

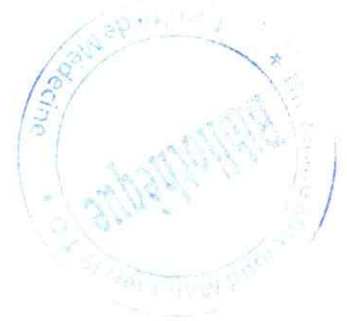


**AIX-MARSEILLE UNIVERSITE
FACULTE DE MÉDECINE DE MARSEILLE
ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE**

THÈSE DE DOCTORAT

Présentée par

Mr. Tahar KERNIF



ETUDES DES RELATIONS PUCES ET BACTERIES EN ZONE MEDITERRANEENNE ET TROPICALE: EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE ET MODELES EXPERIMENTAUX

Soutenue le 14 Janvier 2013

En vue de l'obtention du **grade de DOCTEUR** de l'**UNIVERSITÉ d'AIX-MARSEILLE**
Spécialité: **Maladies Transmissibles et Pathologies Tropicales**

Membres du Jury de la Thèse :

Mr. le Docteur Idir BITAM

Co-Directeur de thèse

Mr. le Docteur Arezki IZRI

Rapporteur

Mr. le Professeur Pierre MARTY

Rapporteur

Mr. le Professeur Philippe PAROLA

Directeur de thèse

Mr. le Professeur Jean-Marc ROLAIN

Président du Jury

Laboratoire d'accueil

*Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes « URMITE »,
UM63, CNRS 7278, IRD 198, Inserm 1095, Faculté de Médecine*



SOMMAIRE

RESUME/ABSTRACT.....	15/16
I - INTRODUCTION.....	17
Revue de la littérature. Kernif T , Socolovschi C, Bitam I, Raoult D, Parola P. Vector-borne rickettsioses in north Africa. <i>Infect Dis Clin North Am</i> . 2012 Jun;26(2):455-78.	23
II - APPROCHE MOLECULAIRE DE L'ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DES BACTERIES TRANSMISES PAR LES PUCES.....	51
<i>Article N.1.</i> Kernif T , Parola P, Ricci JC, Raoult D, Rolain JM. Molecular detection of <i>Bartonella alsatica</i> in rabbit fleas, France. <i>Emerg Infect Dis</i> . 2010 Dec;16(12):2013-4.....	59
<i>Article N.2.</i> Kernif T , Parola P, Davoust B, Plaire L, Cabre O, Raoult D, Rolain JM. <i>Bartonella clarridgeiae</i> in fleas, Tahiti, French Polynesia. <i>Emerg Infect Dis</i> . 2011 Sep;17(9):1773-5.	63
<i>Article N.3.</i> Kernif T , Socolovschi C, Wells K, Lakim MB, Inthalad S, Slesak G, Boudebouch N, Beaucournu JC, Newton PN, Raoult D, Parola P. <i>Bartonella</i> and <i>Rickettsia</i> in arthropods from the Lao PDR and from Borneo, Malaysia. <i>Comp Immunol Microbiol Infect Dis</i> . 2012 Jan;35(1):51-7.....	69
<i>Article N.4.</i> Bitam I, Baziz B., Kernif T , Harrat Z., Parola P and Raoult D . Molecular detection of <i>Rickettsia typhi</i> et <i>Rickettsia felis</i> in fleas from Algeria. <i>Clin Microb Infect</i> . 2009, 15 (Suppl.2), 255-256.....	79
<i>Article N.5.</i> Khaldi M, Socolovschi C, Benyettou M, Barech G, Biche M, Kernif T , Raoult D, Parola P. <i>Rickettsiae</i> in arthropods collected from the North African Hedgehog (<i>Atelerix algirus</i>) and the desert hedgehog (<i>Paraechinus aethiopicus</i>) in Algeria. <i>Comp Immunol Microbiol Infect Dis</i> . 2012 Mar;35(2):117-22.....	83
III - ELEVAGE DES PUCES ET MODELES EXPERIMENTAUX DES MALADIES TRANSMISES PAR LES PUCES.....	91
<i>Article N.6.</i> Kernif T , Stafford K, Bitam I, Raoult D, and Parola P. Reared of cat fleas " <i>Ctenocephalides felis felis</i> (Bouché, 1835) " and optimization of the food source. (In preparation)	97
<i>Article N.7.</i> Kernif T , Socolovschi C., Bérenger J-M., Bitam I., Rolain J-M., Raoult D. and Parola P. Experimental Model of the Cat Flea [<i>Ctenocephalides felis felis</i> "Bouché, 1835"] Infection by <i>Bartonella quintana</i> (In preparation).....	133
IV - CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	143
V - REFERENCES.....	149

Les résultats de nos différentes études sur la distribution des puces infectées par les rickettsies et *Bartonella* ont apporté des données épidémiologiques nouvelles et permis de compléter le répertoire connu des bactéries transmises par les puces. Nous avons rapporté la première détection moléculaire de *B. alsatica* sur des puces recueillies sur des lapins du Sud de la France avec deux nouvelles sondes spécifiques (*hsp60* et *gyrB* gènes) par qPCR. En outre, nous avons détecté pour la première fois *B. clarridgeiae* sur les puces de chat de l'île de Tahiti. Grâce aussi aux enquêtes menées sur le terrain dans les deux régions du Sud-Est asiatique, nous avons détecté *R. felis* avec des taux d'infection très élevés dans des puces au Laos (76,6%) et à Bornéo (74,4%), et confirmé la présence de *B. clarridgeiae*. Par ailleurs, une nouvelle espèce de *Rickettsia* du groupe des fièvres boutonneuses a été détectée dans deux *Boophilus* spp., tiques collectées sur une vache au Laos. Nous rapportons également un taux d'infection très élevé à *R. felis* (95,5%) sur des puces de hérissons en Algérie. Ce résultat a confirmé un travail précédemment publié où nous avons, en plus de la détection *R. felis*, décrit une nouvelle puce (*X. cheopis*) porteuse de cette bactérie ; de même nous avons détecté pour la première fois *R. typhi* dans des puces d'Algérie. Nos résultats permettront de sensibiliser les autorités sanitaires et les médecins des pays concernés de la présence des rickettsies et des *Bartonella* afin de rechercher (et traiter) les patients exposés aux puces ou présentant des signes évocateurs de rickettsioses ou bartonelloses.

Les puces sont actuellement relativement peu étudiées et leurs spécialistes restent peu nombreux. Par conséquence, l'expertise en systématique et en éco-épidémiologie des maladies transmises risque de disparaître [3]. *Yersinia pestis biovar orientalis*, responsable de la dernière pandémie de peste, a été détectée sur des rongeurs capturés dans une région intérieure d'Algérie (article 8 ; Annexes), ce qui montre que le risque d'une nouvelle épidémie est toujours réel surtout en cas de relâchement de la surveillance des zones à risque. Ceci montre aussi l'intérêt des prospections entomologiques et mammalogiques pour la recherche d'autres espèces de bactéries sur les puces des rives Méditerranéennes et dans les régions tropicales. L'existence de ces agents pathogènes sur des puces voire d'autres arthropodes incite au renforcement de la surveillance par le contrôle des arthropodes et de leurs hôtes. Des démarches scientifiques de collaboration entre le Sud et le Nord permettent une meilleure lutte contre les maladies infectieuses, notamment le transfert de technologie.

Notre deuxième partie sur l'étude d'interaction des bactéries et les puces a nécessité la mise en place d'un protocole d'élevage des puces *C. felis*. Cette dernière est connue pour la transmission de plusieurs pathogènes et pour sa proximité de l'homme en rapport aux réservoirs d'animaux domestiques, chats et chiens. Nous avons pu mettre en place un élevage sur membrane artificielle des adultes de cette espèce sur plusieurs générations depuis Avril 2010. De plus, nous avons pu

faire adapter les puces au sang humain *in vitro* afin d'expérimenter les pathogènes transmis à l'homme. Une collaboration avec l'Université de Bristol, Ecole des Sciences Vétérinaires Cliniques, Royaume-Uni, pour une étude de comparaison a été réalisée sur différents régimes de sang animal et humain avec différents anti-coagulants donnés par membrane artificielle aux puces d'une part et des puces directement déposées sur l'hôte (souris). Cette comparaison nous a permis de déterminer le meilleur sex-ratio, le type de régime sanguin et anticoagulant adéquat. Avant d'entamer la partie des expérimentations, nous avons étudié le problème du confinement des puces infectées. Pour cela nous avons utilisé une boîte à gants avec sas. Ainsi les expérimentations sont sous enceinte sécurisée. Les résultats des infections de nos puces par *B. quintana* sont au stade préliminaire mais montrent un pouvoir d'acquisition de cette bactérie par les puces *C. felis*.

Au vu des premiers résultats obtenus avec ces infections, nous avons choisi de nous intéresser dans la suite de nos travaux à la transmission verticale par les puces infectées à la descendance, et la transmission horizontale par contact avec une puce infectée ou par action de la promiscuité lors du repas sanguin (Co-feeding). Par la suite, nous expérimenterons le pouvoir de transmission de cette bactérie sur hôte (souris) pour l'étude de la maladie et des réponses immunitaires. Enfin, nous tenterons aussi de voir si les *B. quintana*, mises en évidence par qPCR, sont toujours vivantes par la mise en culture ou par la recherche d'ARNm de ces bactéries. Nous avons remarqué lors

des premiers jours de culture des fèces, des contaminations par d'autres flores bactériennes. Afin d'éviter ces contaminations, nous allons filtrer la solution de selles par filtre 0,45 μ m, les Bartonella ayant une taille très petite passeront. Nous mettrons par la suite cette solution filtrée en culture. Ces résultats ou perspectives devraient être confirmés prochainement par de nouvelles expérimentations.

Enfin, il serait également très intéressant dans un futur proche de développer de nouveaux modèles expérimentaux de ce type avec d'autres bactéries et d'autres espèces de puces. Cela permettra de comprendre et de caractériser la réponse des puces avec diverses bactéries.