus* aux acaricides à La Réunion.

II. MATERIELS ET METHODES

1. Présentation générale de la Réunion

1.1. Géographie

L'île de La Réunion est issue de l'émergence de deux volcans boucliers de l'Océan Indien, le Piton des Neiges et le Piton de la Fournaise. Elle se situe en zone tropicale à 800 km à l'est de Madagascar par 21°05 Sud et 55°30 Est avec l'île Maurice et Rodrigues, elle forme l'archipel (Figure 3).

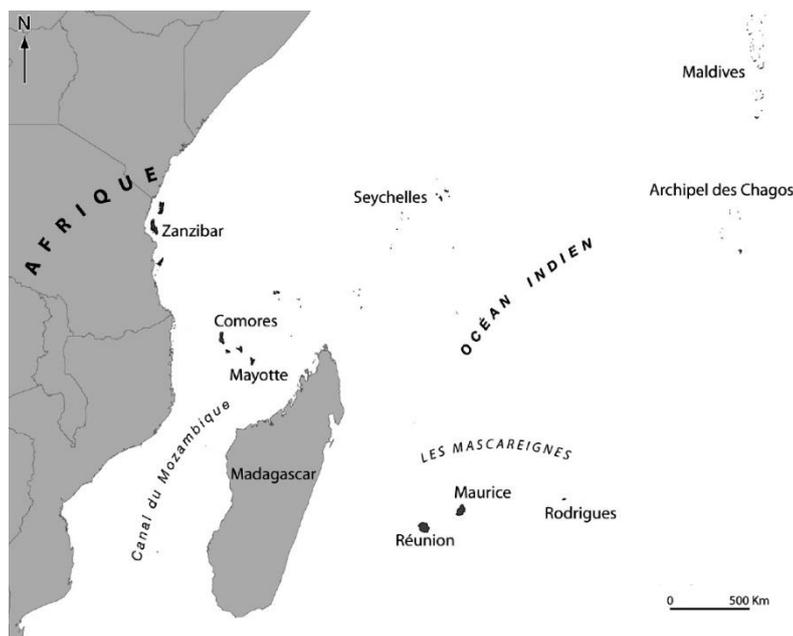


Figure 3: Présentation de l'archipel des Mascareignes et localisation de l'île de la Réunion ((Jean-Michel Jauze, 2009)

1.2. Climat

La Réunion doit son climat tropical contrasté à sa latitude australe, aux influences océaniques et à ces différences d'altitude importantes allant de 0 à 3069 m. Deux saisons se démarquent, l'hiver austral ou saison fraîche et sèche et l'été austral ou saison des pluies. L'hiver austral, de mai à octobre, est sous la dominance de l'anticyclone de l'Océan Indien qui engendre un régime d'alizés frais avec des vents d'est dominants. L'été austral, de décembre à avril, est caractérisé par un rapprochement des basses pressions équatoriales vers la Réunion et perturbent

le flux d'alizés entraînant de fortes précipitations (jusqu'à 10.000 mm sur les reliefs de l'est) et des vents violents. Ces perturbations peuvent évoluer en cyclone. La côte est ou côte au vent, est très exposée aux alizés et très humide tout au long de l'année. La côte ouest ou côte sous le vent, protégée par les reliefs élevés du centre de l'île subit une saison sèche plus marquée. Toutefois, ces tendances sont modifiées par les variations d'altitude. Ainsi la zone littorale subit un climat tropical avec des températures moyennes annuelles élevées de 23 à 26°C. Puis, entre 1000 et 2000 m une zone de plus en plus tempérée prend le relais avec des températures moyennes annuelles voisines de 12-17°C. C'est dans cette zone qu'est centralisée la majorité de l'élevage.

1.3.Végétation

La végétation est répartie par zone altitudinale, mais également en fonction de son orientation (côte sous le vent ou au vent) pour les zones de basse altitude. A l'ouest (côte sous le vent) on retrouve une zone de savane due à la faible pluviométrie et aux températures élevées. Puis, des étagements successifs de forêt sèche à humide se succèdent en fonction de l'altitude. Au-dessus de 1900 à 2000 m d'altitude apparaît une végétation de type éricoïde. Les zones agricoles ont peu à peu pris le pas sur ces forêts. A l'exception des zones à forte contrainte, la bande 0-500 m pour le nord, l'est et le sud et la bande 300-1000 m à l'ouest est plus particulièrement réservée à la culture de la canne à sucre. A l'ouest, entre 800 et 1500 m, on retrouve la zone de culture du géranium (*Geranium rosat*), plante à parfum en déclin, ainsi que des cultures maraîchères.

Il existe trois grands types de prairies à l'île de La Réunion. Jusqu'à 800m environ, on retrouve des prairies tropicales constitués de Graminées tropicales tels que le Chloris (*Chloris Gayana*), le Setaria (*Setaria Anceps*), ou encore, les Brachiarias (*B. decumbens*, *B. ruziziensis*, *B. humidicola*). De 600 à plus de 1900m on retrouve des prairies des hauts constitués majoritairement de (*Cenchrus clandestinum*). Originaire des hauts plateaux du Kenya, cette graminée est surtout présente dans les Hauts de l'ouest. Au-dessus de 800m, on distingue des prairies contenant des graminées tempérées telles que le Ray-Grass (*Lolium multiflorum* ou *Lolium hybridum*), le Brome (*Bromus catharticus*), le Dactyle (*Dactylis glomerata*), la Fétuque (*Festuca arundinacea*), la Flouve odorante (*Anthoxantum odoratum*), ou encore, la Houlque laineuse (*Holcus lanatus*) (Lorre, 2019).

Notre zone d'étude correspond aux zones pastorales de l'île d'altitude supérieure (783 et 1370 mètres), principalement des zones prairiales où l'élevage bovin viande s'est développé.

1.4. Elevage bovin à La Réunion

Il existe deux principaux types d'élevages bovins à la Réunion : l'élevage bovin viande et l'élevage bovin laitier. Le cheptel bovin comptait en 2020, 27 200 bovins dont 2500 vaches laitières et 8400 vaches allaitantes (DAAF, 2020).

❖ Elevage bovin viande

Il existe deux principaux acteurs de la filière bovin viande : la SICA REVIA (Société d'Intérêt Collectif Agricole Réunion Viande) et les éleveurs indépendants.

La SICA REVIA est l'unique coopérative regroupant les éleveurs de bovins de la filière viande. Elle a compté en 2020, 337 adhérents (Agreste, 2021a). Elle assure à elle seule 94% de la viande bovine locale. On y retrouve :

- ✚ Des élevages naisseurs, majoritairement situés Hauts de l'Ouest et à la Plaine des Cafres, les deux zones ayant les plus fortes densités bovines (Figure 4). Les animaux sont élevés en pâturage et les broutards provenant de ces élevages sont vendus à des ateliers d'engraissement situés dans les bas, où les animaux sont nourris à l'auge (Choisis et al., 2009) ;
- ✚ Des élevages engraisseurs : ils sont retrouvés en majeurs parties dans les bas, dans des exploitations qui possèdent pour la plupart d'entre elles une activité cannière car bénéficiant d'un potentiel herbager dû à l'irrigation ;
- ✚ Des élevages naisseurs / engraisseurs qui pratiquent à la fois des activités de naissance et d'engraissement.

Les éleveurs indépendants quant à eux sont nombreux (environ 800), mais la taille de leur cheptel est très réduite, moins de 5 bovins en moyenne. Ils ne représentent que 6 % de la production de viande bovine locale (Agreste, 2021a).

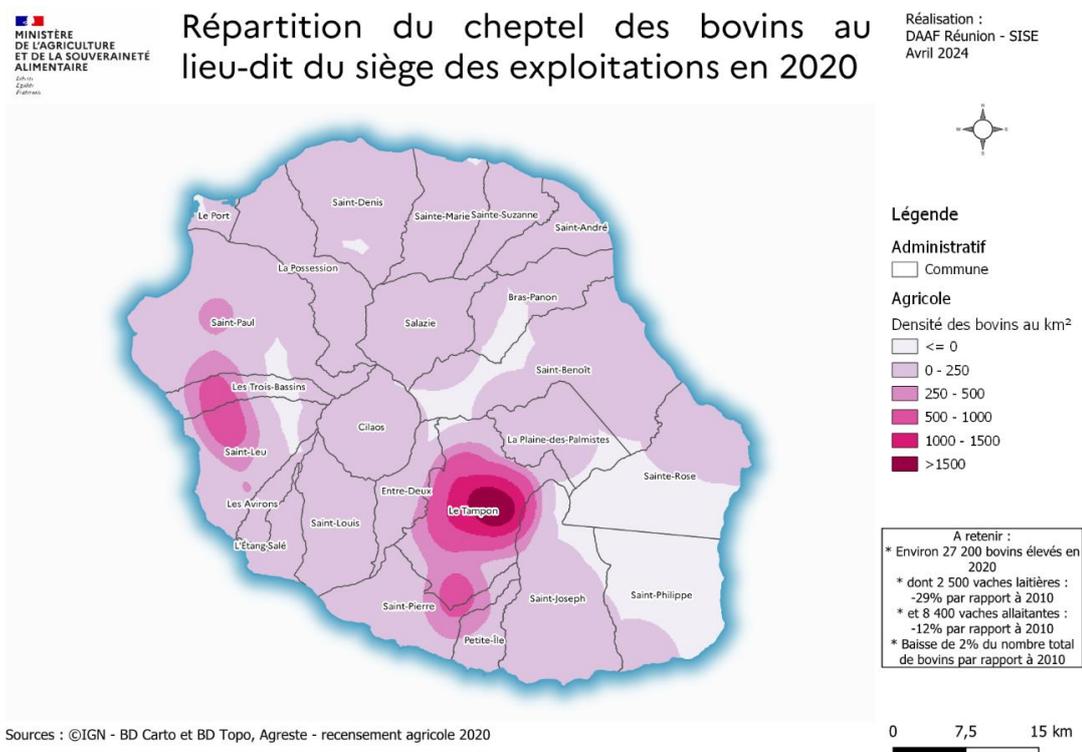


Figure 4: Répartition du cheptel des bovins sur l'île de La Réunion (DAAF, 2020)

❖ **Elevage bovin Laitier**

Les bovins sont élevés en stabulation avec généralement des aires d'exercices sur lesquelles les bovins sont laissés durant la journée. Il existe également des exploitations qui mettent les génisses au pâturage avant de les remettre en stabulation lorsqu'elles sont prêtes à produire du lait. La filière laitière regroupait en 2021, 59 éleveurs au sein d'une coopérative, la SICA-LAIT, qui assure la totalité de la production laitière de l'île (Agreste, 2021b).

2. Population d'étude et échantillonnage

L'étude a été réalisée sur les élevages bovins allaitants et un élevage laitier. Les éleveurs qui ont participé à notre étude sont pour la plupart des éleveurs qui ont suivi en amont de l'étude des formations organisées par le GDS dans le cadre d'un appui technique individuel pour la gestion des problèmes liés aux vecteurs et qui ont signalés des infestations de leurs pâturages par les tiques. Le choix des élevages était étroitement lié à la motivation des éleveurs, à leur implication dans l'étude et à l'accessibilité de leurs sites. Les éleveurs participant à cette étude ont donné leur consentement en signant une autorisation d'accès à leur exploitation et de collecte d'échantillon (Annexe 1). Les exploitations d'étude étaient situées entre 783 et 1370 mètres d'altitude.

3. La collecte de tiques femelles gorgées

L'objectif de collecte était de prélever 10 à 15 tiques femelles gorgées minimum sur au moins cinq animaux pour optimiser la représentativité de la population de tiques au sein du troupeau. Pour cela, à chaque visite d'élevage, les bovins du troupeau étaient rassemblés pour l'occasion puis toute tique gorgée était prélevée sur les animaux en contention (couloir de contention). Les tiques gorgées ont été retrouvées au niveau des oreilles, de l'encolure, du fanon, des plis axillaires et inguinaux, du ventre, de la mamelle, du périnée et de la queue. Après collecte, les tiques ont été placées dans des tubes de prélèvement secs munis des trous d'aération. Un code d'identification a été inscrit sur les tubes pour chaque exploitation ou chaque lot (si plusieurs lots provenaient d'une même exploitation). Les tubes ont ensuite été acheminés au laboratoire du CIRAD/CYROI pour les tests acaricides. Une enquête a été faite sous forme de questionnaire (Annexe 2) auprès des éleveurs afin d'identifier les pratiques d'élevage en lien avec les acaricides. La localisation de chaque troupeau (coordonnées GPS) et les données issues des enquêtes ont été enregistrées dans l'application KoBoCollect®.

4. Evaluation des résistances des tiques aux acaricides : de la collecte au laboratoire du CIRAD/CYROI

Afin d'évaluer la résistance aux acaricides, nous avons utilisé la méthode du Larval Tarsal Test en suivant et adaptant aux conditions du laboratoire CIRAD/CYROI le protocole

de Léonore Lovis (Lovis *et al.*, 2011) (Figure 5 et annexe III pour le protocole détaillé). Les composés acaricides qui ont été testés sont ceux retrouvés dans les formulations utilisées actuellement ou historiquement sur l’île de la Réunion : amitraz (amidine), phoxim et coumaphos (organophosphoré), fluméthrine et deltaméthrine (pyréthrinoïdes de synthèse), ivermectine et eprinomectine (Lactone macrocyclique).

Les tiques gorgées ont été réceptionnées à la salle Insectarium du CIRAD pour les mettre dans les conditions favorables à la ponte des œufs. Une fois passées sous l’eau afin d’enlever tous débris potentiels, elles ont été déposées dans l’étuve, à une température de 28 \pm 2°C et une humidité entre 75 et 85% dans une boîte de pétri en verre tapissée de sopalin sans le couvercle mais recouverte d’une moustiquaire tenue par un élastique. Cette étape dure en général 2 à 3 semaines. Entre 14 jours et 17 jours après la collecte des femelles gorgées, nous avons procédé à la préparation des plaques qui seront utilisées pour les tests acaricides dans le laboratoire dédié. La réalisation optimale du LTT nécessite 3 réplicats par composé acaricide pour chaque dilution (12 dilutions au total). Deux semaines environ après la ponte, les œufs ont été mélangés avec du talc puis séparés avant d’être disposés dans des puits (50 œufs par puits) des plaques de 96 puits préalablement imprégnés d’acaricides (1 ligne pour 1 acaricide, 1 puit pour 1 dilution) (Figure 6). Une partie des œufs a été gardée comme témoin dans un tube en verre fermé avec du coton (sans séparation des œufs), pour lequel on évaluera le pourcentage d’éclosion en conditions normales afin de comparer avec les plaques testées en cas de forte mortalité dans les lignes contrôle. Les plaques et le lot témoin ont ensuite été mises dans l’étuve à 80-90% d’humidité relative durant 3 semaines puisqu’il faut 1 semaine pour avoir toutes les larves écloses et 2 semaines de contact des larves avec l’acaricide. Selon le protocole, l’évaluation de la mortalité se fait 38 à 40 jours après la collecte des tiques.

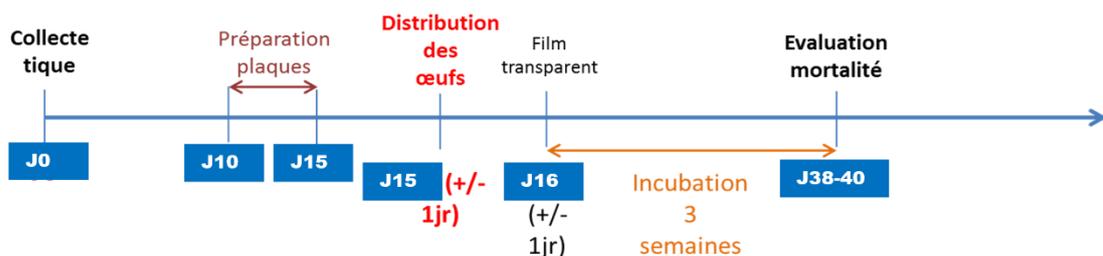


Figure 5: Protocole du LTT, de la collecte des tiques à la lecture des plaques

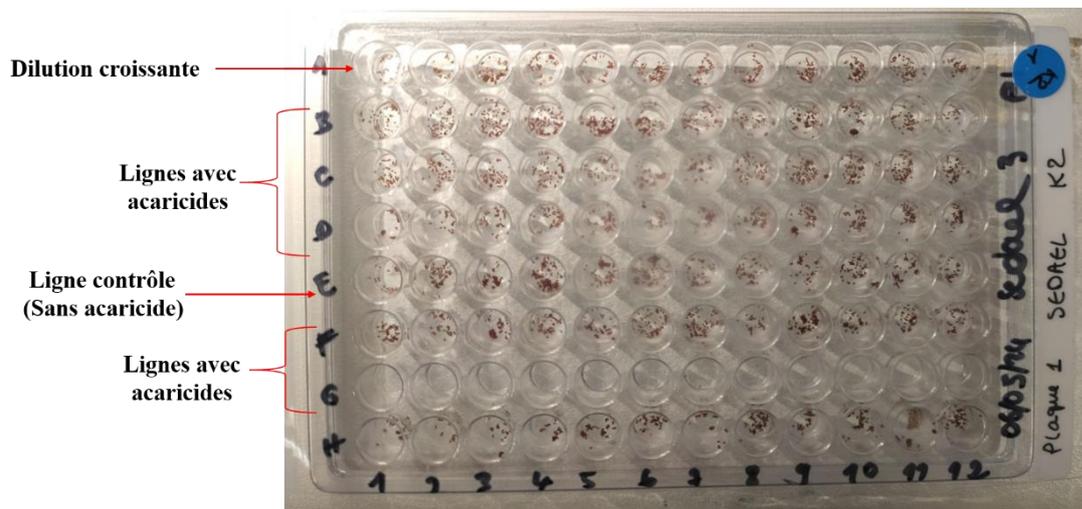


Figure 6: Plaque de 96 puits correspondant à un répliquat. Crédit : CIRAD

5. Méthode d'estimation de l'infestation en larves de tiques et évaluation du couvert végétal

5.1. Estimation de l'infestation en larves de tiques dans les prairies

L'estimation de l'infestation en larves de tiques dans les prairies a été réalisée sur 13 parcelles réparties au sein de 8 exploitations (Tableau 1, Figure 7). Il s'agissait des parcelles qui ont été indiquées par les éleveurs en fonction de leur niveau d'infestation ou de la présence des bovins.

Tableau 1: Localité et altitude des parcelles échantillonnées

Localité	Code parcelle	Altitude (m)
Saint-Leu	CHL_PMY_C	1080
Saint-Leu	CHL_HB_P	1068
Saint-Leu	CHL_PMJ_A	1085
Saint-Leu	CHL_PMJ_C	1093
Saint-Leu	CHL_LV_CB	1295
Saint-Louis	SL_GA_P	1203
Saint-Louis	SL_GA_T	1370
Saint-Pierre	SP_SD_A	863
Saint-Pierre	SP_SD_H	1103
Saint-Pierre	SP_SD_M	783
Le Tampon	TAMP_HJB_R	1012
Le Tampon	TAMP_HJB_A	992
Saint-Paul	SP_HC_O	1131

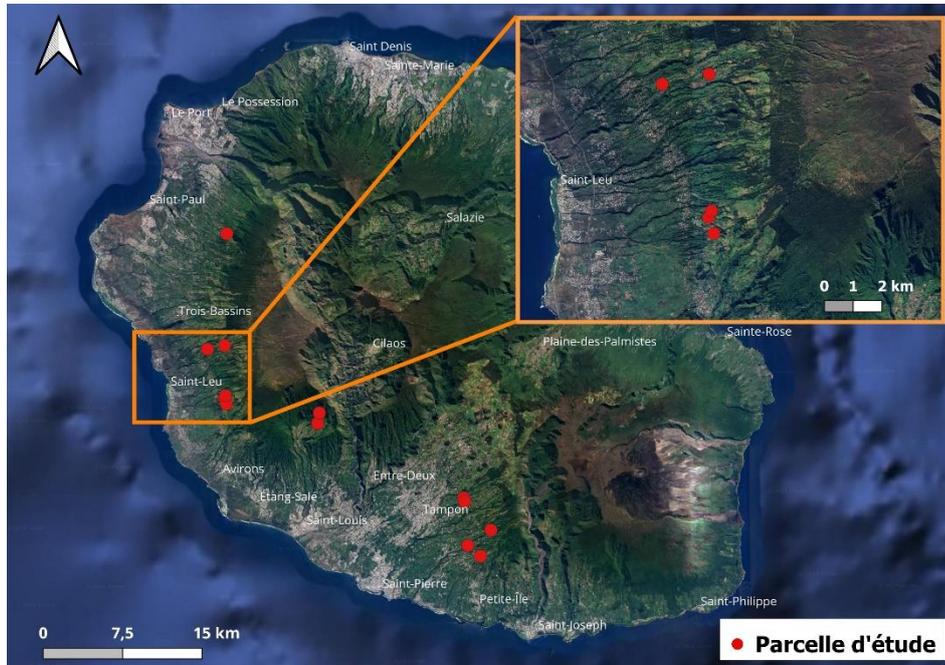


Figure 5: Carte de répartition des parcelles d'étude

L'estimation de l'infestation en tiques dans les prairies repose sur une méthode d'échantillonnage par passage de drapeau. Cette méthode a été développée par MacLeod (1932) et permet de collecter les larves de tiques au cours de leur phase libre durant leur recherche d'hôtes. Le drapeau est composé généralement d'un tissu de couleur claire et tendue aux extrémités avant et arrière par deux bâtons. Le drapeau est trainé à la surface de la végétation à faible vitesse imitant ainsi le passage d'un hôte et permet d'accrocher les larves de tiques au cours de leur quête.

Dans le but de pouvoir déterminer les niveaux d'infestations en tiques dans la prairie, des transects parallèles de 25 m, espacés de 50 m ont été tracés à l'aide d'un logiciel d'édition d'image (Microsoft Paint ou photoshop) sur des photographies aériennes des parcelles prises sur le site Géoportail (Figure 8). La délimitation des transects sur le terrain s'est faite par une corde de 25 m qui a servi de mètre.



Figure 8: Photographies aériennes d'une parcelle avec des transects prévisionnels de 25 mètres



Figure 9: Préleveur trainant un drapeau pour récolter des tiques (Crédit photo : CIRAD)



Figure 10: Comptage des larves (Crédit photo : CIRAD)

Les passages de drapeaux (quadrillé avec 80 carrés de 10 cm de côté) ont donc été réalisés tout au long de la corde de 25 m (Figure 9). Chaque transect a été espacé de 50 m. Le drapeau a ensuite été inspecté afin de compter le nombre de larves collectées (Figure 10). En fonction de la topographie et des obstacles rencontrés, des passages peuvent être décalés de quelques mètres. Des cartes d'infestations sur chaque parcelle d'étude ont été réalisées à l'aide d'un outil de SIG (Système d'Information Géographique) QGIS (QGIS Version 3.36) (Annexe 4). Dans le cadre de mon stage, les données utilisées pour les analyses statistiques sont celles du premier passage de drapeau couvrant la période du 12 Mars 2024 au 02 Mai 2024.

5.2. Evaluation du couvert végétal

L'évaluation du couvert végétal a été réalisée en suivant la méthode des points-quadrat de la canne pointue développée par (Evans, R. et Love, M, 1957). L'observateur fait une marque à la pointe d'un de ses souliers et dispose d'une canne pointue ou d'une longue tige acérée. Tous les deux à trois pas, il pique sa canne dans le sol en suivant la marque de son soulier. Les espèces en contact avec la canne sont ensuite répertoriées et comptées. Cette méthode a été adaptée au cours de notre étude. En effet, la corde de 25 m qui a servi d'outil de mesure pour la délimitation des transects a été marquée par 25 points espacés d'un mètre. Les espèces d'herbes à la verticale de chaque point rouge ont été identifiées (Figure 11) à l'aide d'une fiche d'identification des espèces herbacées fourragères réalisée par l'ARP (Annexe 5) ou en utilisant l'application PlantNet sur smartphone. Le nombre de présence de chaque espèce a été relevé tout au long des 25 points et renseigné sur la fiche de collecte (Annexe 6).

6. Notion de la sole fourragère

À chaque passage de drapeau réalisé, une notation visuelle de la sole fourragère environnante a été réalisée. Cette notation repose sur la méthode développée par Gilibert (Gilibert and Mathieu, 1997) dans le but de fournir des indicateurs d'état des prairies et ainsi fournir une aide à la décision pour leur gestion. Cette méthode a été reprise par le GDS Réunion pour essayer de faire le lien entre l'état de la sole fourragère et l'abondance des tiques. La notation de l'état de la prairie a été faite sur la base de 06 indicateurs (Annexe 7) :

- ❖ Le recouvrement, qui note le degré de couverture au sol par la végétation ;
- ❖ La propreté, qui tient compte de l'importance de la présence des mauvaises herbes (adventices) ;
- ❖ L'homogénéité, qui apprécie la présence de refus dans le couvert de fourrage (stricto sensu)
- ❖ La hauteur, qui note la hauteur moyenne du tapis fourrager en place sans tenir compte des refus et mauvaises herbes ;

- ❖ La densité fourragère qui représente la part d'implantation des plantes fourragères exclusivement ;
- ❖ La qualité s'appuie sur le stade physiologique et accessoirement sur l'état sanitaire et l'état de la fraîcheur des plantes fourragères.

Les notes attribuées varient de 0 à 3 avec la possibilité d'utiliser les demi-points. La hauteur des espèces fourragères a également été prise à l'aide d'un herbomètre (Figure 12).

La notation de l'état des prairies a également été réalisée en utilisant la grille de l'Association Réunionnaise de Pastoralisme (ARP). Cette notation est basée sur 4 indicateurs (abords, pente, surface en herbe, propreté) avec des notes allant de 1 à 5 (Annexe 7) :

- ❖ Les abords : pour noter la productivité des abords des parcelles. Ce paramètre permet de noter la présence ou non des arbustes, adventices ou déchets au niveau des abords des parcelles.
- ❖ La pente : pour tenir compte de la présence de pentes sur les parcelles et si elle est importante ou pas
- ❖ La surface en herbe : qui note le degré de recouvrement au sol par la végétation ;
- ❖ La propreté qui tient compte de l'importance de la présence des mauvaises herbes.



Figure 11: Identification d'espèce d'herbe, Source (CIRAD)



Figure 12: Mesure de la hauteur d'herbe en utilisant un herbomètre, Source (CIRAD)

7. Relevés de paramètres environnementaux

Afin d'appréhender les phénomènes influençant la présence des tiques dans le milieu naturel, un ensemble de variables potentiellement explicatives ont été collectées telles que les données liées aux conditions abiotiques (température et l'hygrométrie de l'air et au sol, la couverture nuageuse, vent, pluie, l'état du sol, les acaricides utilisés pour traiter les bovins). Les données liées aux conditions biotiques telles que la repousse des herbes, la présence et l'âge des bouses de bovins sur les pâturages ont également été collectées. A défaut d'avoir les dates d'entrées et de sorties des bovins dans une parcelle, ces deux derniers paramètres donnent en effet un indice sur le moment où un troupeau a fréquenté la parcelle visitée. Nous avons

également enregistré des données structurelles telles que la date et l'heure du passage de drapeau dans les pâtures et les coordonnées géographiques (latitude et longitude) des différents pâturages ont été obtenues à l'aide d'un GPS.

8. Analyse statistique

Les divers calculs et ajustements ont été effectués grâce au logiciel « R » (version 4.2.2), accessible sur le site : <http://cran.r-project.org/>.

8.1. Présélection et transformation des variables

Les variables explicatives ont fait l'objet d'une sélection préalable et/ou d'une transformation pour la construction d'un modèle. Au sein de chaque variable catégorielle, une modalité présentant moins de 5 occurrences a été regroupée avec une modalité proche si et seulement si ce regroupement conduit à une nouvelle modalité cohérente. Par exemple pour la variable « vent », la modalité « Vent moyen » a été observée que 2 fois. Elle a donc été regroupée avec « Vent léger » pour en faire une nouvelle modalité « léger_moyen » qui pourrait se traduire par « présence de vent ». Lorsque le regroupement n'est pas possible, tel est le cas pour les variables catégorielles à 2 modalités, ou ne peut conduire qu'à une nouvelle modalité incohérente, la variable est écartée de l'analyse.

Les espèces herbacées qui entrent en considération dans l'analyse statistique ont aussi été sélectionnées en fonction de leur productivité. Pour chaque espèce recensée lors de l'évaluation du couvert végétal, nous avons calculé la fréquence centésimale de chaque espèce (i) ou (FCi) et la contribution spécifique de chaque espèce (i) (CSi). La fréquence centésimale d'une espèce (FCi) a été exprimée par le rapport en pourcentage entre la fréquence spécifique d'une espèce, c'est-à-dire le nombre de points sur lesquels l'espèce (i) est observée (FSi), et le nombre total (N) de points observés. Elle constitue une mesure du recouvrement de l'espèce :

$$FCi = (FSi / N) * 100$$

La contribution spécifique (CSi) est le rapport exprimé en pourcentage entre la fréquence centésimale d'une espèce et la somme des fréquences centésimales de toutes les espèces :

$$CSi (\%) = (FSi / \sum(FSi)) * 100$$

La CSP traduit la participation de l'espèce à la couverture de la surface du sol. Selon les travaux de Daget et al (2010), les espèces d'herbes très productrices ont une CSP > 5% et celles productrices ont une CSP > 1%. Nous avons calculé la CSP global de toutes les espèces sur l'ensemble des transects et seules les espèces productrices, c'est à dire avec un CSP > 1%, ont été considérées dans nos analyses statistiques. Par ailleurs, les espèces recensées sur moins de 5 transects ont également été écartées de l'analyse.

8.2. Analyse de la structuration des prairies par les espèces productrices

Une analyse de la structuration des prairies visitées a été réalisée à l'aide du package FactoMineR (Lê et al., 2008) à travers deux Analyses en Composantes Principales (ACP). La première ACP tient compte des fréquences centésimales des espèces productrices dans le but de décrire la variabilité des prairies dans leur recouvrement. La seconde ACP tient compte des contributions spécifiques pour décrire la variabilité des associations d'espèces productrices à la couverture de la surface du sol. La variable à expliquer qui reprend le nombre total de larves de tiques observées par transect et suivant une transformation $\text{Log}_{10}+1$, a été projeté sur chaque ACP sans contribuer à sa construction.

A la suite de chaque ACP, une classification ascendante hiérarchique (CAH) a été réalisée pour caractériser les groupes de prairies rencontrées. Avec la projection de la variable à expliquer sur les ACP, la classification permet de voir si l'abondance en larves de tique est associée ou non à un groupe de prairies.

8.3. Choix du modèle à utiliser pour la détermination des paramètres susceptibles d'influencer l'abondance des larves de tiques

Dans un premier temps, une analyse graphique a été menée sur la variable à expliquer « nombre total de larves de tique par transect ». Cette analyse graphique montrant une distribution analogue à une courbe exponentielle, une transformation $\text{Log}_{10}+1$ de la variable à expliquer a été considérée pour la modélisation.

Concernant le choix du modèle, l'usage oriente vers la réalisation d'un Modèle Linéaire Généralisé (GLM) ou une de ses variantes selon les données. S'agissant de données de comptage (nombres entiers non négatifs), un GLM suivant une loi de Poisson est en premier lieu indiqué. Toutefois, une surdispersion des données de la variable à expliquer, transformé ou non, suggère plutôt un modèle suivant une loi Négative Binomiale. Au-delà de ces aspects, la variable à expliquer présente un nombre important de zéros d'observation et qui ne peuvent être négligés. Aussi, la répétition des mesures dans chaque parcelle oriente vers des GLM mixtes.

Les modèles mixtes qui doivent considérer un nombre important de zéros d'observation sont complexes et nécessitent de disposer d'un jeu de données de taille conséquente, ce qui n'est pas le cas ici. Nous avons donc opté pour un modèle alternatif qui est la méthode d'apprentissage automatique Random Forest (forêts aléatoires).

Le Random Forest ou Forêt aléatoire est une méthode d'apprentissage automatique qui utilise plusieurs arbres de décision aléatoires pour faire des prédictions, ce qui permet d'améliorer la précision et de rendre le modèle plus robuste.

Les études de M. De Clercq en 2015 ont démontrés que le Random Forest s'est avéré très performant pour prédire la distribution de la tique *R. microplus* dans certaines parties de

l'Afrique de l'Ouest. La modélisation par Random Forest ne nécessite pas que les données suivent une loi de distribution spécifique (Iranzad and Liu, 2024) et n'est pas sensible à la colinéarité des variables comme dans les GLMs (Gregorutti et al., 2017). Le Random Forest est également une bonne alternative pour pallier les problèmes de surdispersion de données en particulier dans les contextes écologiques (Sidumo et al., 2024) et de l'abondance des zéros (Garcia-Marti et al., 2019). Cette alternative serait ainsi adaptée pour déterminer les facteurs pouvant influencer l'abondance des larves de tiques. Il existe toutefois une limite qui est que le Random Forest ne peut traiter les variables contenant des données manquantes. De telles variables ont donc été complétées avec des données obtenues antérieurement à l'étude.

Pour effectuer la modélisation par Random Forest, une présélection des variables explicatives a été réalisée en fonction de leur importance à l'aide de la fonction « boruta » du package Boruta (Kursa and Rudnicki, 2010). En effet, certaines variables peuvent n'expliquer aucunement l'abondance des larves de tiques dans les prairies. Une présélection permet ainsi de diminuer le bruit qu'elles peuvent engendrer dans le modèle Random Forest. Enfin, le modèle a été établi avec la fonction « randomForest » du package du même nom (Liaw and Wiener, 2002).

III. RESULTATS

1. Evaluation des résistances des tiques aux acaricides

Sur les 8 exploitations d'études, les enquêtes ont été menées sur 3 élevages bovins viande et un élevage bovin laitier. Parmi les 8 exploitations, les tiques femelles gorgées ont été collectées dans 03 élevages bovins viande et les tests acaricides ont été réalisées sur ces élevages. Cependant, nous n'avons pas pu compter le nombre de larves vivantes et de larves mortes afin d'évaluer la mortalité parce qu'un nombre conséquent d'œuf n'ont pas éclos (Figure 13a, Figure 13b). Toutefois on note une éclosion de la quasi-totalité des œufs du lot témoin (Figure 14a, Photo 14b).



Figure 13a: Observation d'éclosion des œufs à la loupe (Source : CIRAD)

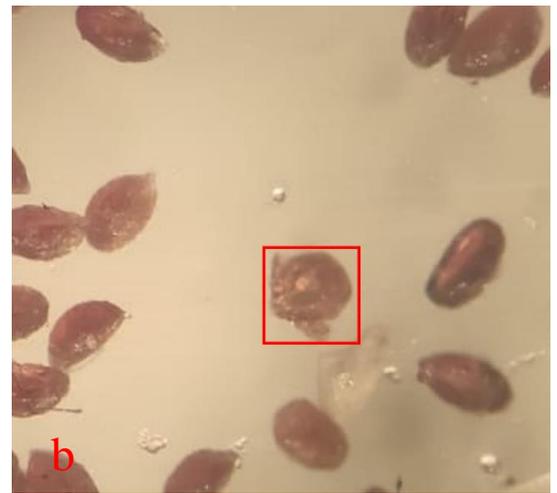


Figure 6b: Plan sur la larve de tique (Source : CIRAD)

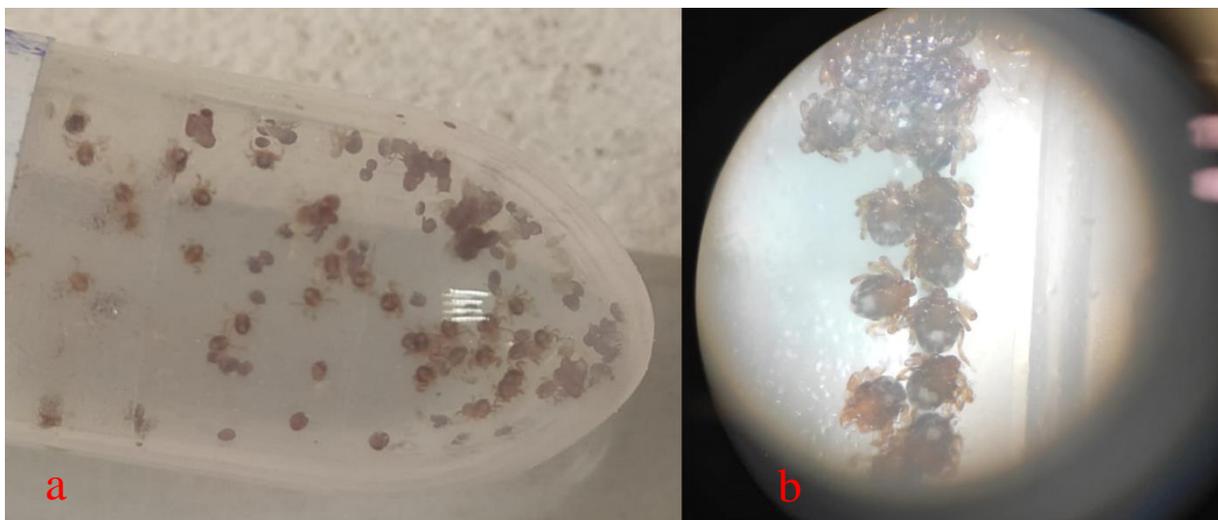


Figure 14: a) Eclosion dans le lot témoin b) Plan sur les larves de tiques dans le lot témoin (Source : CIRAD)

2. Estimation de l'infestation en larves de tiques et évaluation du couvert végétal

2.1. Estimation de l'infestation en larves de tiques dans les prairies

Sur l'ensemble des parcelles d'étude, les passages de drapeau pour la collecte des larves de tiques ont été faits sur 98 transects. Sur l'ensemble, 57 transects étaient positifs (58,2%) et un total de 8581 larves de tiques ont ainsi été collectées. La collecte moyenne est alors de 87.6 (± 326.8) larves de tiques. En ne tenant compte que des transects positifs, la collecte moyenne se situe à 150.5 (± 418.8) larves de tiques. Sur la majorité des transects les niveaux d'infestation sont généralement compris entre 1 et 100 larves de tiques (Figure 15). En effet, moins de 13 larves de tiques ont été collectées sur 50% des transects positifs et moins de 92 larves de tiques sur 75% d'entre eux. On note une abondance supérieure à 500 larves de tique par collecte sur 6 transects et avec un maximum observé à 2552 individus (Figure 16).

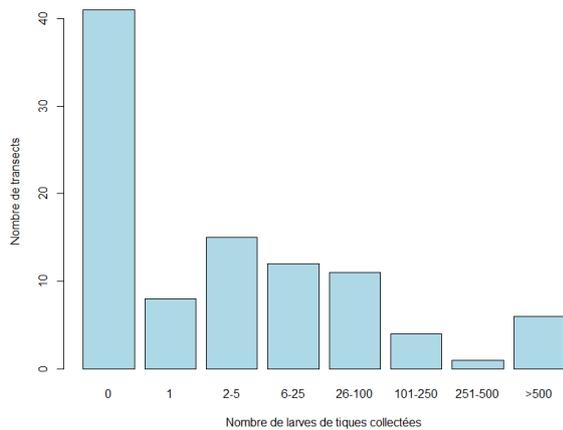


Figure 15: Distribution des larves de tiques

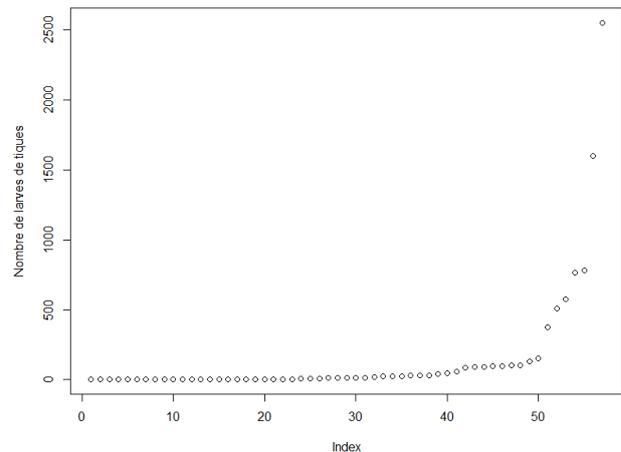


Figure 16: Distribution croissante du nombre de tiques collectées par drapeau positif tiques

2.2. Evaluation de la variabilité du couvert végétal sur les transects de l'étude

2.2.1. Structuration et variabilité du recouvrement par les espèces herbacées

🌱 Variabilité du recouvrement des prairies par les espèces herbacées

Sur les 2450 points d'observation (98 transects * 25 points d'observation par transect), l'espèce *Cenchrus clandestinus* est celle qui recouvre le plus l'ensemble des prairies visitées avec une fréquence centésimale (FC) de 75.9% (Figure 17). *Sporobolus africanus* se place en seconde position avec un recouvrement ou FC de 16% des points d'observation, suivi de *Cyperus brevifolius* (FC = 9.4%) et de *Paspalum dilatatum* (FC = 8.7%). Les autres espèces ont une FC inférieure à 6.6%.

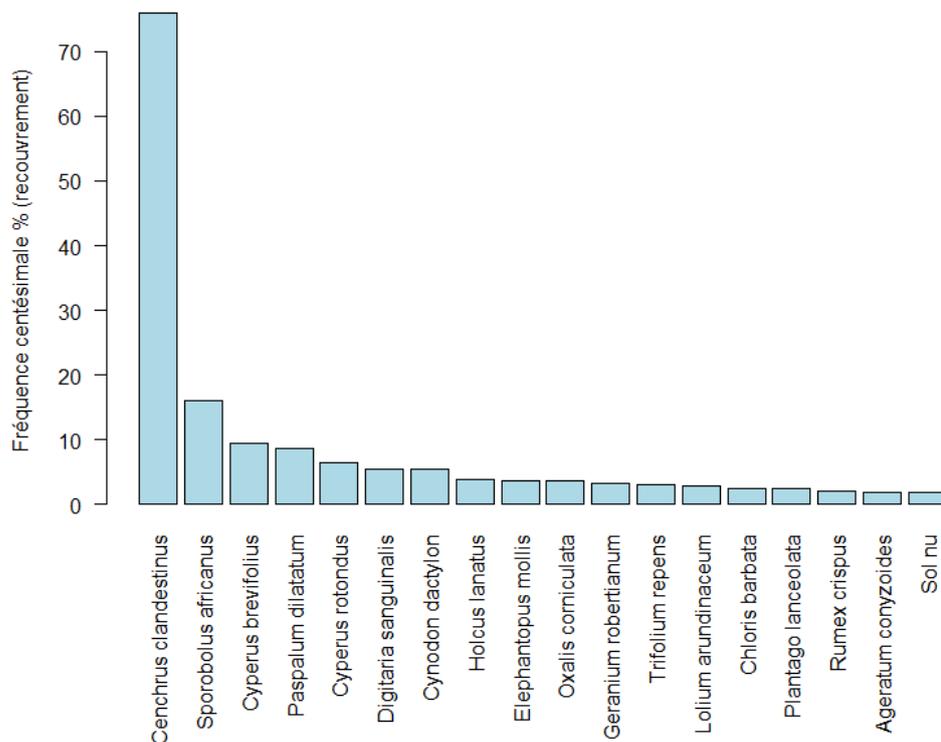


Figure 17: Recouvrement des espèces productrices sur l'ensemble des prairies visitées

✚ ACP pour la recherche des espèces représentatives du recouvrement végétal des prairies visitées.

Les 3 premiers axes de l'ACP utilisées pour nos interprétations expliquent 48% de la variabilité du recouvrement végétal par les espèces productives sur les prairies d'études (Figure 18). Cette variabilité est principalement structurée par 3 groupes d'espèces herbacées. L'espèce la plus explicative de cette variabilité est *Paspalum dilatatum* à laquelle s'associe *Cyperus rotundus*. Le deuxième groupe d'espèces est centré autour d'*Elephantopus mollis* et comprend également *Ageratum conyzoides*, *Geranium robertianum* ou *Holcus lanatus*. Enfin, on retrouve un groupe autour de *Rumex crispus* en association avec *Lolium arundinaceum*, *Sporobolus africanus*, ou encore, *Trifolium repens*. Ces trois groupes d'espèces ne s'oppose pas entre elles. En d'autres termes, cela veut dire que la forte présence d'un groupe d'espèce n'influe pas sur le niveau de présence d'un autre. Concernant *Cenchrus clandestinus*, l'espèce la plus recouvrante des prairies visitées, on constate qu'elle n'est finalement pas la plus explicative de la variabilité du recouvrement végétal mais ressort être en opposition avec les prairies à forte présence en *Paspalum dilatatum*.

La structuration de la variabilité du couvert végétal par les différents groupes d'espèces permet de distinguer 4 classes de recouvrement végétal observé sur les transects, ceci grâce à la classification hiérarchique ascendante. Trois des 4 classes est chacune caractérisée par un recouvrement plus important par une des trois espèces structurantes de la variabilité que sont *Paspalum dilatatum*, *Rumex crispus* et *Elephantus mollis*. La 4^{ème} classe concerne les transects

à plus fort recouvrement en *Cenchrus clandestinus*. Avec la projection de la variable à expliquer sur l'ACP, on note que cette 4^{ème} classe est positivement associée à une infestation en larve de tique.

valeurs propres (inerties ou variances de chaque composante) en %

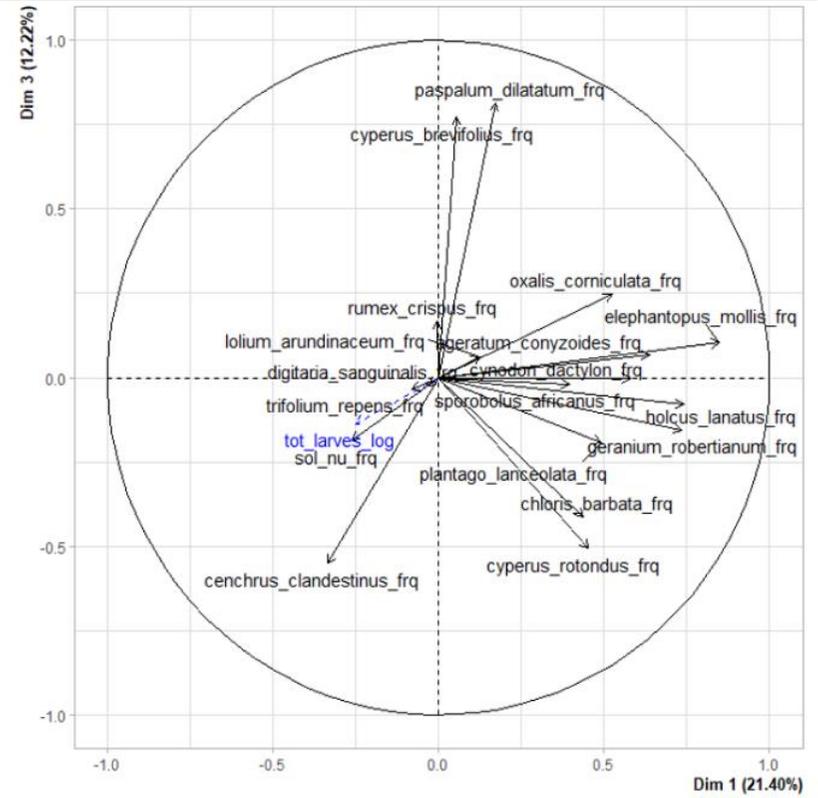
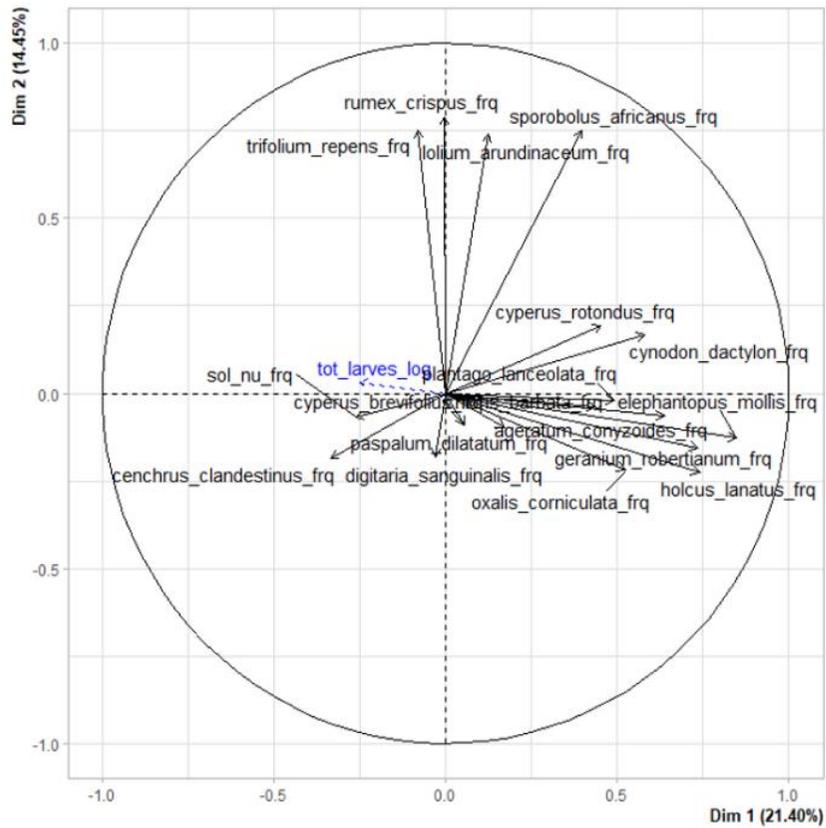
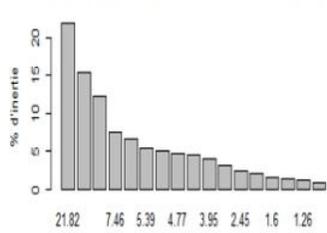


Figure 18: Analyse en composantes principales pour la structuration ou variabilité du recouvrement par les espèces productrices

2.2.2. Structuration et variabilité de la contribution des espèces herbacées à la couverture du sol

✚ Variabilité de la contribution des espèces herbacées à la couverture de la surface du sol dans les prairies visitées

Sur un total de 59 espèces herbacées recensées durant l'étude, 18 espèces sont considérées productives, c'est-à-dire ayant un CSP > 1% ou encore qui contribue à plus de 1% à la couverture du sol (Figure 19). Parmi elles, seulement deux sont considérées comme très productives (CSP > 5%). La première est *Cenchrus clandestinus* avec un CSP à 50% et la seconde est *Sporobolus africanus* avec un CSP à 7.95%.

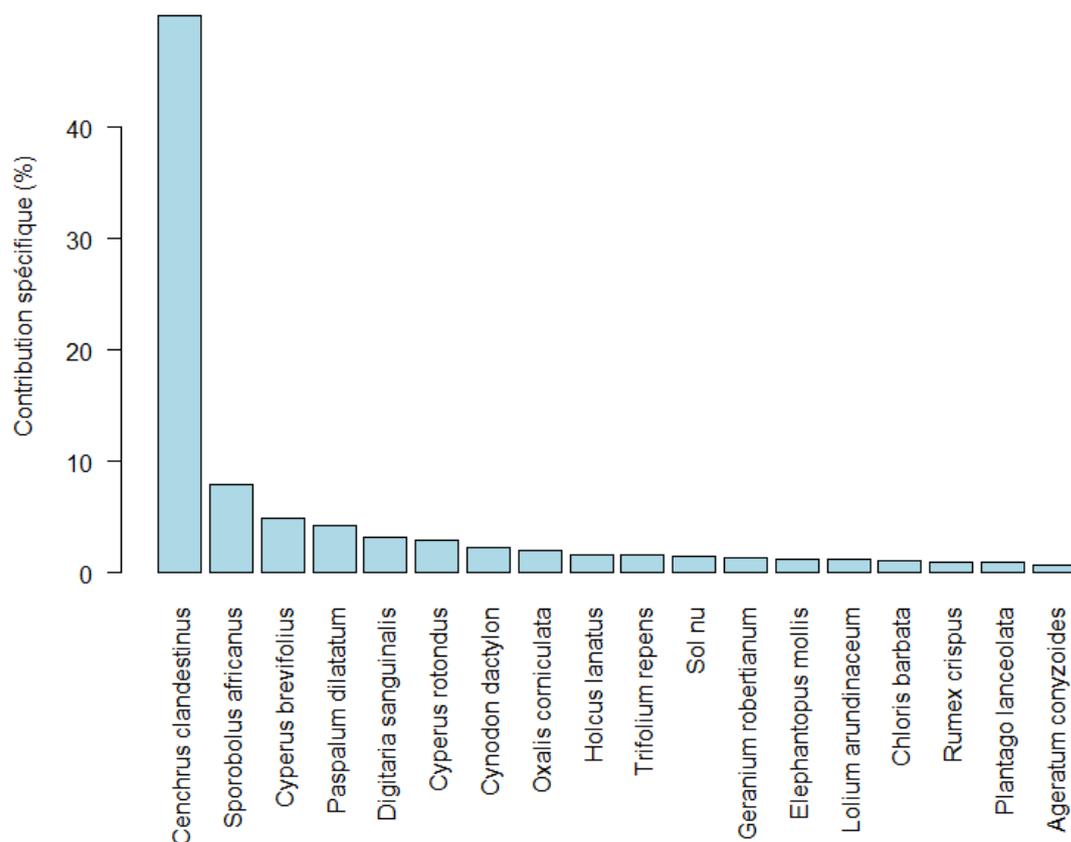


Figure 19: Contribution des espèces productrices à la couverture du sol sur l'ensemble des prairies visitées

✚ ACP pour la recherche des espèces représentatives dans leur contribution à la couverture du sol

Les 3 premiers axes de l'ACP utilisés pour nos interprétations expliquent 40,8% de la variabilité de la diversité végétale par les espèces productives sur les prairies d'études (Figure 20). Cette variabilité est principalement structurée par 3 groupes d'espèces herbacées. L'espèce la plus explicative de cette variabilité est le *Cenchrus clandestinus* à laquelle s'associe des espèces telles que *Holcus lanatus* et *Oxalis corniculata*. Le deuxième groupe d'espèces est centré autour de *Rumex crispus* et comprend également les espèces telles que *Lolium arundinaceum* et *Sporobolus africanus*. Enfin, on retrouve un groupe espèces centrée autour de *Cyperus rotundus* en opposition avec les

espèces ou *Cyperus brevifolus* et *Paspalum dilatatum* sont présentes. Il en résulte donc que les transects dont la couverture végétale est caractérisée par une forte contribution en *Cyperus rotundus*, le sont moins par *Cyperus brevifolus* et *Paspalum dilatatum* généralement si on considère l'ensemble des transects. Le *paspalum dilatatum* est l'espèce qui explique le plus de variabilité du couvert végétal par sa contribution spécifique.

La structuration de la variabilité du couvert végétal par les différents groupes d'espèces permet de distinguer 4 classes d'espèces qui expliquent la diversité végétale des transects observés, ceci grâce à la classification hiérarchique ascendante. Ces 4 classes sont chacune caractérisée par une contribution plus importante par *Rumex crispus*, *Cenchrus clandestinus*, *Cyperus brevifolius* et *Elephantopus mollis*. Avec la projection de la variable à expliquer sur l'ACP, on note que la classe d'espèces caractérisée par *Cenchrus clandestinus* est positivement associée à une infestation en larve de tique.

En considérant la contribution spécifique dans la couverture de la surface du sol, la présence de *Cenchrus clandestinus* favoriserait fortement une infestation élevée en larves de tiques. La présence des espèces telles que *Elephantopus mollis* et *Geranium robertianum* indiquerait une faible abondance. Les espèces telles que *rumex_crispus*, *Cyperus brevifolius*, *Paspalum_dilatatum*, *Lolium_arundinaceum* et *Sporobolus africanus* seraient défavorables à la présence des larves de tiques ou témoigneraient des parcelles non infestées.

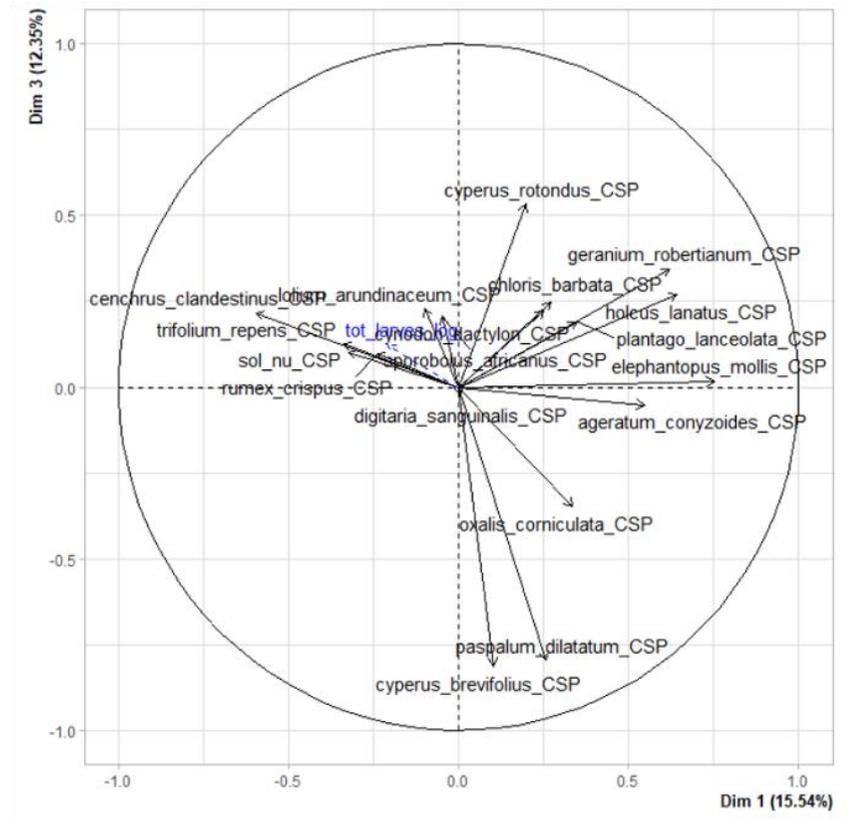
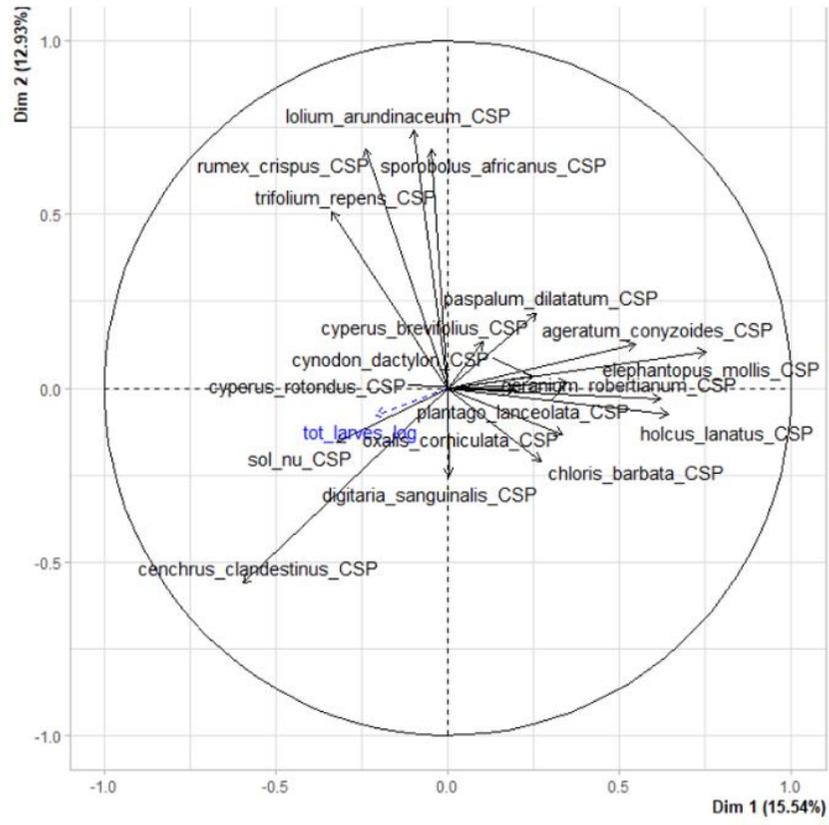
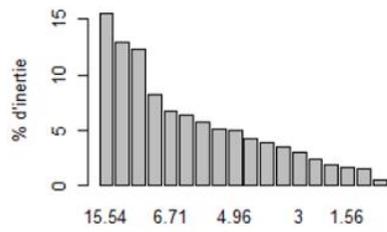


Figure 20: Analyse en composantes principales pour la structuration ou variabilité de la diversité du couvert végétal par les espèces productrices

3. Détermination des paramètres expliquant l'abondance des larves de tiques

Sur 60 variables explicatives considérées pour l'analyse des paramètres influençant l'abondance des larves de tiques dans les prairies, 22 sont considérées comme ayant une importance selon la présélection par la fonction « boruta » (MB Kursa). Les autres variables sont considérées comme ayant une structure aléatoire vis-à-vis de l'abondance des tiques.

L'importance des variables explicatives retenues dans le modèle Random Forest est exprimée à travers deux critères qui sont :

- Le « Increase Mean Square Error » ou IncMSE, c'est à dire l'augmentation de l'Erreur Quadratique Moyenne qui exprime l'importance des variables dans le modèle de prédiction Random Forest.
- Le « Increase Node Purity » ou IncNodePurity, c'est-à-dire l'augmentation de la Pureté des Nœuds qui exprime la capacité du modèle à classifier ou à discriminer les variables explicatives

Sur la base de ces deux critères, on distingue l'âge des bouses (en semaines) comme la variable explicative la plus importante pour expliquer l'abondance des larves de tiques collectées par passage de drapeau dans les pâturages avec une IncMSE de 98 % et une IncNodePurity de 17 % (Figure 13).

En considérant l'indice IncMSE, on distingue mis à part l'âge des bouses 3 paramètres importants pour une bonne prédiction dont les abords, l'humidité du sol et la présence de pente sur les parcelles. Les 3 espèces d'herbes les plus importantes pour une bonne prédiction du modèle sont le *Trifolium Repens*, *Geranium robertianum*, *Chloris Barbata*.

En se référant à l'indice IncNodePurity les 3 paramètres les plus importants en dehors de l'âge des bouses pour une bonne classification sont la hauteur des herbes, l'humidité relative du sol, et l'humidité de l'air. Les 3 espèces d'herbes les plus importantes pour une bonne classification du modèle sont le *Cenchrus clandestinus*, *Paspalum dilatatum*, et le *Trifolium Repens*.

Les résultats du modèle montrent également une Normalized Root Mean Square Error (NRMSE) c'est-à-dire Erreur Quadratique Moyenne Normalisée de 0.1824, ce qui indique une erreur moyenne de 18% dans nos prédictions.

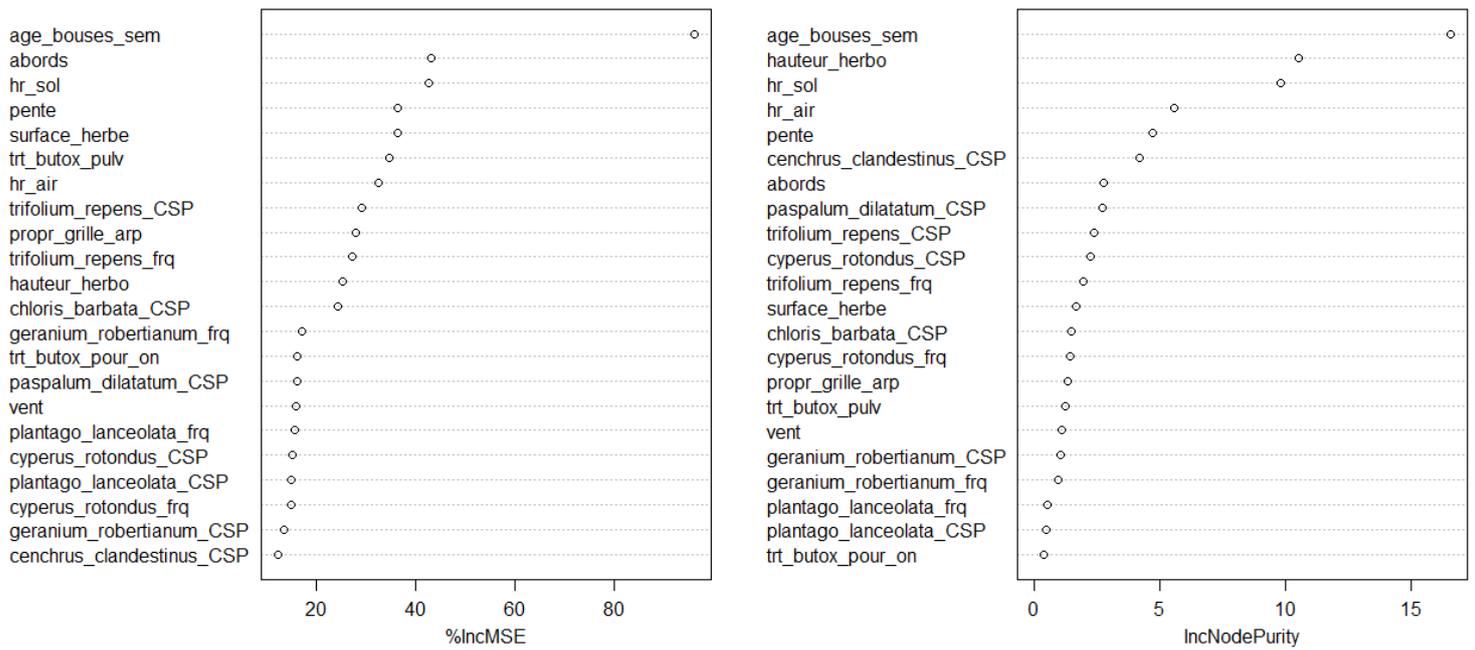


Figure 21: Importance des variables pour la détermination des paramètres expliquant l'abondance des larves de tiques

IV. DISCUSSION ET PERSPECTIVES

1. Résistances des tiques aux acaricides

L'un des objectifs de mon stage était d'évaluer la résistance des tiques *R. microplus* aux acaricides. Nous avons utilisé le Larval Tarsal Test (LTT) en suivant et adaptant le protocole de Léonore Lovis (Lovis et al., 2011). Cependant, les tests n'ont pas été concluants. En effet, nous n'avons pas pu compter le nombre de larves vivantes et de larves mortes parce qu'un nombre conséquent d'œufs n'a pas éclos. Toutefois les œufs du lot témoin ont quasiment tous éclos. La principale différence entre les lots témoins et les lots traités est le mélange des œufs traités avec le talc. La non éclosion des œufs constatée lors de la réalisation des tests acaricides pourrait s'expliquer par le traitement des lots témoins au talc. En effet, le talc a la capacité d'inhiber l'éclosion des œufs de tiques en absorbant l'humidité présente autour des œufs et ainsi favoriser la dessiccation des œufs. Il a été démontré que les œufs de certaines espèces de tiques telles que *Rhipicephalus microplus* ne parviennent pas à éclore sous des conditions de faible humidité (Oshiro, 2021).

Le faible taux d'éclosion observé au cours de l'évaluation des résistances des tiques aux acaricides pourrait également s'expliquer par des difficultés rencontrées avec l'étape d'évaporation du solvant DMSO (Diméthylsulfoxyde). En effet l'évaporation du DMSO a été faite en utilisant un compresseur d'air pendant 1h30. Nous avons constaté que l'évaporation est parfois incomplète dans certain puits en utilisant ce temps d'évaporation. Le DMSO étant capable d'inhiber l'éclosion des œufs pondus par les tiques (Ravindran et al., 2011), il est possible qu'il contribue à la non-éclosion des œufs de tiques observés en cas d'une évaporation incomplète.

Les résultats obtenus lors de nos tests contrastent avec les résultats d'autres études sur les tests acaricides, où des taux d'éclosion élevés ont été enregistrés permettant ainsi une évaluation fiable de la résistance des tiques aux acaricides. Les travaux de thèse de L. Lovis qui ont porté sur l'évaluation de la résistance des tiques *R. microplus* aux acaricides a permis d'obtenir des taux de survie des larves pouvant atteindre 60%. Ces travaux de thèse ont été réalisés sur deux souches de *R. microplus* maintenues et élevés au laboratoire. La thèse de Hamon (Hamon, 2016) corrobore les résultats de L. Lovis en permettant de confirmer l'existence de résistance des tiques créoles aux acaricides avec un taux de survie des œufs et des larves de *R. microplus* de 30%. Pour la suite, il conviendra donc de corriger ces paramètres afin d'obtenir des taux d'éclosion permettant de réaliser les comptages pour évaluer la survie des larves.

Des difficultés ont été rencontrées pour collecter des tiques gorgées en nombre suffisant parce qu'il était difficile de convaincre les éleveurs de retarder leur traitement acaricide (réalisés toutes les

trois semaines) pour obtenir des tiques suffisamment gorgées pour qui pourraient produire le nombre d'œufs nécessaire pour la réalisation des tests. Une campagne de sensibilisation des éleveurs au risque d'apparition et de propagation du phénomène de résistance des tiques sera indispensable pour poursuivre la collecte des tiques gorgées sur les bovins afin de refaire les tests d'évaluation de la résistance des tiques aux acaricides.

Enfin, pour comparer les résultats des tests de résistance sur les populations de tiques réunionnaises, il sera nécessaire de réaliser les tests sur une souche de *R. microplus* sensible qui serviront de témoin négatif vis-à-vis des différents produits acaricides utilisés. Une telle souche sensible n'existant pas à La Réunion où toutes les populations ont déjà été mises en contact avec des acaricides, il sera nécessaire d'importer une souche sensible depuis un autre territoire. Des discussions sont en cours pour importer une souche du Brésil.

2. Estimation de l'infestation en larves de tiques et évaluation du couvert végétal

Les résultats des niveaux d'infestations en larves de tiques ont montré que sur 98 transects d'étude, 57 transects étaient positifs (58,2%) et un total de 8581 larves de tiques ont été collectées. La collecte moyenne est alors de 87.6 avec une grande variation (± 326.8) larves de tiques, ce qui indique qu'il y a une distribution hétérogène des larves sur l'ensemble des transects. En ne tenant compte que des transects positifs, la collecte moyenne de larves de tiques se situe à 150.5 avec une variation plus élevée (± 418.8). Cette forte variabilité des niveaux d'infestation en larves de tiques sur l'ensemble des transects pourrait s'expliquer par certains facteurs biotiques tels que la présence des hôtes et des facteurs abiotiques tels que la couverture végétale et l'humidité (Cruz et al., 2020).

L'évaluation de la variabilité du couvert végétal sur les transects de l'étude a montré une relation entre l'abondance des larves de tiques *R. microplus* et la végétation des prairies sur lesquelles nous avons fait des passages de drapeau pour la collecte des larves de tiques. Plusieurs faciès floristiques ont été mis en avant à travers les ACP. L'espèce *Cenchrus clandestinus* serait une espèce associée à une forte infestation en larves de tiques sur l'ensembles des prairies. Les prairies recouvertes seraient ainsi très favorables pour la présence des larves de tiques. L'espèce *Cenchrus clandestinus* communément appelée Kikuyu est une espèce de graminée utilisée dans les pâturages tropicaux pour son excellente couverture du sol et sa tolérance à une forte densité de pâturage. Les travaux de Rodriguez-vivas et al (2018) ont montrés que les tiques préfèrent des environnements avec une couverture végétale dense permettant de fournir des microclimats favorables à la survie des larves de tiques *R. microplus*. L'espèce Kikuyu en formant un couvert dense, pourrait ainsi créer des microclimats fortement favorables pour la survie des larves de tiques.

Le *Sporobolus africanus* (Marie éreintée) caractéristique des prairies dégradées et longtemps considérée favorable au tique, ne l'est finalement pas d'après les résultats de nos études. Les autres faciès floristiques mise en évidence dans notre étude sont caractérisés par une forte présence d'espèces non fourragères telles que *Elephantopus mollis*, *Geranium robertianum*, *Rumex crispus*, *Cyperus brevifolius*. Ces faciès représentent également des prairies dégradées mais sont négativement ou pas associées à la présence des larves de tiques. La présence de ces espèces pourrait ainsi indiquer des conditions environnementales ou des pratiques qui ne sont pas favorables à la présence des larves de tiques. Il ressort de l'étude que les prairies dégradées ne témoignent pas nécessairement d'une forte infestation en larves de tiques.

3. Détermination des paramètres expliquant l'abondance des larves de tiques

D'après les résultats du modèle Random Forest, l'âge des bouses (en semaines) est la variable explicative la plus importante pour expliquer la présence des larves de tiques dans les pâturages. L'âge des bouses des bovins a été utilisé comme proxy du moment où les bovins sont venus dans les prairies. Les bovins par leur activité de broutage et autres peuvent ramasser les larves de tiques et assainir partiellement la prairie. Le niveau d'infestation peut ainsi paraître faible après le passage d'un troupeau. Par contre au bout d'un certain temps, l'infestation peut retrouver un niveau normal avec les nouvelles éclosions. Les bovins peuvent également apporter de nouvelles tiques gorgées qui vont pondre des œufs. Il s'en suivra une éclosion des œufs au bout d'un mois ou plus et ainsi une infestation en larves de tiques. Des études similaires réalisées sur les facteurs environnementaux pouvant impacter la présence des tiques ont montrés que la présence d'excréments de daim utilisé comme proxy de la présence des daims était positivement associée à l'abondance des tiques d'espèces *Ixodes ricinus* (Peralbo-Moreno et al., 2022).

Les abords autour des parcelles, la pente des parcelles, l'humidité relative du sol, la hauteur des herbes sont également des variables qui pourraient expliquer l'abondance des larves de tiques. L'abondance des parcelles est un facteur favorable à l'abondance des larves de tiques en ce sens que l'entretien des parcelles avec des pratiques telles que la coupe régulière des herbes peut réduire les habitats propices pour la survie des larves de tiques. En revanche, des abords de parcelles avec une végétation dense, sont plus susceptibles de favoriser la survie des larves de tiques. La relation entre la présence des pentes sur les parcelles et l'abondance des larves de tiques pourrait s'expliquer par le fait que l'eau coule plus rapidement sur les pentes, ce qui pourrait influencer la distribution de l'humidité dans le sol et la végétation. Les larves de tiques préfèrent généralement des environnements avec une humidité relative plus élevée, donc les pentes plus sèches pourraient être moins favorables à leur présence.

Les hauteurs d'herbes ont une influence sur le microclimat du sol et donc sur la survie des œufs et des larves. Les herbes hautes retiennent l'humidité et maintiennent les températures du sol plus fraîches, créant un environnement favorable à la survie des œufs et larves de tiques. Par contre, une herbe plus courte peut favoriser une dessiccation accrue et des températures plus élevées, du sol, ce qui défavorise la survie des larves de tiques. Les résultats des travaux de Greenfield (Greenfield, 2011) ont révélé que la présence des larves de tiques d'espèce *Ixodes ricinus* était importante dans les pâturages avec des hauteurs moyennes de 151 à 300 mm. Cependant, il a été observé d'après ces travaux une diminution significative de la présence de larves de tiques à des hauteurs plus élevées (supérieur à 300 mm) et des herbes de faible hauteur (0-45 mm) se sont révélées moins propices aux tiques. Des études antérieures ont prouvé que 85% d'humidité relative sont nécessaires à la survie des larves de tiques (Barré and Delathière, 2010). Entre 86 et 96% d'humidité relative, l'équilibre hydrique des tiques est maintenu avec l'atmosphère, ce qui permet à la tique d'absorber de l'humidité de l'air à une humidité élevée et, inversement, de perdre de l'eau lorsque l'humidité est basse (Greenfield, 2011). Il a été démontré par Oshiro (Oshiro et al., 2021) que de faibles conditions d'humidité (30%) sont défavorables pour la survie des œufs de tiques *R.microplus*.

V- CONCLUSION

Les facteurs environnementaux tels que les abords des parcelles, la pente sur les parcelles, l'humidité relative du sol, l'humidité de l'air, la hauteur des herbes sont des variables qui pourrait expliquer l'abondance des larves de tiques sur les différents transects d'études, mais c'est l'âge des bouses, comme proxy de la date de passage des bovins dans la parcelle qui semble être le facteur le plus important influant sur la présence des larves. Afin de réaliser des modèles pour prédire l'abondance des larves de tiques sur les pâturages et adapter les méthodes de lutte aux contexte local, des passages de drapeau seront réalisés tout au long de l'année pour obtenir des données complètes sur une année. Les tests de résistance n'ont pas été concluant dus à l'utilisation du talc sur les œufs testés. Il est nécessaire de poursuivre la collecte des tiques sur les bovins afin d'évaluer à nouveau la résistance des tiques aux acaricides.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agreste, 2021a. Fiche filière viande bovine sur l'île de La Réunion. Disponible sur https://daaf.reunion.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/202100617_Filiere_bovine_cle811591.pdf. Consulté le 20/06/2024.
- Agreste, 2021b. Filière laitière sur l'île de La Réunion. Disponible sur https://daaf.reunion.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/20210623_Fiche_Filiere_lait_cle05532b.pdf. Consulté le 20/06/2024.
- Andreotti, R., Garcia, M.V., Koller, W.W., GARCIA, M.V., KOLLER, W.W., 2019. Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos.
- Andreotti, R., Pérez De León, A.A., Dowd, S.E., Guerrero, F.D., Bendele, K.G., Scoles, G.A., 2011. Assessment of bacterial diversity in the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) microplusthrough tag-encoded pyrosequencing. *BMC Microbiol* 11, 6. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-6>
- Barré, N., 1981. Bilan d'une campagne de détiquage dans deux zones pi lotes.
- Barré, N., Delathière, J.-M., 2010. Stratégies de lutte contre la tique du bétail en Nouvelle-Calédonie. Synthèse des connaissances. Ed. IAC.
- Barré, N., Morel, P.-C., 1983. Tiques (Acariens, Ixodoidea) des Mascareignes (Ocean Indien) et maladies transmises Babesioses, Theileriose, Borreliose, Cowdriose. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux* 36, 371–377.
- Barré, N., Uilenberg, G., 2010. Propagation de parasites transportés avec leurs hôtes: cas exemplaires de deux espèces de tiques du bétail.
- Choisis, J.P., Grimaud, P., Lassalle, C., 2009. Pratiques d'élevage dans les exploitations bovines allaitantes conduites sur pâturage dans les Hauts de la Réunion. *INRA Prod. Anim.* 22, 345–354. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2009.22.4.3359>
- Coles, T.B., Dryden, M.W., 2014. Insecticide/acaricide resistance in fleas and ticks infesting dogs and cats. *Parasit Vectors* 7, 8. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-8>
- 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>
- Cumming, G.S., 1999. Host distributions do not limit the species ranges of most African ticks (Acari: Ixodida). *Bulletin of Entomological Research* 89, 303–327.
- DAAF, 2020. Répartition du cheptel des bovins à La Réunion.
- Dernburg, A., 2018. LA LUTTE INTEGREE CONTRE LES ARTHROPODES VECTEURS DE MALADIES CHEZ LES BOVINS.
- Desquesnes, M., 1987. *Boophilus microplus*, biologie et modes de lutte, application à la Nouvelle-Calédonie (PhD Thesis). ENVA.
- Dzemo, W.D., Thekiso, O., Vudriko, P., 2022. Development of acaricide resistance in tick populations of cattle: A systematic review and meta-analysis. *Heliyon* 8, e08718. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08718>
- Estrada-Peña, A., Salman, M., 2013. Current limitations in the control and spread of ticks that affect livestock: a review. *Agriculture* 3, 221–235.
- Evans, R. et Love, M., 1957. The step-point method sampling - a practical tool in range research, *J. Range Mgt*, 10, 5 : 208-212.
- Freire JJ, 1953. Arseno e cloro resistência e emprego de tiofosfato de dietilparanitrofenila (Parathion) na luta anticarrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). *Bol. Dir. Prod. Anim*, 9: 3-31.
- Garcia-Martí, I., Zurita-Milla, R., Swart, A., 2019. Modelling tick bite risk by combining random forests and count data regression models. *PLoS ONE* 14, e0216511. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216511>

- Gilibert, J., Mathieu, A., 1997. Une méthode de notation visuelle rapide de l'état des prairies. Fourrages (Versailles) 191–207.
- Greenfield, B.P.J., 2011. Environmental parameters affecting tick (*Ixodes ricinus*) distribution during the summer season in Richmond Park, London. *Bioscience horizons* 4, 140–148.
- Gregorutti, B., Michel, B., Saint-Pierre, P., 2017. Correlation and variable importance in random forests. *Stat Comput* 27, 659–678. <https://doi.org/10.1007/s11222-016-9646-1>
- Guerrero, F.D., Lovis, L., Martins, J.R., 2012. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 21, 1–6.
- Guglielmo, A.A., Nava, S., 2014. Names for Ixodidae (Acari: Ixodoidea): valid, synonyms, incertae sedis, nomina dubia, nomina nuda, lapsus, incorrect and suppressed names-with notes on confusions and misidentifications.
- Hamon, M.M.A., 2016. Evaluation de la résistance de *Rhipicephalus* (*boophilus*) *microplus* aux acaricides et mise en relation avec les pratiques de lutte en élevage bovin en Martinique (PhD Thesis). Thèse de Doctorat de Médecine Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire d . . .
- Huber, K., Lefrançois, T., Cardinale, E., Esnault, O., Hue, T., Pannequin, M., Stachurski, F., 2015. Impacts majeurs des tiques en santé animale en Outre-mer. 2015; Journée thématique Tiques et maladies à tiques: impacts en santé humaine et vétérinaire, Maison-Alfort, FRA, 2015-05-20-2015-05-20, p15.
- Hüe, T. and R. Cenicerros, 2007. Gestion de la lutte contre les hémoparasitoses et leurs vecteurs, île de La Réunion: état des connaissances en 2007, Réunion auto-éd..
- Iranzad, R., Liu, X., 2024. A review of random forest-based feature selection methods for data science education and applications. *Int J Data Sci Anal*. <https://doi.org/10.1007/s41060-024-00509-w>
- Kursa, M.B., Rudnicki, W.R., 2010. Feature selection with the Boruta package. *Journal of statistical software* 36, 1–13.
- Lê, S., Josse, J., Husson, F., 2008. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of statistical software* 25, 1–18.
- Lew-Tabor, A.E., Valle, M.R., 2016. A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against ticks and tick borne diseases. *Ticks and tick-borne diseases* 7, 573–585.
- Liaw, A., Wiener, M., 2002. Classification and regression by randomForest. *R news* 2, 18–22.
- Lorre, F., 2019. Evaluation du disponible fourrager à l'échelle de l'île de la Réunion et leviers pour une meilleure valorisation des surfaces fourragères. ESA.
- Lovis, L., Perret, J.-L., Bouvier, J., Fellay, J.-M., Kaminsky, R., Betschart, B., Sager, H., 2011. A new in vitro test to evaluate the resistance level against acaricides of the cattle tick, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Veterinary parasitology* 182, 269–280.
- Madder, M., Horak, I., Stoltz, H., 2013. Ticks: Tick importance and disease transmission. *Afrivip* 1, 1–30.
- Miller, R.J., Li, A.Y., Tijerina, M., Davey, R.B., George, J.E., 2008. Differential response to diazinon and coumaphos in a strain of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) collected in Mexico. *Journal of medical entomology* 45, 905–911.
- Molento, M.B., Fortes, F.S., Buzatti, A., Kloster, F.S., Sprenger, L.K., Coimbra, E., Soares, L.D., 2013. Partial selective treatment of *Rhipicephalus microplus* and breed resistance variation in beef cows in Rio Grande do Sul, Brazil. *Veterinary Parasitology* 192, 234–239.
- Oshiro, L.M., Da Silva Rodrigues, V., Garcia, M.V., De Oliveira Souza Higa, L., Suzin, A., Barros, J.C., Andreotti, R., 2021. Effect of low temperature and relative humidity on reproduction and survival of the tick *Rhipicephalus microplus*. *Exp Appl Acarol* 83, 95–106. <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00576-1>
- P. Junquera, 2022. BOOPHILUS CATTLE TICKS: biology, prevention and control. Disponible sur https://parasitopedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=2543&Itemid=2819. Consulté le 15 août 2024.

- Peralbo-Moreno, A., Baz-Flores, S., Cuadrado-Matías, R., Barroso, P., Triguero-Ocaña, R., Jiménez-Ruiz, S., Herraiz, C., Ruiz-Rodríguez, C., Acevedo, P., Ruiz-Fons, F., 2022. Environmental factors driving fine-scale ixodid tick abundance patterns. *Science of the Total Environment* 853, 158633.
- Pereira, D.F.S., Ribeiro, H.S., Gonçalves, A.A.M., 2021. *Rhipicephalus microplus*: an overview of vaccine antigens against the cattle tick. *Ticks Tick Borne Dis* 13.
- Pfäffle, M., Littwin, N., Muders, S.V., Petney, T.N., 2013. The ecology of tick-borne diseases. *International journal for parasitology* 43, 1059–1077.
- Randolph, S.E., 2000. Ticks and tick-borne disease systems in space and from space. *Advances in parasitology* 47, 217–243.
- Ravindran, R., Juliet, S., Gopalan, A.K.K., Kavalimakkil, A.K., Ramankutty, S.A., Nair, S.N., Narayanan, P.M., Ghosh, S., 2011. Toxicity of DMSO, Triton X 100 and Tween 20 against *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. *J Parasit Dis* 35, 237–239. <https://doi.org/10.1007/s12639-011-0054-3>
- Rodríguez et al., 1994. High level expression of the *B. microplus* Bm86 antigen in the yeast *Pichia pastoris* forming highly immunogenic particles for cattle. *Journal of biotechnology*, 33(2), 135-146.
- Rodríguez-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. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>
- Sidumo, B., Sonono, E., Takaidza, I., 2024. Count Regression and Machine Learning Techniques for Zero-Inflated Overdispersed Count Data: Application to Ecological Data. *Ann. Data. Sci.* 11, 803–817. <https://doi.org/10.1007/s40745-023-00464-6>
- Spickler, Anna Rovid, 2022. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Retrieved from <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>.
- Urdaz-Rodríguez, J., Fosgate, G., Alleman, A.R., Rae, O., Donovan, A., Binford, M., Zaragoza, A., Melendez, P., 2012. Association between ecological factors and the presence of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae in Puerto Rico. *Exp Appl Acarol* 58, 145–157. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9573-6>
- Willadsen, P., Bird, P., Cobon, G.S., Hungerford, J., 1995. Commercialisation of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. *Parasitology* 110, S43–S50.
- Yessinou, R., Akpo, Y., Adoligbe, C., Kossijustin, A., Marc, A., B., K., Youssao Abdou Karim, I., Karim, A., Farougou, S., Roland, C., Yessinou, E., 2016. Resistance of tick *Rhipicephalus microplus* to acaricides and control strategies. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 408, 408–414.

ANNEXE I : Autorisation de collecte d'échantillons



Dans le cadre de la mission d'intérêt public dont il est investi pour la recherche en agronomie au service du développement des régions chaudes, le CIRAD en collaboration avec le GDS mène une étude sur l'évaluation de la résistance des tiques aux acaricides utilisés à La Réunion et sur l'évaluation des plantes pouvant favoriser la présence des tiques dans les pâtures.

Objectif de l'étude : Déterminer les niveaux de sensibilité de la tique du bétail (*Rhipicephalus microplus*) aux acaricides et évaluer le couvert végétal des prairies en relation avec la présence des tiques.

Méthode utilisée : Prélèvements de tiques sur les bovins et dans les pâtures, test de résistance au laboratoire.

(protocole détaillé joint à cette fiche)

Durée de l'étude : 1 an à compter du 27/02/2024

Responsables de l'étude : Marlène Dupraz, CIRAD ; Yannick Grimaud, GDS

Adresse à contacter pour obtenir des informations sur l'étude : CYROI, 2 rue Maxime Rivière, 97490 Saint

Clotilde, tel : 0262938826, Email : marlene.dupraz@cirad.fr ; Pôle de Protection de Plantes, 7 chemin d l'IRAT, 97410 Saint-Pierre, tel : 0692166781, Email : yannick.grimaud@gds974.re

Bénéfices éventuels pour les éleveurs : Acquisition de connaissances pour une meilleure gestion des risques associés.

Risques pour les éleveurs : Aucun

Accès aux résultats : Rendu général par les responsables en fin de projet

Autorisation

Je, soussigné(e),

Nom, prénom(s) :

Contact (téléphone, email) :

Autorise par la présente l'accès à mon exploitation située (adresse et point GPS) :

Période de l'accès autorisé

pour la collecte de tiques.

- Je suis informé(e) que mes informations personnelles figurant sur le présent document (nom, prénom, email, téléphone, adresse et GPS de l'exploitation) seront utilisées par le Cirad, Marlène Dupraz et Yannick Grimaud étant responsables du traitement de ces données, sur le fondement de l'intérêt public de recherche poursuivi par le projet, afin de me contacter en cas de nécessité pour la conduite de l'étude. Ces données seront conservées toute la durée du projet, stockées sur un support informatique dont l'accès est protégé (lisible uniquement par l'équipe de chercheurs) et ne seront pas divulguées à des tiers. Je peux demander l'accès, la rectification ou la suppression de ces informations personnelles à tout moment en contactant les responsables de l'étude. Pour toute information ou exercice de vos droits sur les traitements de données personnelles gérés par le CIRAD, vous pouvez contacter son délégué à la protection des données à l'adresse dpo@cirad.fr.

- Je suis informé(e) que je peux retirer cette autorisation de prélèvement à tout moment.

Fait à le

Signatures :

L'éleveur

L'agent de terrain



Protocole détaillé afin de déterminer les taux de résistance des tiques aux acaricides et évaluer le couvert végétal des prairies en relation avec la présence des tiques.

Les collectes sont réalisées dans chaque exploitation sur les bovins (minimum sur 5 bovins pour avoir une bonne représentativité de la diversité génétique des tiques) et dans la pâture à l'aide de drapeaux.

Les bovins devront être rassemblés et contenus pour assurer une collecte dans les meilleures conditions. Les tiques (minimum 20 tiques femelles pleinement gorgées) sont collectées dans un tube et le test de résistance est effectué en laboratoire sur la plateforme du CYROI à Saint Denis par l'équipe du CIRAD. Les acaricides testés sont les suivants : Butox, Sébacil, Ivomec, Eprinex, Bayticol, Coumaphos, Tactic.

Un questionnaire est rempli avec l'éleveur pour identifier les pratiques d'élevage en lien avec les acaricides.

Les collectes de tiques dans la pâture sont réalisées à l'aide de passage de drapeau selon un quadrillage de la parcelle. L'évaluation du couvert végétal est effectuée par la méthode des quadras. Les paramètres suivants sont relevés : espèces végétales, recouvrement, homogénéité, hauteur, densité. Les paramètres tels que température et humidité au sol et les paramètres météorologiques sont également relevés car ils peuvent influencer la présence de tiques dans la pâture. Une autorisation de collecte est signée par l'éleveur.

La personne en charge des collectes sera aussi amenée à prendre des photos au sein de l'élevage pour garder une trace visuelle. Ces photos comme toutes les autres informations relevées sur le terrain ne seront pas utilisées hors du cadre de cette étude.

Au terme de ces analyses, un rendu général sera adressé à chaque éleveur. Les données permettront d'orienter la stratégie de contrôle avec les produits les plus efficaces pour chaque exploitation et de contrôler le niveau de résistance pour conserver la lutte chimique à long terme. Les données permettront également de conseiller les éleveurs sur la gestion des pâtures pour limiter la survie des tiques pendant leur phase libre.

Signatures :

L'éleveur

L'agent de terrain

ANNEXE 2: Questionnaire d'enquête

Date :

NOM de l'éleveur :

PRENOM de l'éleveur :

Adresse :

Téléphone (portable ou fixe) :

Coordonnées GPS :

Description de l'élevage

Nombre total de bovins dans l'élevage :

Race :

Européenne pure : Blonde d'aquitaine, Limousine, Aubrac, Charolaise, Salers, brune,

Croisée :

Européen :

Brahman

Brahman pure

Depuis combien de temps avez-vous ce troupeau ?

Moins de 1 an

Entre 1 et 5 ans

Entre 5 et 10 ans

Depuis plus de 10 ans

Type d'élevage

Pâturage

Hors sol/Pâturage

Pâturage

Pâturage sur leur propre parcelle :

Oui : Superficie (en ha) _____ Nombre de parcelles disponibles : __

Fréquence de rotation (en semaine) : _____

Non

Si pâturage :

Type de savane :

Naturelle

Artificielle : préciser espèce(s) plantée(s)

Elevages voisins (savares voisines) :

Oui :

Préciser bovin, petits rum, autre

partage des pâturages : oui non

contact possible avec les animaux du voisinage : oui non

Non

Gestion

Achat ou introduction de nouveaux animaux au sein du troupeau pour le renouvellement

Oui

Non

Si oui, préciser la conduite mise en place avant le contact avec le troupeau

Pas de conduite particulière

Isolement des nouveaux animaux : préciser le lieu_/ la durée (en jours)___

Traitement acaricide : préciser_____

Autre traitement (vermifuge, vaccin, ...) : préciser _

Présence de tiques

Etes-vous beaucoup touché par l'infestation de tiques

Oui

Non

Y-a-t'il des tiques

Toute l'année

Par période : _

Sur tout le troupeau

Que sur certains animaux : __

Dans toutes les pâtures

En particulier sur certaines pâtures : (type, utilisation, superficie)___

Traitement acaricides

Produits utilisés actuellement et temps d'utilisation

Acaricides	Utilisé actuellement	Utilisé durant les 5 dernières années	Utilisé il y a plus de 5 ans	Jamais utilisé
BUTOX pulvérisation				
BUTOX Pour-On				

SEBACIL				
TAKTIK				
IVOMEK				
EPRINEX				
BAYTICOL				
COUMAPHOS				
Autre :				
Autre :				

Autre_

En mélange

Est-ce que certains produits acaricides ne fonctionnent pas bien

Non, ils fonctionnent tous bien

Oui, un seul. Lequel :

Oui, au moins deux, Lesquels :

Préciser le mauvais fonctionnement constaté

Toutes les tiques ne meurent pas après le traitement

Les tiques semblent réapparaître plus rapidement sur l'animal après le traitement

Autre

Commentaires : _____

Est-ce qu'il y a des acaricides que vous avez abandonnés

Oui

Non

Si oui, préciser avec temps d'utilisation (en années) et temps écoulé depuis (en années)

Butox (pulvérisation)

Butox (pour-on)

Sebacil

Taktic

Bayticol

Ivomec

Eprinex

Autre_

Quels sont les facteurs déclenchant le traitement

En cas de présence de tiques

En cas de maladie

Autre raison :_

Même fréquence de traitement acaricide toute l'année :

Oui

Non

Intervalle entre deux traitements :

1 semaine

2 semaines

1 mois

Plus

Les animaux sont traités :

Tous en même temps

Au cas par cas

Maladies

Maladies les plus fréquent(e)s dans le troupeau :

Symptômes :

ANNEXE 3 : Protocole du Tarsal Larval Test

Provenance du protocole : Caribbean Animal health network. S Depraz et S. Silou Septembre 2015

Durée du test : 38- 40 jours (6 semaines)

Collecte tique et transport :

Echantillon par élevage : 10 à 15 femelles gorgées de tiques minimum (15-20 dans idéal), sur 5 à 10 animaux si possible.

Voir l'annexe 1 (protocole de Septembre 2015) pour les conditions de transport et d'envoi des échantillons qui devra être remise aux pays expéditeurs, avec les informations de suivis de l'échantillon.

Etape 1 : stockage des tiques femelles gorgées et ponte (pendant 2 à 3 semaines) / [Salle Insectarium](#)

- Dès réception : passage des tiques sous l'eau du robinet, à faible débit (en les déposant dans une passoire), pour enlever tout débris potentiels, puis les faire sécher sur un sopalin.
- Dépôt des tiques dans l'étuve, à une température de 28+/- 2°C et humidité entre 75 à 85% dans une boîte de pétri en verre tapissée de sopalin sans le couvercle mais recouverte d'une moustiquaire tenue par un élastique. (Possibilité d'utilisation d'une solution saturée Na_2CO_3 pour produire de l'humidité- cf. annexe 2 du protocole de Septembre 2015),
- On mettra les tiques d'un même élevage dans une même boîte (avec un maximum de 20 tiques par boîte de pétri, sinon dans deux différentes). Les boîtes ne doivent pas être superposées.

Etape 2 : préparation des plaques (entre J14 et J17 après la collecte des femelles) / [Salle LTT](#)

Test réalisé dans des plaques 96 puits (plaque de dilution)

1/ Préparation et dépôt de la solution éthanol-huile (400 :1) dans les plaques test à fond plat :

- A faire la veille de l'évaporation du mélange acaricide + DMSO, et au maximum 3 jours avant.
- Mélange pour 3 plaques : 8.4 mL d'éthanol 100% + 21 μL d'huile d'olive (cf fiche de travail LTT pour les dilutions).
- Distribuer 20 μl /puits de solution d'éthanol-huile.
- Laisser le mélange s'évaporer entre 8h à toute la nuit sous la hotte (jusqu'à 72h : pas d'impact négatif).

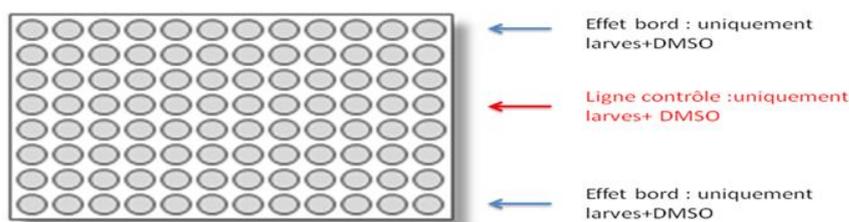
2/ Préparation et dépôt de la solution acaricide-DMSO dans des plaques 96 puits à fond conique : [Salle LTT](#)

- Pour chaque élevage, chaque molécule est testée en triplicat (de préférence sur 3 plaques différentes).
- Les molécules d'acaricides que l'on peut tester sont (voir selon les besoins par pays et par élevage) :
Fluméthrine / Deltaméthrine / Amitraz / Phoxime / Coumaphos / Ivermectine / Sebacil / Eprinex

On teste les intervalles de concentrations suivants :

- Flumethrine : 6,25 à 0,003 mg/m² (=0,0354 mg/mL à 0,017*10⁻³ mg/mL)
- Deltamethrine et Phoxim : 100 à 0,05mg/m² (=0,566 mg/mL à 0,28*10⁻³ mg/mL)

- Amitraz : 200 à 0,1 mg/m² (=1,132 mg/mL à 0,566*10⁻³ mg/mL)
 - Coumaphos : 800 à 0,4 mg/m² (=4,5 mg/mL à 2,3*10⁻³ mg/mL)
 - Ivermectine : 12,5 à 0,006 mg/m² (=0,0707 mg/mL à 0,035*10⁻³ mg/mL)
 - Sebacil : 500 mg/mL
 - Eprinex : 5 mg/mL
- Préparer les dilutions d'acaricide-DMSO dans une plaque annexe 96 puits à fond conique. Une ligne correspond à une molécule (12 concentrations différentes), mais les lignes aux extrémités hautes et basses ne sont pas utilisées (effet bord à proscrire, on dépose uniquement du DMSO). La ligne centrale servira de ligne contrôle.



- Le premier puit de chaque ligne correspond à la concentration la plus élevée, préparée à partir de la solution mère de 10.000 ppm (=20mg d'acaricide / 2 ml de DMSO ou 2 mL de produit pur pour le Sebacil et l'Eprinex) (cf fiche de travail LTT pour l'obtention de cette concentration et l'annexe 3 (protocole de Septembre 2015) pour l'obtention de la solution mère et le stockage/conservation des acaricides). Ensuite, une dilution en cascade au 1/2 ou 1/5 pour le Sebacil et l'Eprinex est réalisée de la colonne 2 à 12 pour chaque ligne.
- Distribuer 5 µl/puits du mélange acaricide + DMSO dans la plaque prévue pour le test, en respectant le même ordre que la plaque annexe (de la plus forte à la plus faible concentration).

Rem : on a besoin de la ponte d'environ 5 femelles pleinement gorgées pour remplir une plaque entière (soit 15 pour 3 plaques). Si le nombre de femelles collectées ou le nombre d'œufs obtenus n'est pas suffisant pour tester les 5 molécules, sur trois plaques, l'annexe 4 (Protocole de septembre 2015) permet de voir comment adapter le test.

3/ Evaporation du DMSO avec le concentrateur d'échantillon et le compresseur d'air (cf annexe 5 protocole de septembre 2015) :

- Evaporation pendant 1h30/2h, avec le support chauffant à 54°C (pression de 0.5 à 1bar en sortie du compresseur et estimation de 0,3 bars à l'entrée du concentrateur).

4/Conservation des plaques (maximum 3 jours) **Salle LTT**: déposer les plaques dans une boîte hermétique avec du Silicagel (gel de silice), à l'abri de la lumière, à une T°C comprise si possible entre 20 et 28°C.

Etape 3 : Séparation et distribution des œufs (2 semaines 1/2 après la ponte) : **Salle LTT**

- Toute l'étape se réalise sur un tapis antistatique.

Rem : Garder comme témoin une partie de la ponte dans un tube en verre fermé avec du coton (sans séparer les œufs), pour lequel on évaluera le % d'éclosion en « conditions normales », par une estimation visuelle, afin de comparer avec les plaques testées en cas de forte mortalité dans les lignes contrôle.

- Dans un flacon de 100ml : mettre des billes de verres de 3mm jusqu'au niveau de 40ml minimum, avec du talc (environ 50mg ou plus si besoin) et mélanger afin que les parois et les billes sont recouvertes de talc.
- Ajouter les paquets d'œufs (mesurer maximum 1mL d'œufs dans un tube Eppendorf pour éviter d'avoir trop d'œufs dans le flacon) et commencer à les séparer délicatement avec une spatule. Les œufs seront ensuite individualisés en retournant doucement le flacon plusieurs fois.
- Quand les œufs sont bien séparés, les tamiser et les récupérer dans une boîte de pétri en verre.
- Remplir la curette à chalazion à ras bord d'œufs et les placer dans un puit (on doit obtenir une moyenne de 50 œufs par puit).
- Placer les plaques, non filmée, 24h dans l'étuve à 80-90% humidité, et 28+/- 2°C
- 24h après le dépôt des œufs, fermer les plaques à l'aide du film transparent, toujours sur le tapis antistatique pour éviter que les œufs se collent au film.

Etape 4 : Incubation des plaques : (pendant 3 semaines) / [Salle LTT](#)

Remettre les plaques dans l'étuve à 80-90% durant 3 semaines (1 semaine pour avoir toutes les larves écloses et 2 semaines de contact des larves avec l'acaricide).

Rem : On sortira les plaques une par une de l'étuve, pour les exposer les moins longtemps possible à l'air sec !

Etape 5 : Evaluation de la mortalité : (38 à 40 jours après la collecte des tiques) : [Salle LTT](#).

- on observe la mortalité des larves à 2 semaines de vie (3 semaines après le dépôt des œufs)
- Avant le comptage, stimuler les larves en passant le doigt sur le film au-dessus des puits.
- Comptage : env 30 minutes/ plaque
- Observation au microscope : les larves qui se déplacent (ou ont une bonne apparence générale mais sont au bord d'un puit et ne bougent que très peu) sont considérées comme vivantes.

Rem: lorsqu'il y a une grande proportion de larves vivantes (ligne contrôle par exemple), on peut alors compter les larves mortes et les œufs non éclos et on en déduit le nombre de vivantes.

- Chaque souche de terrain a son propre contrôle. Si le taux de mortalité moyen des trois plaques est > à 50% dans les lignes contrôles, on recommence le test par précaution. Cependant, si le pourcentage de mortalité est homogène sur les trois plaques, dans ce cas, on peut tolérer jusqu'à 70%.
- Le nombre de larves vivantes par puit est transcrit en annexe 6 (protocole de Septembre 2015) puis reporté dans le fichier Excel « fiche résultats ». L'analyse des données est expliquée en annexe 7 (protocole de Septembre 2015).

- On compare les valeurs de concentration létales à 50% (LC50) de la souche de terrain à celles de la souche sensible de référence. On obtient le Ration de résistance RR50 :

$RR50 = LC50 \text{ souche terrain} / LC50 \text{ souche sensible de référence}$.

La population est définie comme sensible pour un composé spécifique quand $RR \leq 4$;
modérément résistance quand $4 < RR \leq 10$ et hautement résistante pour $RR > 10$.

Rem : La souche sensible de référence qui a été utilisée pour ce test provient de *R. microplus* Porto Alegre strain, du laboratoire Universidade Federal do Rio Grande do Sul au Brésil (contact : itabajara.vaz@ufrgs.br).

Les valeurs de LC50 et les courbes de référence pour la souche sensible ont été obtenues en utilisant le même protocole que pour les souches de terrain (mais avec 9 réplicats au lieu de 3).

Planning :

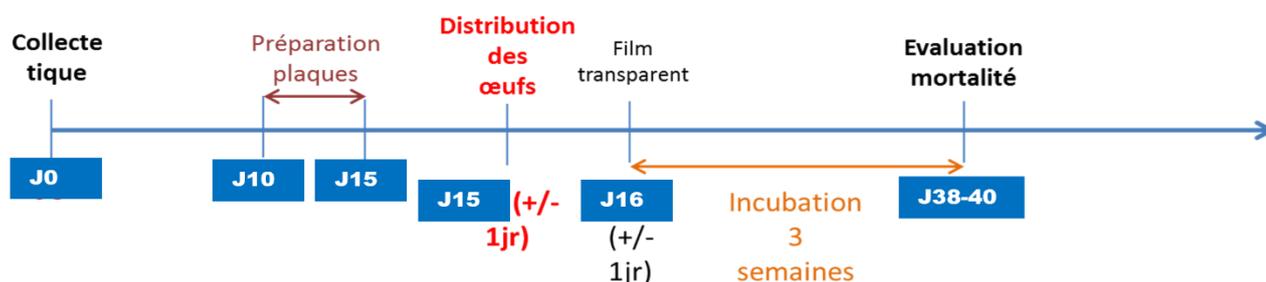


Tableau de préparation des acaricides :

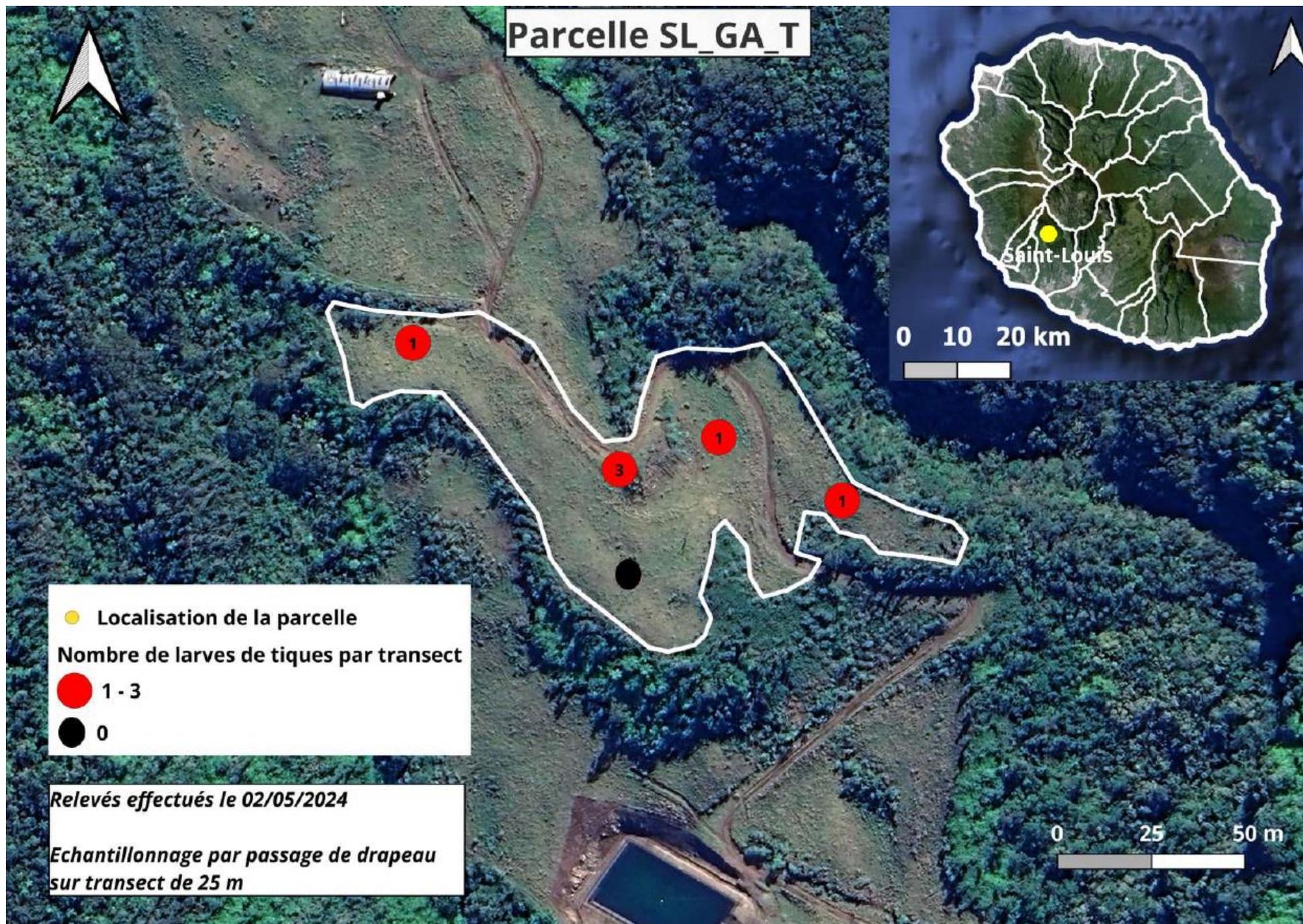
Nom Acaricide	Puit 1	Puit 2 à 12	En cascade à partir du puit 1 au puit 12	Dilution
	Volume Acaricide (µL) + Volume DMSO (µL)	Volume DMSO (µL)	Volume à prendre pour la dilution (µL)	
Butox	1,13 + 18,87	10	10	1/2
Amitraz	2,265 + 17,735	10	10	1/2
Ivermectine	0,56 + 79,44	40	40	1/2
Flumethrine	0,504 + 143,5	72	72	1/2
Sebacil	20 + 0	16	4	1/5
Eprinex	20 + 0	16	4	1/5

Exemple de calcul de la concentration à tester pour l'Ivermectine :

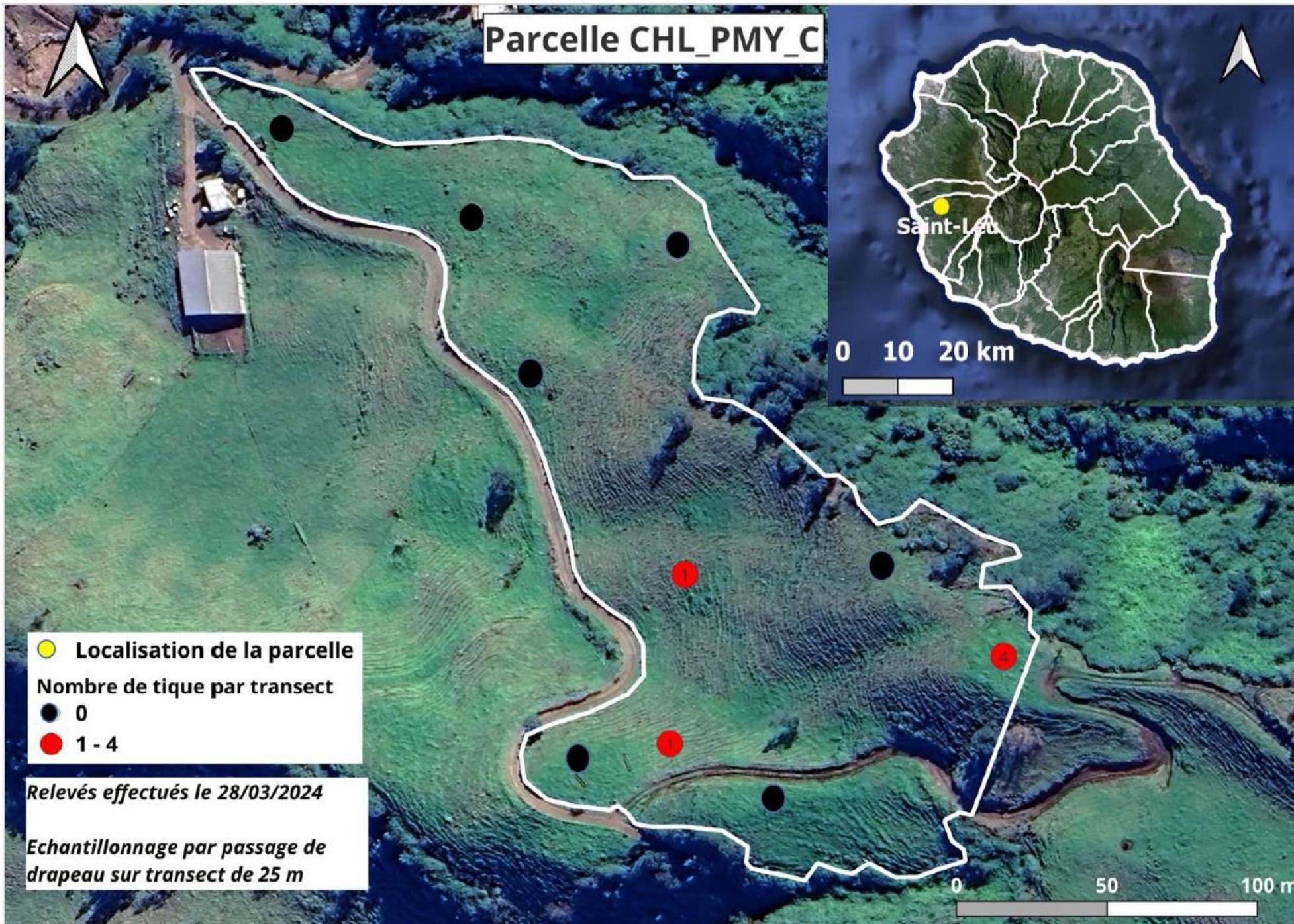
- Concentration de 12.5 à 0.006 mg/m²
- Surface d'un puit = 2.827.10⁻⁵ mg/m²
- Utilisation de 5 µL soit 5.10⁻³ mL

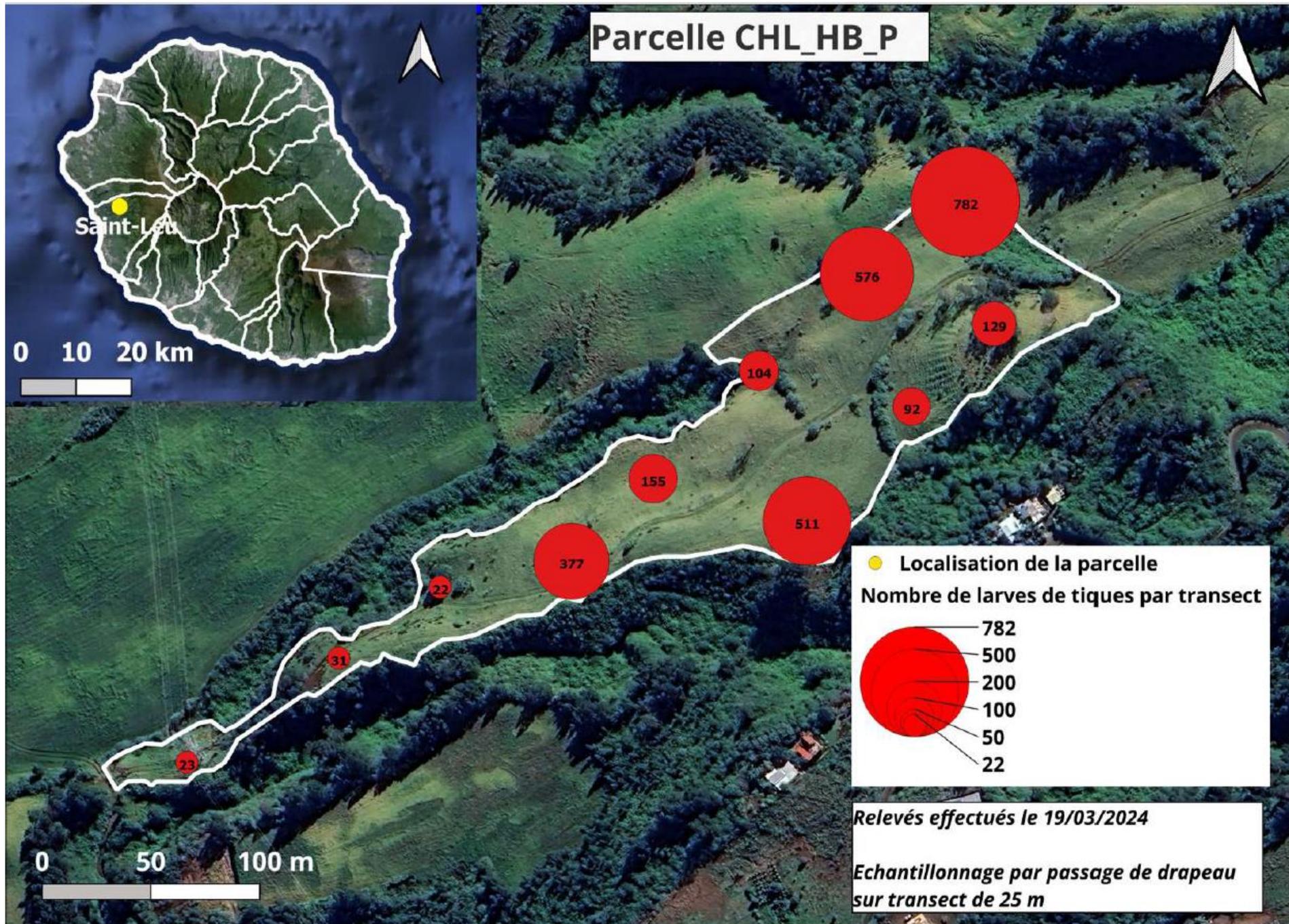
$$C \text{ solution puits 1 (mg/mL)} = (12,5 * 2.827.10^{-5}) / 5.10^{-3} = 0,0707$$

ANNEXE 4 : Cartographie de quelques passages de drapeau sur les parcelles d'étude

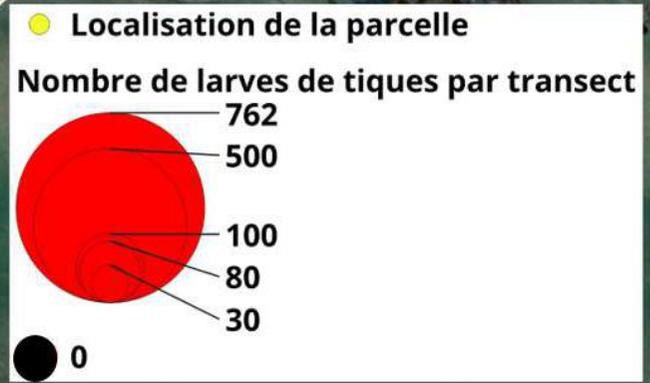
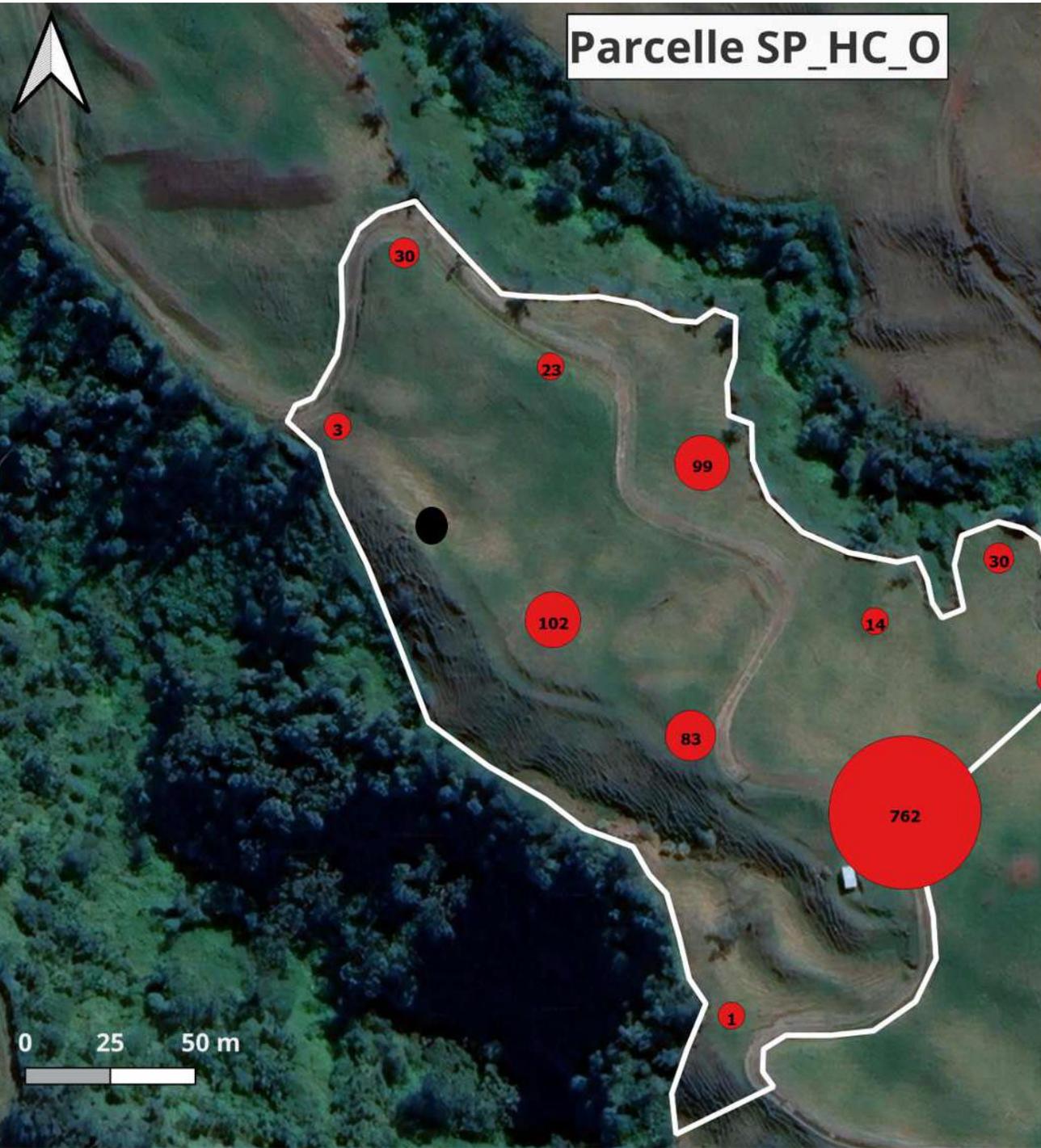


Parcelle CHL_PMY_C



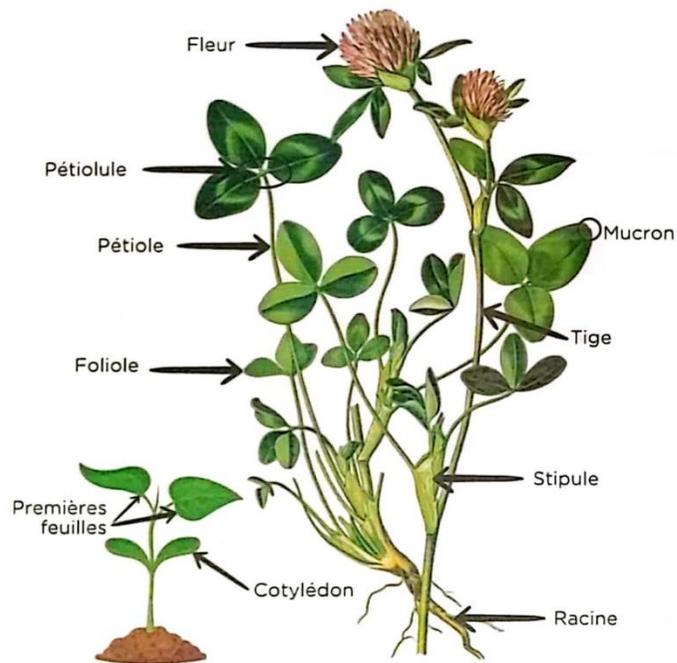


Parcelle SP_HC_0



Relevés effectués le 10/04/2024

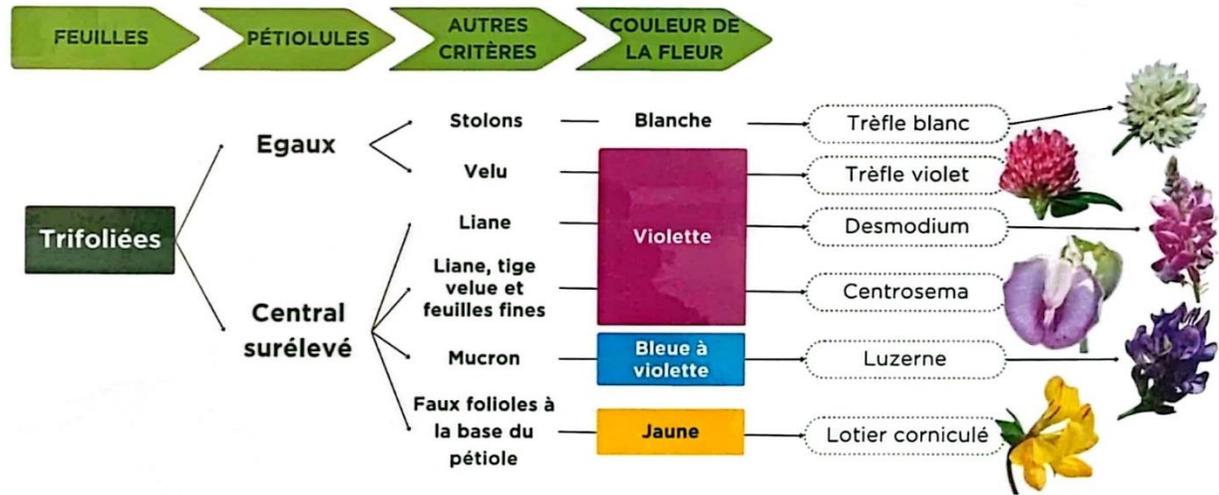
Echantillonnage par passage de drapeau sur transect de 25 m



LES LÉGUMINEUSES

La famille des légumineuses comprend de nombreuses espèces comme les haricots, les pois ou les cacahuètes. Les légumineuses fourragères sont des Fabacées.

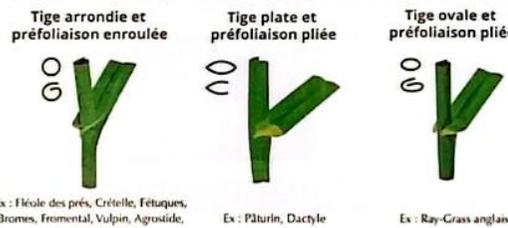
Les légumineuses sont des éléments essentiels de la prairie. Elles fixent l'azote de l'air et ainsi participent à la fertilisation de la prairie. Elles produisent également un fourrage riche en protéines qui permet de réduire les quantités de concentrés distribués au bétail.



DESCRIPTION D'UNE GRAMINÉE



(A) FORME DE LA TIGE ET PRÉFOLIAISON



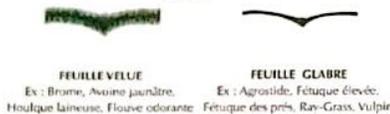
(B) LIGULE



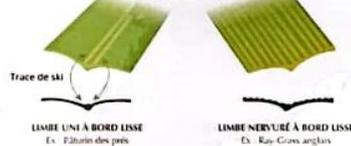
(C) OREILLETES PAS D'OREILLETES



Pilosité



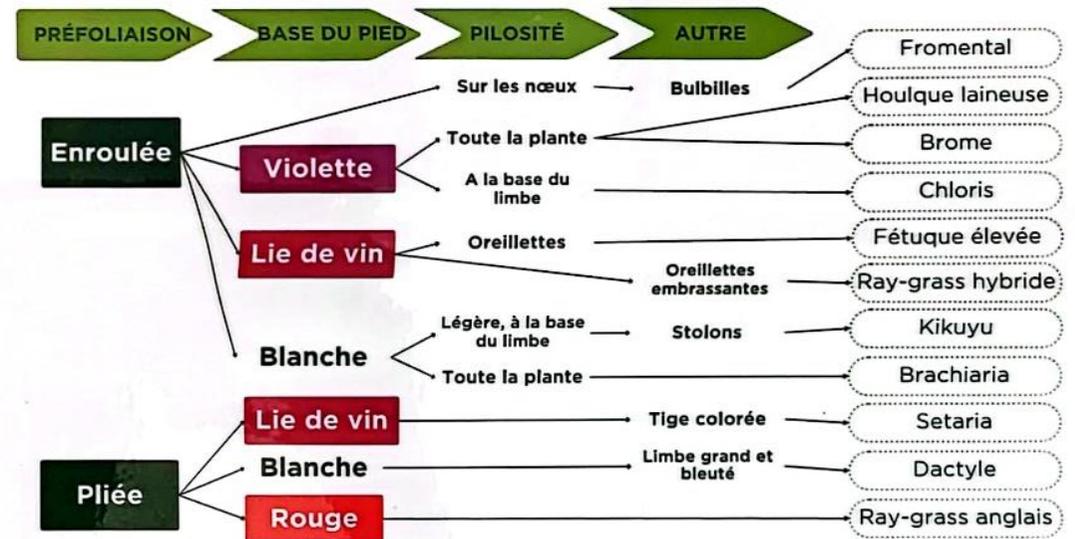
Nervation



LES GRAMINÉES

La famille des graminées comprend de nombreuses espèces telles que le blé, le maïs, l'avoine et le riz. Elles sont caractérisées par leurs tiges creuses et leurs feuilles longues et étroites.

Les graminées constituent la base de la composition des prairies. Elles représentent la majeure partie de la ration des herbivores d'élevage. Elles fournissent des fibres et de l'énergie.



ANNEXE 6: Grille de notation de l'état des parcelle

Catégorie	Note	Critère d'observation
Recouvrement	3	Pas de terre discernable sur la quasi-totalité de la parcelle
	2	De l'ordre de 1dm ² de sol nu tous les 2 à 5m linéaires
	1	De l'ordre de 1dm ² de sol nu tous les 1 à 2m linéaires
	0	Plus de 10% de la surface en sol nu
Propreté	3	Au plus 1 mauvaise herbe par m ²
	2	1 à 4 mauvaises herbes par m ²
	1	5 à 10 mauvaises herbes par m ²
	0	Plus de 10 mauvaises herbes par m ²
Homogénéité	3	Moins de 1 « refus » par 10m linéaires
	2	1 à 2 « refus » par 10m linéaires
	1	3 à 4 « refus » par 10m linéaires
	0	5 « refus » ou plus par 10m linéaires
Hauteur	3	Entre mi-jambe et genou ou plus (30cm ou plus)
	2	Mi-jambe (autour de 20cm)
	1	Cheville (autour de 10cm)
	0	Semelle de botte ou moins (3cm ou moins)
Densité des plantes fourragères	3	Peu de micro-vides visibles entre les plantes fourragères
	2	Sillons ou petits espaces visibles entre les plantes fourragères
	1	Petites plaques ou touffes, rare, très largement séparées les unes des autres
	0	Plaques fourragères rares, très éparses
Qualité de l'herbe	3	Végétation feuillue, jeune et saine
	2	Cas général : épiaison très éparse ; cas particulier : feuillue mais soit partiellement pâturée, soit parties vieilles, souillées
	1	Cas général : épiaison sur environ 50% de la surface ; Cas particulier : feuillue mais très vieillie, avec verse ou brunissement ou maladies
	0	Epiaison et grenaison généralisée
Abords	1	> 5 m des abords non productifs (arbustes, adventices, déchets)
	2	3-5 m des abords non productifs (arbustes, adventices, déchets)
	3	1-3 m des abords non productifs (arbustes, adventices, déchets)
	4	0-1 m des abords non productifs (arbustes, adventices, déchets)
	5	Abords des parcelles dégagés et propres
Pente	1	Pente importante, aucun passage de véhicule motorisé possible
	2	Parcelle accessible en 4 x 4
	3	Accès possible avec l'épandeur à engrais ou le gyrobroyeur
	4	Accès possible avec la presse ou petite tonne à lisier
	5	Pente nulle, accès possible avec tous les outils
Surface en herbe	1	<50 % surface en herbe (terre nue, roche, arbres)
	2	50-70 % surface en herbe (30-50% terre nue, roche, arbres)
	3	70-90% surface en herbe (10-30% terre nue, roche, arbres)
	4	90-100% surface en herbe (couvert dense, 10% terre nue, arbres)
	5	100% surface en herbe (couvert dense, absence terre nue, arbres)
Propreté	1	Adventices sur > 60 % de la surface
	2	Adventices sur 50 % de la surface en herbe
	3	Adventices sur 30 % de la surface en herbe
	4	Adventices sur < 20 % de la surface en herbe
	5	Adventices sur < 5 % de la surface

Repousse	Récemment broutée	Herbes récemment broutées avec peu ou pas de repousses de nouvelles feuilles
	Jeune repousse	Jeune repousse : présence de feuilles jeunes sur la plupart des herbes fourragères ; traces de broutage encore visibles
	Herbe mature	Herbes présentant des feuilles d'âge avancé, partiellement abîmées ; les traces de broutage ne sont plus visibles.
	Herbe vieille	Herbes présentant des feuilles jaunies voire partiellement ou entièrement sèches pour certaines, plus ou moins abîmées

Données météorologiques

❖ Couverture nuageuse :

Dégagé (pas de nuages)

Inférieur à 50% (moins de 50 % de ciel bleu à ciel bleu rare)

Couvert (pas de ciel bleu)

❖ Pluie

Aucune

Brouillard / Bruine (très petites gouttelettes d'eau)

Pluie fine (quelques gouttes fines éparées ou en continu)

Pluie forte (quelques grosses gouttes éparées ou en continu)

❖ Vent

Vent nul (rien ne bouge)

Légère brise à vent faible (sensation de vent sur le visage)

Vent moyen (les branches bougent)

Vent fort à grand vent (les arbres en entier sont agités)

❖ Sol

Sec

Humide

Mouillée

TITRE : ETUDE DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX INFLUENÇANT LA PRESENCE DE LA TIQUE RHIPICEPHALUS MICROPLUS DANS LES PATURAGES ET DE LA RESISTANCE AUX ACARICIDES DES POPULATIONS LOCALES A LA REUNION

RESUME

La présente étude vise à déterminer les facteurs environnementaux influençant la présence de la tique *Rhipicephalus microplus* dans les pâturages et de la résistance aux acaricides des populations locales à La Réunion. Des tiques gorgées ont été collectées sur des bovins dans plusieurs exploitations de l'île de la Réunion puis l'évaluation des résistances a été faite au laboratoire du CIRAD en utilisant le Larval Tarsal Test. Des collectes de tiques dans les pâtures ont ensuite été réalisées à l'aide de passage de drapeau puis des relevés de paramètres environnementaux et du couvert végétal, ont été faits afin d'évaluer les facteurs influençant la présence de la tique *R. microplus*. D'après l'étude, les tests acaricides n'ont pas été concluants probablement dû à l'utilisation du talc sur les œufs testés. Il est ainsi nécessaire de poursuivre la collecte des tiques sur les bovins afin d'évaluer à nouveau la résistance des tiques aux acaricides. Il ressort de l'étude que facteurs tels que les abords des parcelles, l'humidité relative, la hauteur des herbes peuvent expliquer la présence des larves de tiques mais l'âge des bouses de bovins comme proxy de la date de passage des bovins dans la parcelle semble être le facteur le plus important. Afin de réaliser des modèles pour prédire l'abondance des larves de tiques sur les pâturages et adapter les méthodes de lutte au contexte local, des passages de drapeau seront réalisés tout au long de l'année pour obtenir des données complètes sur une année.

TITLE

STUDY OF ENVIRONMENTAL FACTORS INFLUENCING THE PRESENCE OF THE TICK *RHIPICEPHALUS MICROPLUS* IN PASTURES AND THE RESISTANCE OF LOCAL POPULATIONS TO ACARICIDES IN LA RÉUNION

The current study aims to determine the environmental factors influencing the presence of the tick *Rhipicephalus microplus* in pastures and the resistance of local populations to acaricides in La Réunion. Engorged ticks were collected from cattle on several farms across La Réunion, and resistance evaluations were conducted at the CIRAD laboratory using the Larval Tarsal Test. Ticks were also collected in pastures using the flagging method, followed by recording environmental parameters and vegetation cover to assess factors influencing the presence of *R. microplus* ticks. According to the study, the acaricide tests were inconclusive, likely due to the use of talc on the tested eggs. Therefore, it is necessary to continue collecting ticks from cattle to reassess their resistance to acaricides. The study suggests that factors such as the edges of the parcels, relative humidity, and grass height may explain the presence of tick larvae. However, the age of cattle dung, used as a proxy for the timing of cattle presence in the parcel, appears to be the most important factor. To develop models that predict tick larval abundance in pastures and adapt control methods to the local context, flagging will be conducted throughout the year to obtain comprehensive data over a full year.