

À la recherche d'un ADN environnemental

Jérôme Boissier

► **To cite this version:**

Jérôme Boissier. À la recherche d'un ADN environnemental: Un nouvel outil pour inférer le risque de propagation des maladies infectieuses transmises par les mollusques d'eau douce en Europe. Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail, ANSES, 2020, La lutte antivectorielle, pp.24-27. anses-03108466

HAL Id: anses-03108466

<https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-03108466>

Submitted on 13 Jan 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

À la recherche d'un ADN environnemental

Un nouvel outil pour inférer le risque de propagation des maladies infectieuses transmises par les mollusques d'eau douce en Europe

Jérôme BOISSIER, Université de Perpignan Via Domitia, IHPE UMR 5244, CNRS, IFREMER, Univ. Montpellier, 66860 Perpignan

Les partenaires : **Olivier Rey**, **Stephen Mulero**, **Philippe Douchet**, **Juliette Langand**, **Eve Toulza**, Univ. Perpignan Via Domitia, IHPE UMR 5244, CNRS, IFREMER, Univ. Montpellier, 66860 Perpignan - **Patrice David** et **Philippe Jarne**, Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive, UMR 5175 CNRS Univ. Montpellier, Univ. Paul Valéry Montpellier, IRD, EPHE – **Sylvie Hurtrez**, MIVEGEC, Univ. Montpellier, CNRS, IRD, Montpellier – **Marion Vittecoq**, Institut de recherche de la Tour du Valat, Arles ; MIVEGEC, Univ. Montpellier, CNRS, IRD, Montpellier

Projet en cours depuis 2019 : développement d'outils pour le contrôle des maladies infectieuses (durée : 3 ans) – Financement : 83.513 euros – Contact : boissier@univ-perp.fr

Mots-clés : schistosomiase, maladie infectieuse, maladie tropicale, parasitose, *Schistosoma*, parasite, ver, trématode, gastéropode, mollusque, eau douce, *Bulinus truncatus*, ADN, Corse

La schistosomiase (ou bilharziose) est une maladie infectieuse qui se rencontre généralement dans les régions tropicales et subtropicales, notamment dans les communautés démunies (Afrique subsaharienne) qui n'ont ni accès à l'eau potable ni à un système d'assainissement approprié. À l'échelle mondiale, c'est la deuxième maladie parasitaire la plus fréquente⁵⁴. Selon l'OMS, sa transmission est avérée dans 78 pays mais, avec l'avènement des échanges mondialisés⁵⁵, elle étend son aire

de répartition plus largement et en particulier en Europe du Sud. Ainsi, le Haut Conseil en Santé Publique (HCSP) confirmait en juin 2014 la survenue de cas de schistosomiase urogénitale chez des personnes qui s'étaient baignées, en 2011 et 2013, dans la rivière Cavu, au sud de la Corse.

Après la première émergence de l'été 2013 où 106 cas autochtones ont été diagnostiqués, de nouveaux cas ont été décrits chaque année de 2015 à 2019 (la rivière a été fermée à la baignade en 2014). Un nouveau cas de 2019 est attribué à une autre rivière que celle initialement contaminée - le parasite étant passé de la rivière du Cavu à la Solenzara. Les analyses génétiques ont également montré que c'est la même souche hybride *S. haematobium*/*S. bovis* qui circule depuis le début de l'épidémie. Tous ces éléments nous montrent que l'on assiste à l'endémisation de cette pathologie tropicale dans le sud de l'Europe.

La schistosomiase (ou bilharziose)

La schistosomiase est une maladie chronique causée par des trématodes (vers parasites) du genre *Schistosoma*. Elle se transmet au contact de sources d'eau douce infestées par les larves infectantes du parasite. Ces larves sont libérées par de petits escargots aquatiques puis elles pénètrent par voie transcutanée dans la peau des baigneurs. Après passage de l'épiderme et du derme, elles pénètrent dans les vaisseaux sanguins pour migrer dans le corps de l'hôte mammifère tout en se différenciant en mâles ou en femelles. Une fois les couples formés, les vers adultes vont migrer soit vers le plexus péri-vésical⁵⁶ pour *Schistosoma haematobium*, soit vers les veines mésentériques⁵⁷ pour *S. mansoni*. Quotidiennement, des centaines d'œufs produits par les femelles sont alors libérés dans l'urine ou dans les selles, en fonction de l'espèce et donc du tropisme du parasite.

⁵⁴Après le paludisme ou la malaria.

⁵⁵Changement climatique, mouvements de la population, causes anthropiques...

⁵⁶ C'est-à-dire les veines entourant la vessie.

⁵⁷ C'est-à-dire les veines entourant l'intestin.

Il existe deux formes de la maladie :

- La schistosomiase intestinale à *S. mansoni* qui peut provoquer une diarrhée et la présence de sang dans les selles.
- La schistosomiase urogénitale à *S. haematobium*, caractérisée par la présence de sang dans les urines, qui provoque couramment une fibrose de la vessie⁵⁸ et de l'urètre. Chez la femme, elle peut entraîner des lésions génitales, des saignements vaginaux, des douleurs lors des rapports sexuels et le développement de nodules dans la vulve. Chez l'homme, elle peut entraîner des maladies des vésicules séminales et de la prostate et avoir des conséquences, à long terme, sur la stérilité.

Pourquoi la transmission persiste ?

Dans le cycle parasitaire, l'hôte intermédiaire pour *S. haematobium* et *S. bovis* est un bulin (*Bulinus truncatus*), un petit mollusque d'eau douce qui se trouve être présent dans au moins quatre rivières en Corse⁵⁹ : Cavu, Solenzara, Osu et Tarcu. Il a été montré expérimentalement qu'un mollusque infecté par la souche qui circule en Corse peut résister aux températures hivernales du Sud de l'Europe (environ 8°C)⁶⁰. Cette persistance peut en partie expliquer une maintenance sur deux ans, mais pas au-delà car le parasite tue le mollusque en quelques mois.

Depuis 2015, chaque année, trois à cinq mille bulins sont prélevés dans le Cavu⁶¹, puis

analysés par PCR à la recherche de schistosomes, toutes les analyses se sont révélées négatives. Pourtant, le parasite circule puisque chaque année nous retrouvons des personnes infectées. En outre, s'il est connu que les schistosomes peuvent aussi contaminer des rongeurs, seuls deux rats⁶² ont été découverts positifs et les enquêtes sérologiques vétérinaires⁶³ n'ont pas permis de mettre en évidence d'autre animal réservoir (bovin, ovin ou caprin) dans le sud de la Corse⁶⁴. En l'absence d'un cycle animal démontré, il est vraisemblable que la persistance d'une transmission locale soit due à un réservoir de parasites humains (une ou plusieurs personnes) ou animal qui réintroduirait régulièrement les parasites dans la rivière.

Comment détecter ou dépister les zones à risque potentiel ou le mollusque vecteur est présent, mais aussi les zones à risque avéré ou le pathogène est présent ?

Le projet de recherche : MOLRISK

La recherche des mollusques vecteurs de schistosomes (ou des maladies transmises par les mollusques en général) est une approche qui n'est pas triviale, car elle demande beaucoup de temps et le regard d'un spécialiste en malacologie⁶⁵. De plus, les populations de mollusques sont très variables dans l'espace et dans le temps, ce qui complexifie leur recherche. Cette recherche est pourtant indispensable pour identifier les zones du Sud de l'Europe où le parasite pourrait s'installer. En effet, si on sait de façon très grossière que les bulins sont présents en France, en Italie, en Espagne, au Portugal ou en Grèce, nous ne savons pas exactement dans quels points d'eau

⁵⁸ Susceptible d'évoluer en cancer de la vessie, à un stade tardif.

⁵⁹ Outre la Corse, il est aussi présent en Sardaigne, en Espagne, au Portugal ainsi qu'en Afrique et au Moyen-Orient.

⁶⁰ Mulero, S., Rey, O., Arancibia, N., Mas-Coma, S., Boissier, J., 2019. Persistent establishment of a tropical disease in Europe: the preadaptation of schistosomes to overwinter. *Parasites & Vectors* 12, 379 (Financement : Anses)

⁶¹ 3.453 en 2016, 5.364 en 2017 et 3.500 en 2018.

⁶² Sur 34 analysés.

⁶³ Financées par l'Anses : près de 3.500 animaux testés.

⁶⁴ Avis de l'Anses relatif à la stratégie de gestion concernant les mesures à mettre en place en cas de survenue des cas de bilharziose en Corse, 25 mars 2016 (saisine No 2016-SA-0023).

⁶⁵ Étude des mollusques.

ni dans quelles zones (département, région...) ils sont présents. Nous n'avons pas de carte de risque analogue à celle que nous avons pour le moustique tigre, par exemple. Cependant, la présence du mollusque ne signifie pas la présence du parasite et donc un site actif de transmission ; il est donc aussi nécessaire d'identifier les zones où le parasite est présent. Malheureusement, la détection chez l'homme puis le retraçage des sites de transmissions par enquête sont des processus lents qui ne permettent pas de contrôler l'épidémie de manière efficace. Le développement d'outils permettant de détecter le vecteur et le pathogène dans l'environnement semble primordial pour améliorer la surveillance environnementale et ainsi éviter et contrôler les nouvelles émergences.

Pour améliorer la surveillance environnementale, le projet MOLRISK propose donc de détecter l'ADN du mollusque vecteur et du parasite dans l'eau. À ce jour, cette technique dite de « recherche d'ADN environnemental » existe pour différents parasites comme les trématodes⁶⁶, les dinophytes ou dinoflagellés⁶⁷, les champignons⁶⁸... Mais elle nécessite encore d'être mise au point pour de nombreux pathogènes transmis par les mollusques d'eau douce et/ou validée sur des écosystèmes variés pour en faire un outil de surveillance opérationnel. Le projet MOLRISK propose soit de vérifier l'adaptabilité des méthodes existantes dans des écosystèmes variés, soit de développer de nouvelles méthodes pour certains couples hôte/parasite.

Méthodologie

Le projet MOLRISK s'intéresse à la schistosomiase mais aussi à plusieurs maladies

⁶⁶ *Opisthorchis viverrini*, *Ribeiroia ondatrae*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mansoni*, *Trichobilharzia*, *Fasciola hepatica*, *Calicophoron daubneyi*.

⁶⁷ *Hematodinium* sp.

⁶⁸ *Aphanomyces astaci*, *Batrachomyxium dendrobatidis*.

transmises par les couples hôtes/parasites : *Biomphalaria glabrata*/S. *mansoni* - *Bulinus truncatus*/S. *haematobium* - *Galba* sp./*Fasciola hepatica*⁶⁹ - *Galba* sp./*Calicophoron daubneyi*⁷⁰ dans différents écosystèmes : Corse, Cameroun, Guadeloupe et Salamanque pour la schistosomiase ; Camargue et Pyrénées pour les fasciolose et paramphistomose.

Nous développons soit des approches ciblées qui visent une seule espèce (par qPCR ou PCR digitale), soit des approches globales (Métabarcoding) pour un ensemble d'espèces.



Illustration 12 : Prélèvement d'eau (Photo : Stephen Mulero)

Résultats préliminaires

Dans un premier temps, nous nous sommes focalisé sur la détection de l'ADN des mollusques. Nous avons développé un outil ciblé qui permet d'identifier avec une fiabilité de 100% la présence de *Bulinus truncatus* dans un environnement aquatique lotique (rivière). Cette méthode a été validée en Corse dans les rivières du Cavu et de la Solenzara⁷¹.

Nous avons également développé une approche globale qui permet de décrire l'ensemble des mollusques (et donc identifier les différents mollusques hôtes de parasites

⁶⁹ Agent de la fasciolose (trématodose d'origine alimentaire).

⁷⁰ Agent de la paramphistomose (douve de l'estomac : affection qui touche les bovins et ruminants).

⁷¹ Mulero, S., Boissier, J., Alliene, J.F., Quilichini, Y., Foata, J., J.-P., P., Rey, O., 2019. Environmental DNA for detecting *Bulinus truncatus*: A new environmental surveillance tool for schistosomiasis emergence risk assessment. Environmental DNA.

humains et/ou animaux) de ces habitats lotiques. Nous avons filtré puis amplifié l'ADN contenu dans trois litres d'eau et comparé à une prospection malacologique classique (à l'épuisette !).

Après avoir testé notre méthode dans 23 rivières Corses, nous montrons que l'ADN environnemental converge à 97% avec la méthode classique⁷². Nos efforts sont désormais concentrés sur la détection de certains mollusques et de parasites dans des écosystèmes différents afin de valider l'universalité de ces approches basées sur l'ADN environnemental.

⁷² [Malacological survey in a bottle of water: A comparative study between manual sampling and environmental DNA metabarcoding approaches](#)

Stephen Mulero, Eve Toulza, AnaïsLoisier, Meryl Zimmerman, Jean-François Allienne, JoséphineFoata, Yann Quilichini, Jean-Pierre Pointier, Olivier Rey, Jérôme Boissier bioRxiv 2020.05.21.108589;
DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.05.21.108589>
