



Anaplasma phagocytophilum

Dans le cadre de la surveillance des maladies émergentes, les agents pathogènes à transmission vectorielle occupent une place importante. Au cours des missions réalisées par le Réseau en 2013, des analyses ciblées ont été réalisées pour alimenter 3 études : fièvre catarrhale ovine, Schmallenberg et l'encéphalite à tiques. Le traitement de ces résultats est toujours en cours. Par contre, les analyses relatives à *Anaplasma phagocytophilum* sont terminées et les résultats finaux ont fait l'objet d'une thèse de doctorat qui a été présentée en Juin 2014 (Dr. A. Nahayo, doctorant dans le service faune sauvage). Le résumé de la thèse est transmis ci-dessous

Thèse de doctorat - A. Nahayo - juin 2014 :

« Contribution à l'étude épidémiologique d'*Anaplasma phagocytophilum* chez des cervidés et suidés sauvages en région wallonne »

Résumé de la thèse

Au cours des vingt dernières années, de nombreuses études ont souligné l'importance croissante des maladies vectorielles. Au sein des arthropodes, les tiques occupent la deuxième place, après les moustiques, en tant que vecteurs d'agents pathogènes. L'anaplasmose granulocytaire humaine est une zoonose transmise par des tiques et dont l'agent responsable est *Anaplasma phagocytophilum*, une bactérie intracellulaire obligée qui infecte essentiellement les granulocytes neutrophiles. L'anaplasmose granulocytaire humaine est considérée comme une maladie émergente qui suscite l'intérêt du monde scientifique. Jusqu'à présent, de nombreuses études ont été réalisées aussi bien sur les tiques vectrices d'*A. phagocytophilum* que sur les différentes espèces animales considérées comme réservoirs. Mais il reste actuellement beaucoup d'inconnues quant aux multiples mammifères sauvages qui hébergent cette bactérie et qui pourraient être considérés comme réservoirs potentiels.

Dans ce contexte, les objectifs généraux de cette thèse étaient de déterminer si *A. phagocytophilum* circule au sein des populations de cervidés sauvages (cerfs et chevreuils) présents dans la zone d'étude (Région wallonne) et si ces espèces sont des réservoirs compétents pour *A. phagocytophilum*. En outre, vu les populations importantes de suidés sur l'ensemble de la région, l'espèce sanglier a été la troisième espèce cible incluse dans l'étude.

Pour remplir ces objectifs, des prélèvements ciblés (sang et rate) ont été réalisés sur les espèces cibles dans le cadre du programme de surveillance active mis en œuvre par le réseau de surveillance décrit dans la première étude. En 2006 puis 2011 et 2012, 854 cervidés et 513 sangliers ont été prélevés au sein des 33 unités géographiques couvrant la zone d'étude. Les échantillons ont été identifiés en fonction de l'espèce, de l'âge, du sexe de l'animal ainsi que de la date et du lieu de prélèvement. Un test d'immunofluorescence indirecte a été réalisé sur sérum pour détecter les anticorps anti *A. phagocytophilum* et une PCR 16S (qui permet d'amplifier un fragment du gène qui code pour l'ARN ribosomal 16S) a été mise en œuvre sur les échantillons spléniques. Une partie des amplicons obtenus a été séquencée.

Les enquêtes menées en cervidés ont montré que la séroprévalence apparente globale, en 2006 et 2012, était respectivement de 95 % et 88 % pour l'espèce chevreuil et de 37% et 32% pour l'espèce cerf. Les résultats PCR ont révélé que 94 % des cerfs (79 sur 84) et 81 % des chevreuils (245 sur 300) étaient infectés



par *A. phagocytophilum* et que les résultats positifs étaient uniformément répartis sur l'ensemble de la zone d'étude. Par contre, le taux d'infection des sangliers était très faible puisque moins de 1 % des rates étaient PCR positives.

En conclusion, nous avons montré pour la première fois en Belgique qu'*A. phagocytophilum* circulait de manière endémique au sein des populations de cervidés sauvages vivant en Région wallonne. Deux enquêtes sérologiques ont fourni les premiers indices de présence de cette bactérie chez des cerfs et chevreuils. Les analyses PCR ont ensuite révélé que ces deux espèces étaient fortement infectées par *A. phagocytophilum* par opposition aux sangliers qui présentaient des taux d'infection très faibles. Sur l'ensemble des résultats PCR positifs, les 25 amplicons séquencés étaient identiques quelle que soit l'origine de l'espèce (cerf, chevreuil ou sanglier) et ils présentaient 100 % de similitude avec 2 souches d'origine humaine et plusieurs souches d'origine animale. Cependant, des études supplémentaires, basées sur des techniques de typage multigéniques, sont nécessaires pour comparer les variants d'*A. phagocytophilum* qui circulent en faune sauvage avec ceux éventuellement isolés chez l'homme et les animaux domestiques présents dans la région.

Addendum

Dans cette thèse, une étude complémentaire a été réalisée sur les tiques présentes sur des cervidés prélevés en région wallonne :

Lorsqu'on s'intéresse à des agents pathogènes à transmission vectorielle, plusieurs niveaux de surveillance peuvent être envisagés. En effet, les programmes de surveillance peuvent concerner (1) les espèces sensibles ; (2) les espèces réceptives ; (3) les vecteurs ; (4) l'homme et enfin (5) l'environnement. Dans le cadre de la thèse sur *A. phagocytophilum*, le programme de surveillance a concerné les espèces réceptives (cervidés et suidés sauvages). Cependant, une étude de terrain ciblant cette fois les tiques a été également réalisée. Elle avait pour objectif de répertorier les différentes espèces de tiques dures collectées sur des cervidés sauvages abattus à la chasse ou trouvés morts. Sur 161 animaux, 2347 tiques ont été détectées et identifiées morphologiquement (genre, espèces, sexe et stade de développement) avec l'aide du Service de Parasitologie de la Faculté de Médecine vétérinaire et en respectant une clé d'identification (Arthur, 1963). Dans la majorité des cas, il s'agissait d'*Ixodes ricinus* (99,3 % des cas soit 2331 tiques) mais 16 *Dermacentor reticulatus* de sexe mâle ont été détectés sur 5 cerfs provenant de 3 zones différentes (Bertrix, Habay, Bièvre). En Belgique, *D. reticulatus* était, auparavant considéré comme une espèce rare mais des études récentes (Losson *et al.*, 2003; Cochez *et al.*, 2012; Claerebout *et al.*, 2013) prouvent que cette tique est maintenant bien présente en Belgique et peut être considérée comme une espèce de tique émergente. De plus, en 2010, 36 *D. reticulatus* furent récoltés sur un cerf et 5 de ces tiques se révélèrent PCR positives pour *A. phagocytophilum*.