

## Développement d'un test rapide mesurant l'exposition de l'homme aux piqûres d'*Aedes albopictus*

*Développement d'un test rapide mesurant l'exposition de l'homme aux piqûres d'Aedes albopictus : contribution à l'évaluation du risque vectoriel et application à l'évaluation de l'efficacité des stratégies de lutte anti-vectorielle*

Anne POINSIGNON

**Mots-clés :** exposition, insecte, dengue, résistance, chikungunya, arbovirus, Sud de la France, pesticide, substance active, biocide, insecticide, *Aedes albopictus*, moustique, biomarqueur

L'expansion rapide et l'implantation durable du moustique tigre (*Aedes albopictus*) en France métropolitaine et dans les territoires d'outre-mer font craindre le déclenchement de foyers épidémiques d'arboviroses telles la dengue, le chikungunya et la fièvre Zika. En l'absence de traitements ou de vaccins efficaces, la lutte anti-vectorielle (LAV) est la seule méthode envisageable pour contrôler ce risque et diminuer les densités de moustiques du genre *Aedes*.

Toutefois, les méthodes de surveillance entomologique mises en œuvre par les services de santé (ex. cartographie des gîtes larvaires d'*Ae. albopictus*, piégeage des moustiques femelles adultes...) ont des limites importantes, en particulier quant à leur déploiement à grande échelle et leur fiabilité. Comment évaluer avec précision l'exposition humaine aux risques de transmission d'arbovirus, en particulier au niveau individuel ?

### Mise au point d'un nouveau test

Pour mesurer l'exposition humaine aux piqûres d'*Aedes albopictus*, la mise au point d'un nouvel outil sérologique pourrait représenter, sur le terrain, une alternative intéressante aux méthodes entomologiques actuelles. Cet indicateur s'appuie sur la détection dans le sang humain des anticorps (Ac) dirigés spécifiquement contre des protéines de la salive d'*Aedes*. La présence de ces Ac indique une

exposition passée de l'individu. Ce test peut aussi être utilisé pour tester l'efficacité de la lutte anti-vectorielle. Une diminution du taux de ces anticorps<sup>40</sup> serait associée à une réduction du contact homme-*Aedes* et donc à une bonne efficacité des méthodes de LAV.

### Le projet de recherche : Exp-Albo

L'objectif principal du projet consistait à identifier et à valider un biomarqueur d'exposition aux piqûres d'*Ae. albopictus*.

### Méthodologie et Résultats

La première étape consistait à évaluer le potentiel biomarqueur de candidats salivaires dans le contexte d'exposition en France métropolitaine au moment du projet (exposition récente et saisonnière). Une approche immuno-protéomique, couplée à des analyses bio-informatiques, a permis d'identifier la protéine salivaire de 34 kDa comme meilleur candidat<sup>41</sup> et d'en sélectionner trois sous-parties ou peptides : chez *Ae. aegypti* (« peptide *Aedes* 1 ») et chez *Ae. albopictus* (« peptides *Aedes* 2 et 3 ») d'après leurs caractéristiques d'immunogénicité<sup>42</sup> et de spécificité aux *Aedes* (permettant ainsi de mesurer uniquement l'exposition aux *Aedes*). Devant la difficulté à mettre en évidence la présence d'Ac spécifiques à ces 3 peptides candidats, l'étude s'est orientée vers la validation de la réponse Ac spécifique de la salive totale d'*Ae. albopictus* comme

<sup>40</sup> Préalablement validés comme biomarqueurs d'exposition aux piqûres d'*Aedes*.

<sup>41</sup> Spécifique au genre *Aedes* et immunogène chez les populations humaines.

<sup>42</sup> Capacité à induire une synthèse d'anticorps : les personnes piquées ont-elles développé des anticorps anti-peptides ?

biomarqueur d'exposition dans ce contexte métropolitain.

Cette étape a confirmé la colonisation de nombreux territoires (ex. Corse, PACA, Languedoc-Roussillon) par *Aedes albopictus* par la mise en évidence d'une réponse anticorps spécifique à la salive d'*Ae. albopictus* détectée chez 54% des personnes testées<sup>43</sup>. Celles résidant dans les régions colonisées depuis plus longtemps par *Ae. albopictus* présentaient une réponse IgG<sup>44</sup> plus élevée que ceux résidant en Midi-Pyrénées<sup>45</sup> et dans des régions non colonisées (ex. Auvergne, Loire). Toutefois, une variabilité importante du niveau de réponse d'un individu à l'autre a été notée, y compris à l'intérieur d'une même région.



*Aedes albopictus* femelle  
(Source : Michel Dukhan – IRD<sup>46</sup>)

La validation des peptides salivaires *Aedes* 1 et 2 comme outils permettant d'évaluer l'efficacité des stratégies de LAV<sup>47</sup> a ensuite été entreprise. Des individus adultes naturellement exposés aux piqûres d'*Ae. albopictus* présentaient une réponse spécifique au peptide salivaire *Aedes* 1 dont le niveau a diminué de façon significative après la mise en place d'une LAV, indiquant la pertinence de cet outil sérologique pour l'évaluation de l'efficacité des stratégies de lutte. Bien que ce test soit standardisé et robuste, sa mise en œuvre nécessite deux jours, certains équipements et un personnel qualifié.

L'étape suivante a donc consisté à développer ce biomarqueur sous la forme d'un test plus rapide et simple d'utilisation, de type « bandelette auto-réactive », particulièrement adapté aux conditions de terrain et acceptable par les populations (utilisable à partir d'une simple goutte de sang prélevée par exemple au bout du doigt). Aussi appelé POC (de l'anglais, *point of care*), il s'agit d'un test immuno-chromatographique à flux latéral sur bandelette conditionnée sous un format cassette. Il met en œuvre un principe proche de celui des tests de grossesse. Le test se révèle négatif lorsqu'une seule bande colorée apparaît au niveau de la zone de contrôle (prouvant que le dispositif a bien fonctionné) ou se révèle positif lorsqu'en plus de la bande contrôle, une bande colorée clairement visible apparaît au niveau de la zone test.

“ Un tel outil pourra être utilisé sur le terrain pour tester l'efficacité de la lutte anti-vectorielle. ”

Le prototype a été développé en utilisant des sérums identifiés positifs en ELISA présentant ainsi des Ac IgG spécifiques au peptide salivaire candidat *Aedes* 1. L'objectif était d'obtenir un signal traduisant une réponse qualitative de l'exposition (absence/présence) et/ou dont l'intensité reflète la quantité d'IgG humaines dirigées contre le peptide candidat (réponse quantitative ou semi-quantitative). Différents développements ont permis de définir les conditions optimales<sup>10</sup> et la réduction du temps de réalisation du test d'une heure à trente minutes. Mais sur l'ensemble des sérums testés, seuls 40% des individus positifs en ELISA se sont révélés aussi positifs en « bandelette ». Le test bandelette actuel paraît donc moins sensible que la méthode ELISA de référence.

<sup>43</sup> Échantillon de 247 individus sélectionnés par tirage au sort.

<sup>44</sup> L'immunoglobuline G est une des protéines du système immunitaire ; elle est plus connue sous le nom d'anticorps.

<sup>45</sup> Un seul département colonisé à partir de 2012.

<sup>46</sup> Photothèque : [www.indigo.ird.fr](http://www.indigo.ird.fr)

<sup>47</sup> Mises en place précédemment sur l'île de la Réunion.

Une optimisation de la bandelette et une étude à plus grande échelle avec des échantillons plus frais restent nécessaires pour améliorer et valider le prototype et également tester ses performances (sensibilité, rapidité, portabilité, stabilité, robustesse).

La disponibilité d'un tel outil est d'intérêt pour la santé publique. Il pourra être utilisé sur le terrain par les opérateurs publics de démoustication et leur fournira une estimation individuelle et en temps réel de l'efficacité de la LAV sur le contact homme-*Aedes*, sans passer par une analyse ultérieure en laboratoire.

### Publications issues de ce projet

*Human IgG Antibody Response to Aedes Nterm-34kDa Salivary Peptide, an Epidemiological Tool to Assess Vector Control in Chikungunya and Dengue Transmission Area.* Elanga Ndille E, Doucoure S, Poinsignon A, Mouchet F, Cornelie S, D'Ortenzio E, DeHecq JS, Remoue F. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016 Dec 1;10(12):e0005109.

doi: [10.1371/journal.pntd.0005109](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005109) 

### Les partenaires :

**Anne POINSIGNON, Franck REMOUE, Emmanuel Elanga N'DILLE et Denis BOULANGER**

UMR MIVEGEC IRD 224-CNRS 5290-Université Montpellier

**David PIQUEMAL et Bernadette TRENTIN**

ACOBION, Montpellier

**Période :** du 31 octobre 2013 au 31 mars 2016

**Financement :** 49 K€

**Contact :** [anne.poinsignon@ird.fr](mailto:anne.poinsignon@ird.fr)