



Le chevreuil, indicateur et sentinelle du risque de contamination humaine par les maladies à tiques ?

En France, chaque année, environ 33 000 personnes sont impactées par la borréliose de Lyme, transmise par les tiques du genre *Ixodes*, notamment *Ixodes ricinus* qui est l'espèce prédominante sur notre territoire. Ces tiques transmettent généralement un grand nombre de zoonoses pour lesquelles peu de données sont encore disponibles concernant la présence et la répartition de ces pathogènes sur notre territoire. Tout ceci représente donc un risque important en termes de santé publique qu'il convient de mesurer afin de pouvoir s'en prémunir.

Les espaces naturels sensibles ont pour objectif de préserver la qualité des sites, d'assurer la sauvegarde des habitats naturels en préservant et favorisant la biodiversité et d'aménager ces espaces pour être ouverts au public. Cependant, les relations entre la biodiversité et le risque d'exposition aux zoonoses demeurent complexes. La biodiversité est un bon indicateur de la valeur du milieu mais implique aussi une plus grande richesse en différentes espèces micro-organismes pathogènes et en animaux capables de les transporter. Pour la maladie de Lyme notamment, une augmentation des hôtes impliqués dans le cycle de la bactérie pourrait être responsable d'une recrudescence de cas humains. La surveillance de ces maladies issues de nos milieux naturels, et particulièrement les espaces naturels sensibles identifiés et tous les espaces naturels, est par conséquent nécessaire afin d'assurer la meilleure prévention par les autorités de santé ou les acteurs locaux au sein des collectivités pour garantir la sécurité des populations.

Bien que la densité locale de tiques infectées soit un outil permettant d'estimer le risque de contamination humaine, il n'existe que très peu de surveillance systématique des populations de cet acarien du fait de la complexité et de la lourdeur des protocoles utilisés. L'objectif de ce projet est donc de déterminer les indicateurs permettant de prédire au mieux et le plus simplement possible ce risque. Il se décline en un travail de thèse visant à améliorer la connaissance de la distribution spatiale du risque de maladies à tiques à but de surveillance.

Le cycle de la tique est complexe et implique des interactions entre un certain nombre d'espèces sauvages. En particulier, des petits et grands mammifères sauvages jouent un rôle important, que ce soit dans l'entretien des populations de tiques ou dans leur probabilité d'acquérir le pathogène. Si elles remplissent certaines conditions, notamment si leur

exposition à l'infection par *Borrelia* peut être quantifiée, ces espèces pourraient alors être utilisées comme des sentinelles pour apporter des informations sur le risque d'exposition à l'infection sur le territoire dans lequel elles vivent.

Chez le chevreuil, qui est un hôte particulièrement favorable à la reproduction des tiques, les borrelies ne survivent pas, elles sont éliminées par le système immunitaire du mammifère. En revanche, l'exposition du cervidé à des morsures de tiques infectées entraîne chez lui une production d'anticorps spécifiques contre ces bactéries qu'il est possible alors de détecter par l'analyse sérologique d'un prélèvement sanguin.

Dans le cadre de ce projet, il est donc proposé i) de développer un outil de détection sérologique, chez le chevreuil, des anticorps dirigés contre les bactéries du complexe *Borrelia burgdorferi s.l.* ; ii) d'évaluer l'intérêt de développer l'utilisation du chevreuil comme sentinelle du risque d'exposition à l'infection par les maladies à tiques et plus particulièrement par les bactéries responsables de la maladie de Lyme pour au final, iii) cartographier le risque associé aux pathogènes à tiques dans l'environnement.

Ainsi, plusieurs aspects doivent être abordés. Il faut d'abord disposer d'une méthode de détection d'anticorps spécifiques de la bactérie responsable de la maladie de Lyme (*Borrelia burgdorferi s.l.*) efficace chez le chevreuil. Il est nécessaire ensuite d'obtenir différentes informations permettant d'interpréter et de modéliser les résultats obtenus.

A) Validation de l'outil séroprévalence chevreuil comme indicateur du risque de contamination humaine dans l'environnement.

a. Validation du test sérologique

Une première partie de mise au point sur les techniques de détection sérologique en laboratoire devra être réalisée afin de valider puis de développer pour les Laboratoires départementaux la méthode de détection d'anticorps spécifiques à *Borrelia burgdorferi s.l.* (*Bbsl*) chez le chevreuil.

Ceci repose sur l'adaptation de kits d'analyses immunologiques disponibles pour l'homme par changement de l'anticorps secondaire anti-IgG humain par un anticorps marqué anti-IgG de chevreuil. Les cervidés présentent une forte réponse immunitaire pour l'agent de la borréliose de Lyme et, outre les tests déjà réalisés par l'équipe du CEFÉ (CNRS) sur des échantillons prélevés par l'équipe du CEFÉ (INRA), ce type d'approche a déjà été utilisé chez des cervidés infectés par *Bbsl* dans le cadre de plusieurs études menées aux États-Unis et dans d'autres pays d'Europe. Il sera néanmoins important de consacrer un effort particulier à optimiser le test, notamment par l'utilisation de Western blots et de palettes de sera et de kits qui pourront permettre d'évaluer d'une façon relative la spécificité et sensibilité du test à utiliser, notamment en fonction des souches de *Bbsl* auxquelles peuvent être exposés les hommes et chevreuils. La disponibilité de sera déjà collectés sur des chevreuils dans des conditions expérimentales (station INRA) et dans le contexte de programmes de capture-marquage-recapture (VetagroSup, ONCFS) permettra de réaliser cette étape au CEFÉ, ainsi que l'utilisation de méthodes statistiques afin de prendre en compte l'incertitude du seuil de positivité.

b. Utilisation de la sérologie chez le chevreuil comme outil d'épidémiologie-surveillance.

L'utilisation de méthodes sérologiques par détection d'anticorps spécifiques d'un agent infectieux est une approche puissante, mais qui implique une série de contraintes importantes à considérer, en particulier lorsque ce type d'approche est utilisé pour des animaux sauvages, donc 'non-modèles'. Il s'agira notamment de travailler à évaluer la dynamique de la persistance du taux d'anticorps anti-*Bbs1* chez les chevreuils. Si le taux d'anticorps persiste longtemps, la sensibilité de l'approche sérologique sera plus forte (meilleure capacité à détecter qu'un individu a été exposé dans le passé), mais l'information sur le moment de l'infection sera moins bonne (difficulté à déterminer si l'individu a été exposé récemment).

Une courte demi-vie des anticorps du chevreuil dirigé contre ce pathogène permettrait l'évaluation d'un taux d'exposition et d'un taux de séroconversion. Une fois le protocole ELISA développé, une étude poussée de donnée de capture-marquage-recapture est donc prévue en parallèle d'une comparaison des statuts sérologiques et des informations qui seront disponibles sur les tiques des chevreuils. De la même manière que pour la première partie, la disponibilité de sera déjà collectés sur des chevreuils dans des conditions expérimentales (station INRA) et dans le contexte de programmes de capture-marquage-recapture (VetagroSup, ONCFS) permettra de réaliser cette étape au CEFE.

B) Cartographie de la borréliose de Lyme à l'échelle du territoire ELIZ et autres informations liées aux maladies à tiques.

Au niveau de l'échantillonnage du territoire couvert par les départements et régions engagés dans le projet avec ELIZ, chaque Fédérations Départementales des Chasseurs fournira des échantillons (sang sur buvard, rate et oreille) de 300 chevreuils répartis sur l'ensemble de chaque département. Ce plan d'échantillonnage permettra de disposer d'éléments pour évaluer des associations à plusieurs niveaux d'échelles hiérarchiques.

Chaque lot d'échantillons sera transmis au laboratoire départemental d'analyses pour :

- Test ELISA sur le sang sur buvard afin de détecter la présence d'anticorps dirigés contre *Borrelia burgdorferi s.l* selon le protocole établi par le CEFE/CNRS.
- Extraction d'ADN sur rate (kit NucleoSpin Tissue de Machery-nagel)
- Comptage, collecte et conservation des tiques des oreilles.

Enfin, les extraits d'ADN de rates seront transmis à l'ANSES Maisons-Alfort pour y détecter la présence éventuelle de 47 autres pathogènes transmis par les tiques grâce à une technique de biologie moléculaire récemment développée par l'équipe de Sara MOUTAILLER, la PCR microfluidique. Grâce à ces données, il sera possible, au niveau de l'individu, d'explorer la relation entre la détection d'anticorps dans le sang et celle d'acides nucléiques d'agents infectieux dans la rate, ainsi qu'avec un indice du niveau d'infestation par les tiques.

Au niveau du département et des régions, il sera possible d'explorer les associations entre la séroprévalence chez les chevreuils et les prévalences d'infections par les agents transmis par les tiques obtenues à partir des analyses moléculaires prévues. Les relations avec d'autres variables disponibles aux échelles départementales et régionales seront aussi étudiées, ainsi que la structuration spatiale des séroprévalence obtenues.

Exemple de cartographie du risque vis-à-vis de la maladie de Lyme.

En 2017 des scientifiques américains ont modélisé la cartographie du risque maladie de Lyme sur la totalité du territoire américain. L'étude était basée sur des analyses sérologiques sur chiens comprenant le biais de la population de chiens incluse dans le pool de l'analyse statistique mais n'ayant que très peu d'activité à l'extérieur.

Ce travail est toutefois remarquable et donne une image du risque vis-à-vis de la problématique Lyme à l'échelle de ce grand pays des plus précises

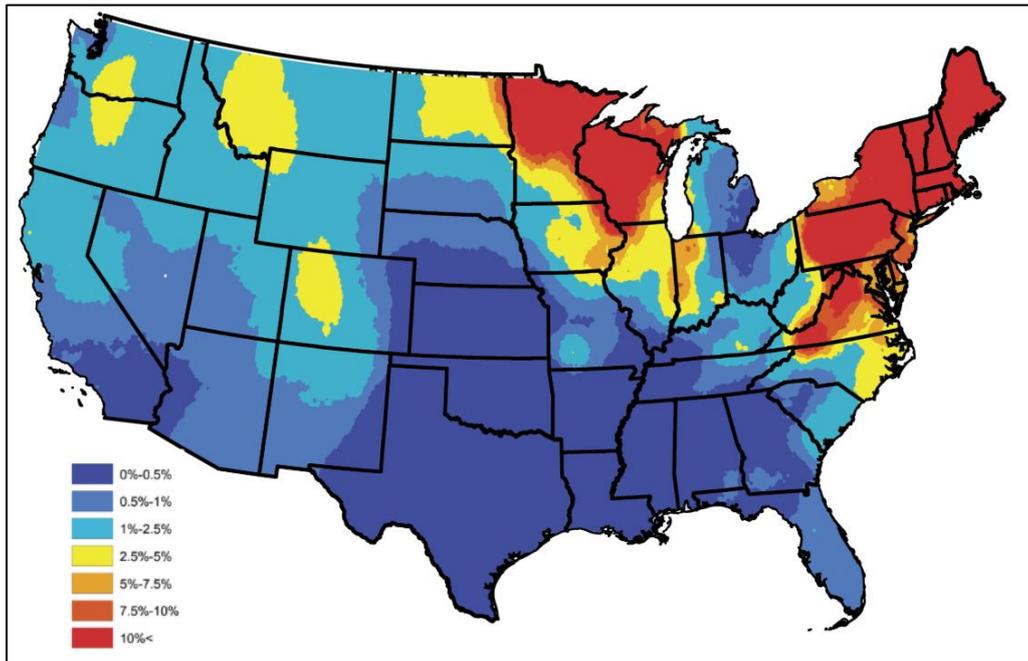


Fig. 9 Carte de la séroprévalence prévue des chiens aux États-Unis en 2015 (Watson & al., 2017).

Notre objectif dans le projet présenté ici est d'obtenir ce genre de carte mais à l'échelle d'un département. Cette échelle de travail rend la cartographie du risque infiniment plus précise que la carte présentée ci-dessus. Elle permettra de rendre aux Départements une information évolutive sur le risque vis-à-vis des maladies à tiques sur leur territoire avec une précision jamais réalisée jusque-là.

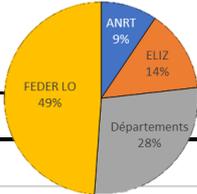
En outre travailler avec cette taille d'échantillonnage (300 chevreuils homogènement répartis sur tout le département) sur le chevreuil qui est une espèce présente partout et que la chasse approvisionne chaque année, augmente considérablement la finesse de ce type de cartographie et la précision de la démarche.

Croiser ces informations avec celles acquises sur le projet national CITIQUE mené par l'INRA et celles acquises par la cellule d'épidémiologie de Santé Publique France donnera un vrai nouveau paysage de la maladie de Lyme en France. **C'est une première mondiale sur le plan scientifique et technique mais aussi sur le plan conceptuel ainsi qu'en termes de taille d'échantillon et de superficie couverte que seuls les Départements auront pu mener à bien.**

C) Financement du projet.

Le projet est financé à 49% par l'Europe, par l'intermédiaire des Fonds Européens de développement régional (FEDER). Les 51% restants sont répartis entre les départements participants à l'étude à hauteur de **10 000€ par département adhérent** et l'ELIZ répartis sur trois ans

Les budgets présentés ci-dessous ont été montés pour 25 départements que compte l'Entente actuellement comme adhérents.



Bilan financier pour 25 départements				
	montant	Recettes		
		source	montant	Total
Fonctionnement	273 300,00 €	ANRT	84 000,00 €	273 300,00 €
		FEDER LO	83 231,75 €	
		ELIZ	106 068,25 €	
Partenariats scientifiques	179 500,00 €	FEDER LO	149 901,25 €	179 500,00 €
		ELIZ	29 598,75 €	
Matériel analyses labo	142 559,75 €	FEDER LO	85 179,45 €	142 559,75 €
		25 départements	57 380,30 €	
Partenariats locaux	300 000,00 €	FEDER LO	107 380,30 €	300 000,00 €
		25 départements	192 619,70 €	

Attribution de la subvention départementale

