



**RÉPUBLIQUE  
FRANÇAISE**

*Liberté  
Égalité  
Fraternité*



**OFB**  
OFFICE FRANÇAIS  
DE LA BIODIVERSITÉ

**Établissement public à caractère administratif**

**Siège :**

Office Français de la Biodiversité  
12, Cours Louis Lumière  
94300 Vincennes

**Direction générale déléguée Ressources – Direction des Finances :**

Service Commande Publique

Téléphone : 01 45 14 88 99

Siret : 130 025 919 00015

**OBJET DE LA CONSULTATION**

**Extraction d'ADN à partir de tiques collectées dans l'environnement.**

**Marché n° 2026-MAPA-07**

## SOMMAIRE

1. Présentation de l'établissement .....	3
2. Contexte.....	3
3. Objet de l'accord-cadre .....	4
4. Estimatifs quantitatifs .....	4
5. Prestations attendues.....	4
5.1. Objectifs poursuivis que l'extraction d'ADN doit permettre de satisfaire.....	4
5.2. Etapes de l'extraction à réaliser.....	4
6. Délais d'exécution des prestations .....	6
7. Livrables.....	6
7.1 Rapports intermédiaires .....	6
7.2 Rapport final.....	7
8. Propriété.....	8
8.1 Propriété des prélèvements et ADN extraits.....	8
9. Annexes au CCTP.....	8

## 1. Présentation de l'établissement

L'Office français de la biodiversité (OFB) est un établissement public placé sous la tutelle du ministère de l'environnement et du ministère de l'agriculture. Il est dédié à la sauvegarde de la biodiversité. Il contribue, s'agissant des milieux terrestres, aquatiques et marins, à la surveillance, la préservation, la gestion et la restauration de la biodiversité terrestre, aquatique et marine, ainsi qu'à la gestion équilibrée et durable de l'eau en coordination avec la politique nationale de lutte contre le réchauffement climatique.

L'OFB réalise 5 missions complémentaires :

- la police de l'environnement et la police sanitaire de la faune sauvage
- la connaissance, la recherche et l'expertise sur les espèces, les milieux et leurs usages
- l'appui à la mise en œuvre des politiques publiques
- la gestion et l'appui aux gestionnaires d'espaces naturels
- l'appui aux acteurs et la mobilisation de la société.

L'OFB est directement gestionnaire ou co-gestionnaire d'aires protégées, auxquelles il dédie des moyens humains, financiers et techniques ; notamment :

- 8 parcs naturels marins (6 en métropole et 2 dans les Outre-mer),
- 110 sites Natura 2000 à composante marine et 4 sites Natura 2000 terrestres
- 8 réserves naturelles nationales (RNN)
- 10 réserves nationales de chasse et de faune sauvage (RNCFS) (10 des 11 RNCFS existantes sont gérées par l'OFB) ;

Ainsi que des sites, non considérés comme aires protégées au sens de la SNAP :

- 6 réserves de chasse et de faune sauvage (RCFS) ;
- 3 réserves de chasse et de faune sauvage de Corse (RCFS de Corse).

Des informations supplémentaires sur ces aires protégées sont disponible sur le site internet de l'OFB : <https://ofb.gouv.fr/gerer-et-restaurer-les-espaces-proteges>

## 2. Contexte

La Direction de la Recherche et Appui Scientifique (DRAS) est l'une des 2 directions « connaissance » de l'OFB, en charge de la recherche et de l'expertise sur les espèces, sur les milieux, leurs fonctionnalités et leurs usages, ainsi que sur les risques sanitaires en lien avec la faune sauvage. Elle est composée de 5 entités dont le service Santé Agri (santé de la faune et fonctionnement des écosystèmes agricoles). La programmation scientifique de ce service inclut différents thèmes prioritaires dont « effets, impacts et transferts des agents polluants et infectieux dans l'environnement », « l'investigation des liens entre fonctionnalités des écosystèmes et processus infectieux et polluants » et « la conservation des agroécosystèmes pastoraux, bocagers et prairiaux ».

Dans le cadre de cette programmation, à la croisée des enjeux de santé publique, de santé des animaux domestiques et sauvages et de conservation des écosystèmes pâturés, un des projets du service a pour finalité d'améliorer les connaissances sur les

systèmes hôte – tiques- agent pathogène au sein d'un agrosystème de montagne par une approche intégrée. Ce programme requiert d'analyser les agents pathogènes vectorisés par les tiques circulant au sein de cet écosystème sur plusieurs années afin de comprendre les déterminants de leur dynamique en fonction de variables environnementales et des variations de communautés d'hôtes.

### 3. Objet de l'accord-cadre

Le présent accord-cadre a pour objet l'extraction d'ADN à partir de tiques collectées dans l'environnement, soit libres, soit en cours de gorgement sur les hôtes (mammifères et oiseaux), conservées dans l'alcool. L'extraction d'ADN à partir de sang des hôtes fait également partie de la prestation.

### 4. Estimatifs quantitatifs

Le nombre annuel d'extractions (individuelles ou par pools = groupes de tiques sur un même hôte, par exemple) est communiqué à titre purement indicatif et sans engagement contractuel :

- Entre 400 et 1000

### 5. Prestations attendues

Une réunion de cadrage est organisée une fois par an pour discuter du bon fonctionnement de la réalisation du marché.

#### 5.1. Objectifs poursuivis que l'extraction d'ADN doit permettre de satisfaire

L'objectif principal est d'améliorer les connaissances des systèmes hôte – tique- agent pathogène, notamment en investiguant les liens entre la dynamique des tiques, des agents pathogènes bactériens transmis et celle des hôtes. Les agents pathogènes ciblés sont ceux revêtant un enjeu en santé publique, santé des animaux domestiques et pour la conservation de certaines espèces sauvages.

Les objectifs de l'extraction d'ADN sont les suivants :

- Identifier les agents pathogènes bactériens portés par les tiques : l'ADN extrait fait l'objet d'analyses PCR ciblant différents agents pathogènes.
- Confirmer l'espèce de tique : les espèces de tiques sont identifiées visuellement mais des erreurs peuvent être commises en fonction du stade et de l'intégrité des tiques collectées.
- Identifier les agents pathogènes bactériens à partir de sang prélevé sur des hôtes (mammifères ou oiseaux) des tiques, l'ADN est alors extrait à partir du sang.

#### 5.2. Etapes de l'extraction à réaliser

##### 1- Réception et stockage des échantillons

Les tiques (ou le sang des hôtes) sont collectées sur le terrain par les agents de l'OFB puis conditionnées dans l'alcool dans des tubes Eppendorf et stockées à -20°C avant

d'être transmis au titulaire, accompagnées d'un tableur Excel répertoriant tous les échantillons avec leur identifiant.

Si besoin, le titulaire reconditionne les tiques reçues selon la demande clairement indiquée dans le bon de commande (conditionnement individuel ou nombre de tiques par pool défini). L'identifiant des échantillons et l'adéquation avec la base de données fournie sont vérifiés. Les échantillons reconditionnés sont stockés à 4°C jusqu'à l'étape d'extraction.

## 2- Pré-traitement des échantillons (tiques)

Le pré-traitement consiste à éliminer les traces d'éthanol pour faciliter le processus d'extraction d'ADN. Pour cela, chaque individu ou pool d'individus provenant d'un même tube seront lavés à l'eau milliQ dans deux bains successifs de 5 minutes. Les tiques seront ensuite séchées sur du papier absorbant avant d'être placées dans des tubes NucleoSpin® Bead Tube Type D ou dans des tubes Lysing Matrix S selon le protocole retenu (cf. § suivant), préalablement identifiés.

Les échantillons seront extraits par série immédiatement après pré-traitement et chaque série comptera un témoin négatif d'extraction.

## 3- Extraction d'ADN par kit commercial

Deux kits commerciaux d'extraction peuvent être utilisés dans le cadre de ce marché.

- Extraction d'ADN par kit NucleoSpin DNA Insect (MachereyNagel®)

La méthode d'extraction doit suivre le protocole fourni par le fournisseur de kit NucleoSpin DNA Insect (MachereyNagel®) : cf. annexe 1.

- Extraction d'ADN par kit NucleoSpin Tissue

La méthode d'extraction doit suivre le protocole fourni par le fournisseur de kit NucleoSpin DNA Insect (MachereyNagel®) : cf. annexe 2. Pour l'extraction d'ADN sur sang, uniquement ce kit et la méthode explicitée en annexe 3 doivent être utilisées.

## 4- Contrôle qualité des ADN extraits

Un contrôle qualité est demandé au titulaire et doit être inclus dans l'offre.

## 5- Quantification de l'ADN extrait

La quantification de l'ADN permet de vérifier le bon déroulement de l'extraction pour chacun des échantillons et également d'apporter les éléments indispensables à l'homogénéisation des concentrations d'ADN de l'ensemble des échantillons pour la suite des processus analytiques envisagés par le(s) laboratoire(s) réalisant l'identification des agents pathogènes.

## 6- Stockage et envoi des ADN et du fichier de résultat au titulaire en charge de l'analyse des agents pathogènes

Les ADN extraits seront stockés à -20°C, dans des tubes identifiés, jusqu'à envoi en colis froid par transporteur auprès du laboratoire partenaire de l'OFB. Les conditions exactes de stockage et d'envoi seront affinées avec le partenaire au démarrage du

marché. L'envoi des ADN s'accompagnera de la transmission du fichier de résultat (cf. 7.1).

## 6. Délais d'exécution des prestations

Le calendrier d'exécution des extractions est établi chaque année avec un planning prévisionnel discuté entre les parties lors de la réunion de lancement de l'accord-cadre.

Une réunion de lancement est organisée sur initiative du titulaire, dans les 15 jours calendaires du début d'exécution de l'accord-cadre. Chaque réunion de planification de chaque autre période annuelle aura lieu sur initiative du titulaire 15 jours calendaires avant la fin de la période en cours.

Un délai de 2 mois à compter du démarrage de la période initiale d'exécution de l'accord-cadre est donné au titulaire afin de lui permettre, le cas échéant, de calibrer ses méthodes et protocoles en cohérence avec la méthodologie réalisée auparavant sur ce type de matrice.

Les échantillons seront remis au titulaire selon une fréquence de 1 à 2 sessions par an : soit une seule session en début d'année (janvier-février) après la collecte annuelle de tiques réalisée sur le terrain en année n-1 par les équipes OFB, soit 2 sessions avec en plus, une transmission en automne de l'année de collecte. Le volume d'échantillons pourra aller jusqu'à 1000 échantillons par an. Le titulaire devra être en mesure de respecter un délai maximum de 2,5 mois à compter de la date mentionnée dans le bon de commande ou à défaut de sa date de notification relatif à chaque session, pour réaliser la prestation et transmettre l'ADN issu de ces extractions au laboratoire choisi pour réaliser l'identification des agents pathogènes.

Le titulaire précise dans son offre le degré de flexibilité pour les ajustements de calendrier, de durée d'exécution et de capacité d'absorption selon le nombre d'échantillons transmis chaque année, dans un délai maximum de 2,5 mois. La date de remise des échantillons est préalable à la délivrance du bon de commande qui fera courir le délai d'exécution.

## 7. Livrables

### 7.1 Rapports intermédiaires

Les extractions d'ADN donnent lieu, pour chaque session, à la remise d'un rapport de résultats par le titulaire de l'accord-cadre dans les délais définis à l'article 6 du présent CCTP, la notification du bon de commande de chaque session valant démarrage du début d'exécution.

Le nombre de session minimum étant établi à une par an, le titulaire devra produire un rapport intermédiaire par an.

Le rapport intermédiaire doit *a minima* :

- Rappeler la méthodologie adoptée faisant référence au mémoire technique du titulaire ; les fiches techniques de suivi de l'extraction, contenant l'intégralité des informations relatives au traitement de chaque série d'extraction, pourront être fournies sur demande. En plus des informations précédemment citées,

elles contiendront les numéros de lot des réactifs, l'opérateur, les commentaires techniques relatifs aux échantillons s'il y en a (ex : nombre d'individus, volume d'éthanol dans l'échantillon insuffisant, ...).

- Être livré sous format numérique exploitable par l'OFB (exemple : type tableur) ; les éléments suivants devront figurés dans le fichier :
  - Identifiant de l'échantillon fourni par l'OFB
  - Stade de la ou les tique(s) contenue(s) dans le tube
  - Nombre d'individus contenus initialement dans le tube
  - N° d'identification du tube contenant l'ADN (cas où le nom de l'échantillon est trop long ou trop complexe)
  - Date de l'extraction
  - Date du contrôle qualité par électrophorèse capillaire
  - Date du dosage ADN
  - Résultat du dosage ADN exprimé en ng/μL
- Des fichiers correspondant au contrôle qualité par électrophorèse capillaire, seront joints sur demande, ils contiennent :
  - le profil électrophorétique de la migration de chaque échantillon
  - la représentation sur gel de la migration de chaque échantillon
  - un tableau listant la taille des pics identifiés et la quantité qu'ils représente pour chaque échantillon
  - le profil électrophorétique de la migration pour le marqueur de taille
  - la représentation sur gel de la migration pour le marqueur de taille
  - un tableau listant la taille des pics identifiés et la quantité qu'ils représente pour le marqueur de taille
  - la courbe de calibration du marqueur de taille
  - les informations relative à l'appareil et à la méthode de migration utilisée.

## 7.2 Rapport final

Le titulaire de l'accord-cadre remettra à l'OFB un rapport final de synthèse d'exécution de sa mission. Ce dernier, unique, sera produit en lien avec la fin de l'exécution de l'accord-cadre (et quelque soit le nombre de reconductions).

Celui-ci devra présenter :

- un bilan quantitatif des extractions réalisées chaque année ;
- une analyse critique de la réalisation ;
- un bilan des dysfonctionnements éventuels (techniques et /ou administratifs) et/ou des mises à jour ;
- une édition pdf des rapports intermédiaires déjà fournis chaque année.
- Le rapport final est transmis à l'OFB 2 mois après la transmission dernier rapport intermédiaire de la dernière année d'exécution. La remise rapport final ne vaut pas service fait. Celui-ci est constaté conformément aux dispositions décrites au CCAP associé au présent marché.

## 8. Propriété

### 8.1 Propriété des prélèvements et ADN extraits

Les échantillons et extraits d'ADN sont et demeurent propriété de l'OFB.

Le titulaire du marché est gardien dépositaire de l'ensemble de ces prélèvements biologiques et produits d'analyses, qu'il conserve en ses locaux dans les conditions appropriées pour la conservation des ADN, a minima jusqu'à l'envoi des ADN au laboratoire partenaire de l'OFB pour l'identification des agents pathogènes, et ce, pour la durée complète de l'accord-cadre (reconductions incluses) prolongées d'une année supplémentaire au-delà de l'échéance.

## 9. Annexes au CCTP

Annexe 1- Protocole kit Nucleospin® DNA Insect

Annexe 2 - Protocole kit Nucleospin® DNA Tissue

Annexe 3 - Extraction d'ADN avec le kit Nucleospin tissue « Genomic DNA from tissue », « Genomic DNA and viral DNA from blood sample ».