

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE – ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

THÈSE DE DOCTORAT

Présentée par

Mr. LEULMI Hamza

En vue de l'obtention de **Doctorat en es sciences de l'École Nationale Supérieure
Vétérinaire d'Alger.**

Option: Parasitologie Vétérinaire et Maladies Vectorielles.

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DES PATHOGÈNES VECTORISÉS A PARTIR DES VECTEURS ARTHROPODES ET RÉSERVOIRS ANIMAUX DANS LES ZONES HUMIDES ALGÉRIENNES.

Membres du Jury:

Professeur BENMAHDI Meriem	ENSV d'Alger	Président
Docteur Idir BITAM	ENSV d'Alger	Directeur de thèse
Professeur BENAKHLA Ahmed	Univ. d'El Tarf	Rapporteur
Professeur ARAB Karim	Univ. de Boumerdes	Rapporteur
Docteur AIT OUDHIA Khatima	ENSV d'Alger	Rapporteur
Professeur PAROLA Philippe	Aix-Marseille Université	Rapporteur

Année Universitaire 2014/2015

REMERCIEMENTS

A l'issue de cette thèse, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements:

Tout d'abord au bon **Dieu** qui nous a ouvert les portes du savoir et nous a aidé à terminer ce travail.

Nos remerciements et notre reconnaissance sont à notre directeur de thèse **Docteur BITAM** qui nous a accueillis dans son laboratoire pour la réalisation de ce travail et qui, grâce à ses précieux conseils, son aide et ses encouragements, nous a permis de mener à bien ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous les membres de jury :

Professeur BENMAHDI Meriem qui nous a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Docteur AIT OUDHIA Khatima d'avoir accepté d'examiner notre travail. C'est avec intérêt que nous attendons votre avis sur ce travail.

Professeur BENAKHLA Ahmed d'avoir accepté évaluer notre travail, c'est avec intérêt que nous attendons votre avis.

Professeur ARAB Karim d'avoir accepté juger ce travail, veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Professeur PAROLA Philippe d'avoir accepté d'examiner notre travail. Je vous exprime ma profonde gratitude pour m'avoir guidé et conseillé tout au long de mon parcours de thèse.

Remerciement particulier au Pr **PAROLA** pour son encadrement, ses conseils (faire toujours simple et aller points par points[®]), et pour sa direction de près dans cette thèse et ce qui m'a offert la possibilité d'approfondir mes connaissances scientifiques. Ses encouragements et son appui pour plusieurs décisions m'ont permis de mener à bien plusieurs travaux. J'espère avoir été à la hauteur de votre attente. Que vous voyez dans cet aboutissement le témoignage de ma grande gratitude.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance au **Professeur Didier RAOULT** pour m'avoir accepté et accueilli chaleureusement au sein de l'unité des Rickettsies et pour l'octroi d'une bourse « Fondation Méditerranéen infection » pour un travail parallèle à cette thèse. Mon passage au sein de votre unité restera pour moi une très grande expérience, tant sur le plan professionnel que personnel.

Nous n'oublierons pas d'adresser nos remerciements à toute l'équipe du service pour la disponibilité à tout instant qu'ils nous ont manifesté durant toute la durée de notre recherche en particulier.

Enfin, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail à savoir surtout les collaborateurs et co-auteurs dans les articles.

DÉDICACES

Au nom de Dieu Clément et Miséricordieux Je dédis cet humble travail à:

À ma très chère épouse « Selma ».

*À mes **parents (papa, maman)**, pour leur soutien sans faille tout au long de ces longues études.
Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude.*

*À toute la **famille LEULMI**, ma **sœur** et mon **frère**.*

*À ma **belle famille** ; mes **beaux parents**, mes **beaux frères**, mes **belles sœurs** et toute la belle famille.*

*À tous mes **amis**.*

*À tous ceux qui connaissent **Hamza/Hamzinho**.*

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
---------------------	----------

I. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES VECTEURS ARTHROPODES

I.A. CARACTERISTIQUES ET MORPHOLOGIE GENERALE	5
I.B. SYSTEMATIQUE ABREGEE	7

I.1. ORDRE *IXODIDA* (LES TIQUES)

I.1.A. POSITION SYSTEMATIQUE	8
I.1.B. ETUDE MORPHOLOGIQUE DES TIQUES DURES	10
I.1.B.1. Morphologie externe des adultes	10
I.1.B.2. Morphologie interne des adultes	13
I.1.B.3. Particularités morphologiques des différents stades	16
I.1.C. BIO-ECOLOGIE DES TIQUES	16
I.1.C.1. Cycle évolutif	16
I.1.C.2. Différents types de cycle	18
I.1.C.3. Nature des hôtes	19
I.1.C.4. Localisation préférentielle sur les hôtes	20
I.1.C.5. Nutrition	20
I.1.C.6. Le biotope	21
I.1.C.7. Activité saisonnière et journalière des tiques	21
I.1.D. IMPORTANCE MEDICALE ET VETERINAIRE DES TIQUES	22
I.1.D.1. Rôle pathogène direct	22
I.1.D.2. Rôle pathogène indirect	23

I.2. ORDRE DES *SIPHONAPTERA* (LES PUCES)

I.2.A. ORIGINE ET PHYLOGENIE DES PUCES	25
I.2.B. POSITION TAXONOMIQUE	26
I.2.C. ETUDE MORPHOLOGIQUE DES PUCES	29
I.2.C.1. Morphologie externe des adultes	29
I.2.C.2. Morphologie externe des larves et nymphes	32
I.2.C.3. Morphologie interne des adultes	32
I.2.D. BIO-ECOLOGIE	34
I.2.D.1. Habitat	34
I.2.D.2. Nutrition	35
I.2.D.3. Le cycle de développement des puces	35
I.2.D.4. La recherche de l'hôte	36
I.2.D.5. Spécificité parasitaire	37
I.2.D.6. Mode de locomotion	37
I.2.E. IMPORTANCE MEDICALE ET VETERINAIRE	37
I.2.E.1. Rôle pathogène direct	37
I.1.E.2. Rôle pathogène indirect	38

CHAPITRE II : LES PATHOGENES VECTORISES

II.1. *RICKETTSIA* SPP.

II.1.A. GENERALITES SUR LES RICKETTSIES	40
II.1.B. HISTORIQUE	41
II.1.C. CLASSIFICATION ET PHYLOGENIE	42
II.1.D. CARACTERISTIQUES	43
II.1.D.1. Morphologiques et bactériologiques	43
II.1.D.2. Epidémiologiques	44
II.1.D.2.a. Epidémiologique descriptive	44
II.1.D.2.b. Epidémiologique analytique	46
♦ Agents pathogènes	46
♦ Agents et mode de transmission	47
♦ Pathogénie	49
II.1.E. ETUDE CLINIQUE	49

II.1.E.1. Symptômes	49
II.1.E.2. Diagnostic	50
II.1.E.3. Traitement	50
II.1.E.4. Prophylaxie	51

II.2. BARTONELLA SPP.

II.2.A. GENERALITES SUR LES BARTONELLA	52
II.2.B. HISTORIQUE	53
II.2.C. TAXONOMIE	53
II.2.D. CARACTERISTIQUES	55
II.1.D.1. Bactériologiques et Morphologiques	56
II.1.D.2. Epidémiologiques	56
II.1.D.2.a. Epidémiologique descriptive	56
II.1.D.2.b. Epidémiologique analytique	57
♦ Réservoirs	57
♦ Mode de transmission	59
♦ Pathogénie	60
II.2.E. ETUDE CLINIQUE	61
II.2.E.1. Symptômes	62
II.2.E.2. Diagnostic	62
II.2.E.3. Traitement	64
II.2.E.4. Moyens de lutte	64

II. PARTIE EXPERIMENTALE

Partie 1 : Epidémiologie des maladies vectorielles.

Etude 1 : Détection de *Bartonella tami*, *Coxiella burnetii* et rickettsies chez des arthropodes et tissus provenant d'animaux sauvages et domestiques dans le nord est de l'Algérie

Introduction	67
Matériels et Méthodes	69

Résultats	72
Discussions	76

Etude 2 : Première détection de *Borrelia garinii* et confirmation de la présence de *Rickettsia monacensis* dans des tiques *Ixodes ricinus* collectées à El Tarf, Algérie.

Introduction	80
Matériels et Méthodes	81
Résultats	83
Conclusion et Discussions	84

Partie 2 : Compétences vectorielles des puces et punaises de lit dans la transmission de *Bartonella quintana*.

Etude 3 : Evaluation de la compétence vectorielle de *Ctenocephalides felis* dans la transmission de *Bartonella quintana*.

Introduction	87
Matériels et Méthodes	88
Résultats	92
Discussions	95

Etude 4 : Evaluation de la compétence vectorielle de *Cimex lectularius* dans la transmission de *Bartonella quintana*.

Introduction	102
Matériels et Méthodes	103
Résultats	107
Discussions	109
III- Conclusions générales	120
IV- Références	123
V – Liste des articles	147

RÉSUMÉ

Ce travail s'articule sur deux axes ; le premier comporte deux investigations sur la surveillance épidémiologique et l'écologie des arthropodes vecteurs et des pathogènes négligés dans les zones humides algériennes (El Tarf, Souk Ahras et Annaba). Dans cette partie, nous avons collecté des tiques et puces d'animaux domestiques ainsi que des tissus et arthropodes d'animaux sauvages sur les quels on a détecté par outils moléculaire de qPCR, PCR standard et séquençage : *Rickettsia massiliae*, *R. monacensis*, *R. aeschlimannii*, *R. slovaca* et *R. felis*, nous avons également détecté *Bartonella tamiae* et *Borrelia garinii*.

Le second volet de ce travail a intéressé l'évaluation des compétences vectorielles des puces de chat (*Ctenocephalides felis*) et punaises de lit (*Cimex lectularius*) dans la transmission de l'agent de la fièvre des tranchées (*Bartonella quintana*). Trois approches ont été testées en l'occurrence ; la qPCR, la culture et l'immunohistochimie. Via ces deux modèles expérimentaux, nous avons constaté que les puces et les punaises s'acquièrent la bactérie et excrètent des micro-organismes vivant dans leurs fèces. Les résultats démontrent que ces arthropodes maintiennent la bactérie (*B. quintana*) aussi bien que son vecteur connu (les poux de corps) et ce qui leur permettent de les considérer comme vecteur potentiel de cette bactérie.

Mots clés : Tiques, puces, *Rickettsia*, *Bartonella*, *Borrelia*, El Tarf, Seraiidi, Souk Ahras.

ABSTRACT

This work is structured into two parts; the first interest two investigations on the epidemiological surveillance and vector ecology of arthropods and neglected pathogens in Algerian wetlands (El Tarf, Annaba and Souk Ahras). In this section we collected ticks and fleas on pets and spleens and arthropods on wild animals, on what was detected by molecular tools (qPCR standard PCR and sequencing): *Rickettsia massiliae*, *R. monacensis*, *R. aeschlimannii*, *R. slovaca* and *R. felis*, we detected also *Coxiella burnetii*, *Bartonella tamiae* and *Borrelia garinii*.

The second part of this work has interested the evaluation of vector competence of cat flea (*Ctenocephalides felis*) and bed bugs (*Cimex lectulatus*) in the transmission of the agent of trench fever (*Bartonella quintana*). Three approaches have been tried in this case; qPCR, culture and immunohistochemistry. Via these two experimental models, we found that fleas and bed bugs acquired and excrete viable bacteria in their feces. The results show that these arthropods maintain the bacteria as well as its known vector (the body lice) and allowing regarding them as potential carrier of this bacterium.

Keywords: Ticks, fleas, Rickettsia, Bartonella, Borrelia, El Tarf, Seraiidi, Souk Ahras.

INTRODUCTION

Introduction

Depuis plusieurs décennies, nous assistons à l'émergence et la réémergence de plusieurs pathologies zoonotiques, constituant une menace grave pour la santé animale et humaine surtout celles à transmission vectorielle évoluant sous forme de flambées (des épizooties étroitement liées à leur vecteur) qui font des ravages et prennent les professionnels au dépourvue.

Cette émergence constitue la réponse évolutive des agents pathogènes eux même, ou à la modification de leur environnement et qui a comme cause le réchauffement climatique. En effet, ces maladies induites étaient connues essentiellement dans les zones tropicales et subtropicales, mais certaines d'entre elles ont déjà fait des incursions dans les régions tempérées, pour dire que les agents de ces maladies prolifèrent rapidement et subissent fréquemment des mutations et s'adaptent avec une relative facilité à des nouveaux environnements et à des nouveaux hôtes.

En plus de l'effet néfaste des changements globaux sur les agents pathogènes on peut supposer aussi les répercussions sur la distribution latitudinale et altitudinale des vecteurs arthropodes, ainsi sur leurs périodes d'activité au cours de l'année, leur longévité et leur densité.

En ce qui concerne le diagnostic des pathologies à vecteurs nous assistons aujourd'hui à une vraie révolution avec l'avènement de la biologie moléculaire qui est largement utilisée comme outils de surveillance aussi bien chez l'hôte que chez le vecteur.

Les recherches sont en pleine essors avec des enjeux importants en termes de nouvelle technique de diagnostic et lutte anti-vectorielle et de contrôle de l'efficacité de la transmission des pathogènes vectorisés.

Au départ de cette étude, et par une approche d'application de la PCR standard, PCR en temps réel et séquençage, comme outils de diagnostic des pathogènes vectorisés par les arthropodes, nous avons étudié la bioécologie de ces vecteurs ectoparasites (principalement les tiques et les puces) de différents animaux domestiques (Bovins, ovins, caprins et chiens) et sauvages [Chauves souris (*Chiropetra spp*), Sangliers (*Sus scrofa algira*), mangoustes (*Echinomon herpestis*), porc-épic, hérissons et chacals (*Canis aureus*)] des régions d'El Tarf et Souk Ahras. Toujours en utilisant la même biotechnologie, nous avons recherché les vecteurs et

agents de maladies de Lyme en Algérie au niveau des sites d'El Ghora (El Tarf) et Seraiidi (Annaba).

Une deuxième partie qui avait pour but de prouver la compétence vectorielle des puces de chat (*Ctenocephalides felis felis*) et des punaises de lit (*Cimex lectularius*) dans la transmission de l'agent responsable de la maladie de la fièvre des tranchées (*Bartonella quintana*) qui est connue pour être transmise par les poux de corps (*Pediculus humanus corporis*). Ces modèles expérimentaux d'infection viennent compléter la première partie, dans laquelle la seule détection de l'ADN du pathogène par PCR chez le vecteur ectoparasite ne peut être une preuve de transmission vectorielle.

I – PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les vecteurs arthropodes

Un vecteur par définition est un arthropode hématophage qui assure la transmission biologique (ou mécanique) active d'un agent infectieux de vertébré à un autre vertébré, la transmission active signifie que le vecteur infecté sur un vertébré contaminé, doit pour des raisons biologiques, établir activement le contact entre l'agent infectieux (Virus, bactéries ou protozoaires) et le vertébré réceptif. En outre, le vertébré peut être un homme ou un animal (Pichard., 2004). Les arthropodes sont un assemblage d'invertébrés et non pas de micro-organismes (Spicer., 2000). Contenant plus de 80% de toutes les espèces animales et comprennent plus d'espèces que les autres embranchements, plus d'un million ont été décrites et des millions d'autres sont en attente de découverte et de description, ces espèces sont dotées de beauté éblouissante et un comportement complexe qui exprime le rôle écologique fondamental et essentiel qu'elles jouent par le maintien de l'écosystème de toutes les communautés biologiques (Wall et Shearer., 2001). Ainsi nous pouvons classer les arthropodes d'importance médicale et vétérinaire en deux grandes catégories:

- ✓ **Les arthropodes à rôle pathogène direct:** Ils sont directement responsables d'une pathologie précise tel que:
 - Les arthropodes parasites, comme les agents des myiases et les acariens agents des gales.
 - Les arthropodes venimeux, comme les scorpions, les araignées et les hyménoptères (abeilles, guêpes), ainsi que les arthropodes urticants et/ou allergisants, dont le contact peut être à l'origine d'éruptions ou d'accidents allergiques.
- ✓ **Les arthropodes à rôle vectoriel:** ils sont impliqués dans la dissémination de plusieurs pathogènes comme:
 - Les arthropodes vecteurs mécaniques, qui servent de véhicule de plusieurs germes (Les mouches).
 - Arthropodes hôtes intermédiaires, qui hébergent les stades larvaires des différents parasites et permettant ainsi leur évolution (transmission biologique passive).
 - Arthropodes vecteurs, assurant une transmission biologique active de nombreux agents pathogènes, et en raison de l'importance primordiale des maladies concernées, cet aspect du rôle médical des arthropodes domine largement le champ de l'entomologie médicale (Nozais et al., 1996).

I.A. Caractéristiques et morphologie générale

Les arthropodes (*Arthropoda*) sont des métazoaires, à symétrie bilatérale et à appendices articulés. Ils sont maintenus par un exosquelette rigide constitué de téguments riches en chitine (Grassé et Doumenc., 2000). Ils ont un corps métamérisé en segments, qui sont séparés chez les insectes et forment la tête, le thorax et l'abdomen, tandis que soudés chez les acariens en deux pièces ; céphalothorax et abdomen (Hogue., 1993). Chaque segment est constitué de plaques chitineuses épaisses appelées des sclérites et qui peuvent avoir fusionnés ou s'être modifiés au cours de l'évolution mais qui consistent habituellement en un sternite ventral et un tergite dorsal réunis latéralement par deux pleurites. L'ensemble est réuni par des pièces souples de chitine qui jouent le rôle d'articulation (Losson., 1997).

✓ Appareil digestif

Sa morphologie varie en fonction des groupes et de la biologie. On peut néanmoins le diviser en trois régions principales: l'intestin antérieur, moyen et supérieur (**Figure 1**).

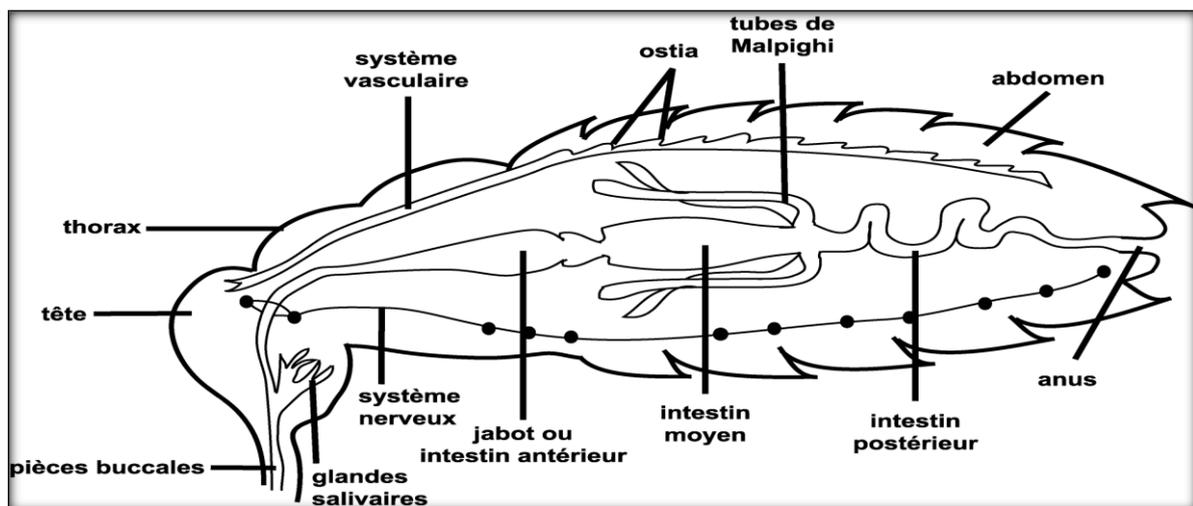


Figure 1: Représentation intérieure des arthropodes (Losson., 1997).

L'intestin antérieur: il commence au niveau des pièces buccales, de morphologie très variable, qui conduit à l'intérieur de la cavité buccale, du pharynx de l'œsophage et du proventricule. L'œsophage montre souvent une dilatation postérieure appelée le jabot. **Le proventricule** très musculéux agit comme une valve qui empêche la régurgitation des aliments ; il possède parfois des dents qui aident à la dégradation des aliments.

L'intestin moyen sécrète les enzymes nécessaires à la digestion. C'est la seule partie de l'intestin qui n'est pas chitinisée.

A la jonction entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur viennent s'ouvrir **les tubes de Malpighi** qui sont des organes excréteurs primitifs qui flottent librement dans la cavité cœlomique, extraient les produits de déchet du liquide cœlomique et les éliminent via l'intestin.

L'intestin postérieur consiste en une portion postérieure de l'intestin suivie du **rectum** dilaté à l'arrière. Ce rectum possède souvent des papilles ou des glandes destinées à la réabsorption de l'eau alimentaire.

Les glandes salivaires représentent des glandes annexes au tube digestif (Losson., 1997).

✓ **Cavité générale**

Encore appelée cavité cœlomique ou haemocœle car elle contient l'hémolymphe destinée au transport des métabolites. Les différents organes baignent directement dans ce liquide.

✓ **Appareil circulatoire**

Constitué d'un cœur primitif et tubulaire situé dorsalement dans la cavité cœlomique. Le sang entre dans ce cœur par des ouvertures appelées ostioles et passe d'un compartiment à l'autre du cœur par des valvules.

✓ **Appareil respiratoire**

La respiration est simple, l'oxygène gagnant les cellules par simple diffusion. L'air pénètre au niveau de petits orifices creusés dans la cuticule et appelé spiracles.

Ces spiracles mènent à un système de trachées et trachéoles qui se répartissent dans les différents tissus (Losson., 1997).

✓ **Appareil nerveux**

Constitué d'une double chaîne ventrale de ganglions nerveux qui rejoint un gros ganglion supra-œsophagien souvent appelé cerveau. Les organes des sens sont associés à ce système et sont : les yeux, les organes tactiles et auditifs.

Yeux : chez certains arthropodes (Poux et tiques par exemple) les yeux sont absents ou atrophiés ; chez d'autres comme les mouches hématophages qui doivent repérer leur proie à la vue, les yeux sont bien développés.

Antennes, palpes et différents récepteurs internes et externes qui répondent à la température, l'humidité, les odeurs et la présence d'aliments.

✓ **Appareil reproducteur**

Chez les arthropodes, les sexes sont séparés. Les structures génitales externes telles que le pénis ou les organes copulateurs du mâle permettent souvent l'identification des différentes

espèces. Chez la femelle, ces structures sont souvent très réduites mais quelques espèces ont un système d'oviposition très développé.

Chez le mâle, le système reproducteur consiste en deux testicules qui se prolongent chacun par un canal déférent qui conduit à une vésicule séminale fusionnée qui sert au stockage des spermatozoïdes.

Chez la femelle, deux ovaires conduisent chacun par un oviducte vers l'utérus unique qui s'ouvre au niveau du vagin. Dans l'utérus s'ouvre la spermathèque, constituée de plusieurs dilatations remplies de sperme, qui assure la fécondation des œufs au fur et à mesure de leur émission.

La plupart des arthropodes sont ovi-vivipares mais quelques uns sont ovipares (Les glossines par exemple) (Losson., 1997).

I.B. Systématique abrégée

Le phylum Arthropoda (Siebold et Stanius., 1845) appartient au règne Animalia et comprend deux sous embranchements les (Mandibulata) et les (Chelicerata) (Heymons., 1901), chaque sous phylum respectivement comprend une classe d'importance médicale et vétérinaire, classe des Insectes et classe des Arachnida (Lemark., 1901). La première classe comprend plusieurs ordres à savoir l'ordre des Diptera qui sont les mouches, les moucheron et les moustiques, l'ordre des Phthiraptera qui représente les poux, l'ordre des Siphonaptera qui comprend les puces, de plus que l'ordre des Hemiptera qui englobe les punaises, tandis que la classe des arachnides comprend un seul superordre d'importance médicale et vétérinaire qui est le super ordre des Acariens, ordre des Ixodida (Ver Der Hammen., 1968) qui correspond aux tiques dure et molles (Camicas et al., 1998). Il faut signaler que plusieurs taxonomies sont disponibles, et tous les auteurs n'adhèrent à la même, car cette classification est basée sur les ressemblances morphologiques au sein du même taxon, alors depuis l'avènement de la biologie moléculaire nous nous sommes intéressés à l'analyse du génome pour refonder une classification universelle non controversée. De même plusieurs autres techniques fiables, rapides et peu coûteuses commencent à se développer et s'appliquent à l'entomologie médicale et vétérinaire, en l'occurrence le matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI TOF).

I.1. Ordre des Ixodida (les tiques)

Les tiques (anglais: Ticks), sont des arthropodes, obligatoires et hématoiphages (Haert et Shaers., 1997) qui affectent la quasi-totalité des vertébrés à travers le monde essentiellement les mammifères et les oiseaux, leur rôle comme parasite a été découvert depuis plusieurs centaines d'années et ceci remonte jusqu'au temps d'Homère (environ 800 ans avant J.C) et d'Aristote (Pérez-Eid., 2007).

Les tiques seraient apparues il y a environ 225 millions d'années, à une époque où elles affectaient exclusivement les reptiles et ont subi depuis une longue évolution (Klompen et al., 1996). Récemment, l'analyse des séquences géniques de l'ADN ribosomal nucléaire ou mitochondrial (ADNr 16S, ADNr 18S et ADNr 12S) a permis d'établir les lignées phylogéniques des tiques (Black et al., 1997). Chaque espèce de tique dépend d'un biotope particulier, celui-ci détermine la distribution géographique des différentes espèces de tiques. De ce fait, il existe des « zones à risque » pour les maladies à transmission vectorielles. Cependant, on assiste actuellement à des modifications en profondeur des écosystèmes qui découlent notamment des activités humaines ou des changements climatiques. Ces modifications environnementales peuvent conduire à des modifications de la répartition des arthropodes et sont couramment associées à l'émergence et la réémergence de maladies (Morse., 1995).

I.1.A. Position systématique

Il existe actuellement plus de 869 espèces de tiques à travers le monde dont 223 espèces en Afrique (180 tiques dures et 43 tiques molles) (Socolovschi et al., 2008). Cette classification est basée sur des critères morphologiques (Huber., 2010). Aujourd'hui les laboratoires spécialisés font appel à des critères génétiques par séquençage du génome de ces tiques à fin de refonder la taxonomie (Klompen et al., 1996). Néanmoins la répartition morpho-anatomique reste suffisamment fiable pour les praticiens de diagnose, de ce fait la position systématique qui est retenue ici est celle proposée par (Moulinier., 2002).

Ces parasites appartiennent au

- Règne des Animalia.
- Phylum des Arthropoda (le corps segmenté, squelette externe et appendices articulés).
- Sub phylum des Chelicerata (absence de mandibules et antennes).

- Classe des Arachnida (4 paires de pattes, un corps segmenté en 2 parties podosoma et opisthosoma).
- Sous classe des Acarida (corps globuleux).
- Ordre des *Ixodida* (Huber., 2010).

Selon (Camicas et al., 1998) l'ordre des *Ixodida* comprend 3 sous ordres, 4 familles, 31 genres, 72 sous genres, 66 groupes, 12 sous groupes et 869 espèces (taxons décrits jusqu'au 31 décembre 1995) (**Figure 2**):

- Le premier sous ordre est celui des Ixodina, (les tiques dures) possédant des zones de tégument fortement chitinisées. Ils représentent environ 694 espèces connues.
- Le deuxième sous ordre comprend les Argasina, représente 175 espèces à tégument sans sclérification qui leur vaut le nom de tiques molles.
- Le troisième sous ordre contient les Nuttalliellina, qui sont intermédiaires entre les deux sous ordres précédant.

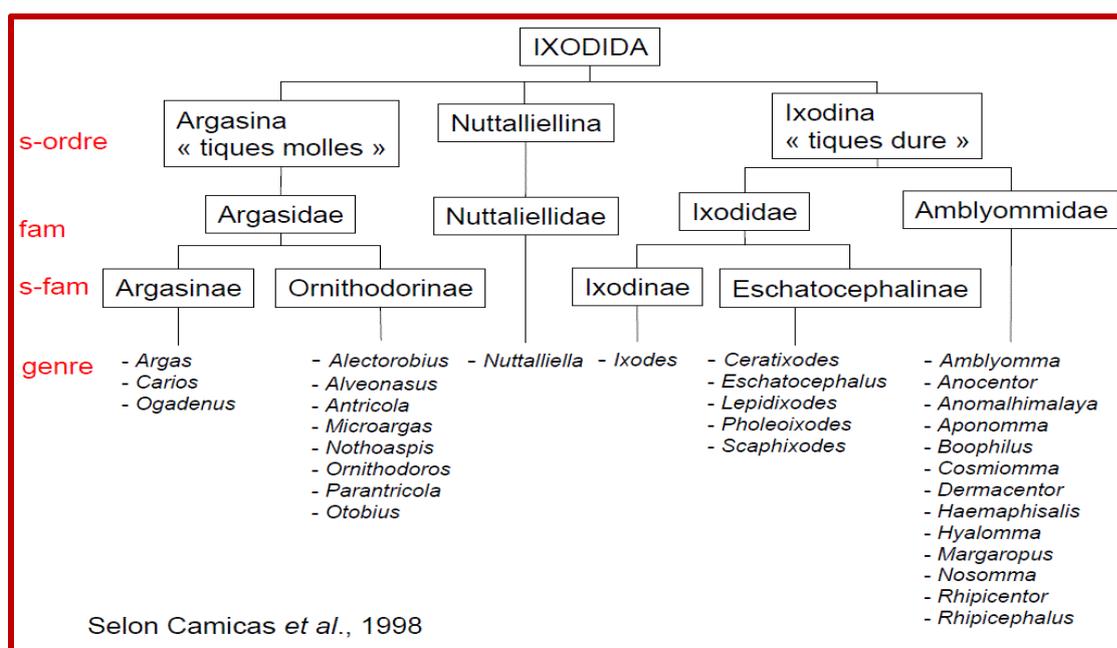


Figure 2: Classification des tiques d'après Camicas, Hervy, Adam, Morel., 1998.

Tandis que la classification de (Moulinier C., 2002) est plus simplifiée avec l'ordre des **Ixodida** qui se divise en deux familles et une micro-famille:

- ✓ La famille des **Ixodidae** ou tiques dures (environ 700 espèces)
- ✓ La famille des **Argasidae** ou tiques molles (environ 180 espèces)
- ✓ Une 3^{ème} micro-famille, les **Nuttalliellidae** (une seule espèce) parasite les hirondelles en Afrique du Sud et ne présente aucun intérêt médical.

La famille des **Ixodidae** est divisée en cinq sous familles:

- ☒ La sous famille des Ixodinae (250 espèces) : un seul genre « **Ixodes** »
- ☒ La sous famille des Amblyomminae (130 espèces) : plusieurs genres, dont un seul genre **Amblyomma** intervient dans la pathologie humaine et animale.
- ☒ La sous famille des Haemaphysalinae (200 espèces) : un seul genre « **Haemaphysalis** »
- ☒ La sous famille des Hyalomminae (50 espèces) : un seul genre « **Hyalomma** »
- ☒ La sous famille des Rhipicephalinae (150 espèces) : huit genres dont deux présentent un intérêt médical « **Dermacentor** et **Rhipicephalus** ».

Au moins au stade adulte, les caractères morphologiques permettent de reconnaître assez aisément ces différents genres (Rodhain., 1996).

I.1.B. Etude morphologique des tiques dures

❖ I.1.B.1. Morphologie externe des adultes

Les tiques de taille allant de 2 à 20 mm présentent en commun certaines caractéristiques qui les opposent aux autres arachnides (Wall et Shearer ., 2001). Elles sont caractérisées par un aspect globuleux, piriforme, aplati dorso-ventralement à jeun et plus ovoïde après un repas sanguin (Morel., 2000). Ce corps ovalaire est issu de la superposition du céphalothorax et de l'abdomen. Ces deux parties, antérieure et postérieure, se nomment respectivement le gnathosoma et l'idiosoma (**Figure 3**) (Morel et al., 2000 ; Walker et al., 2003 et Estrada-Peña et al., 2004).

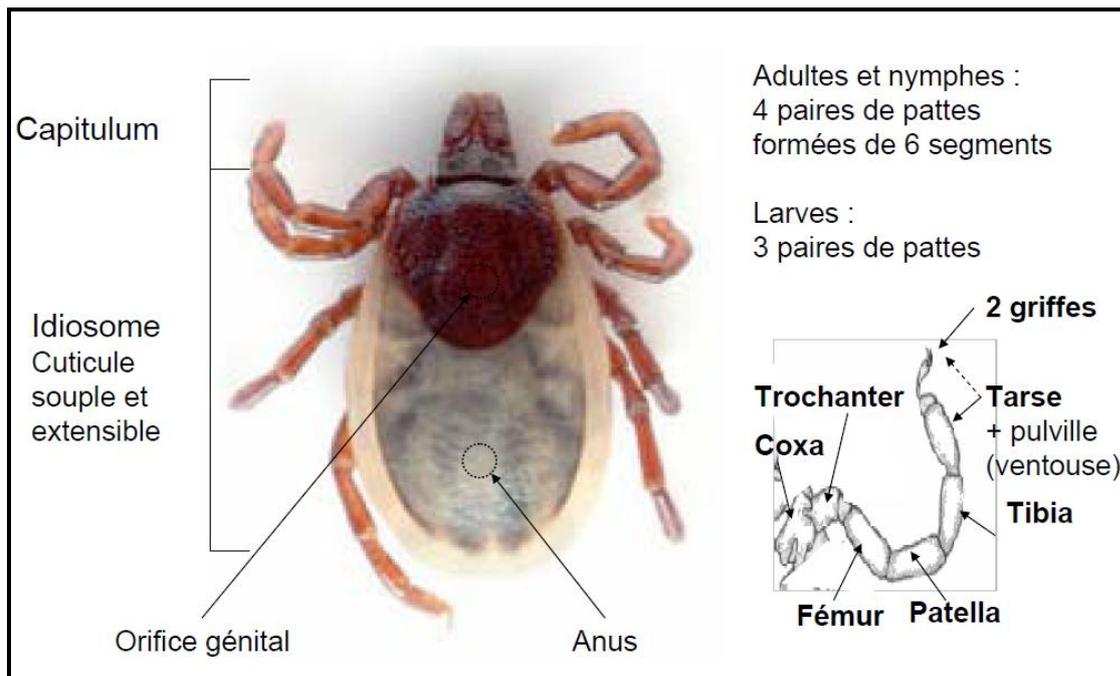


Figure 3: Morphologie générale des tiques (Huber., 2010).

- **Le gnathosoma (Figure 4)**, constitue la partie antérieure du corps. Il comprend la base du **rostre**, sclérifiée (Basis capituli ou capitulum), pouvant prendre une forme triangulaire, rectangulaire, trapézoïdale, hexagonale ou pentagonale (Moulinier., 2002). La base du rostre des adultes est développée et fixée sur des pièces sclérifiées dont la pièce basale s'articule dans une échancrure du corps. Les caractères morphologiques du rostre sont des éléments essentiels à la détermination des espèces de tiques dures et à la compréhension du rôle pathogène. On distingue des tiques longirostres (Rostre nettement plus long que large) et des tiques brévirostrires (Rostre s'inscrivant grossièrement dans un carré).
- ✓ Le **rostre** quant à lui comporte:
 - **Hypostome**, pièce impaire médio-ventrale, résultant de la fusion de 2 pièces paires, portant des denticules dirigées vers l'arrière (Bussiéras et Chermette., 1991).
 - Chélicères, organes paires, en lames, mobiles, portées sur deux baguettes, intervenant dans la lésion et la fixation par dilacération des tissus au moment de la pénétration. Ils se terminent par des crochets dirigés latéralement portant trois denticules ou lames. L'ensemble forme une sorte de doigt articulé muni par des muscles qui permettent la rétraction des chélicères dans une gaine. Chez les femelles on note également la présence de deux aires poreuses sur la face dorsale du capitulum qui sont les abouchements de glandes (Organe de Géné) dont le rôle sécrétoire est d'imperméabiliser les œufs (Morel et al., 2000).



Figure 4 : Microscopie ultra-électronique à balayage de l'appareil buccale d'une tique (Behring in Huber., 2010).

- Deux **pédipalpes**, organes paires latéraux à 4 articles (parfois plus ou moins soudés, généralement inégaux). Le dernier article atrophié n'est visible que ventralement, où il apparaît comme inséré dans une dépression du troisième article. Une concavité médiane permet aux pédipalpes de former une sorte d'étui enveloppant les autres pièces au repos (**Figure 5**).

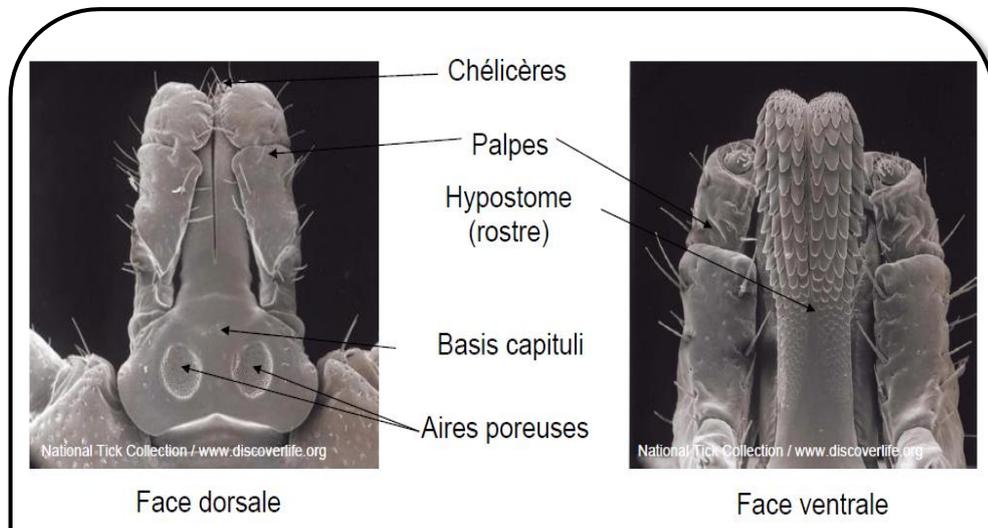


Figure 5: Scanner par microscopie électronique du capitulum des tiques (Huber., 2010)

➤ Le reste du corps beaucoup plus volumineux, porte le nom **d'idiosoma**.

Sur celui-ci, on retrouve en face dorsale un écusson chitinisé: le **scutum**, de couleur brun-rougeâtre ou présentant des plaques émaillées chez certaines espèces des genres *Amblyomma* ou *Dermacentor*. Cet écusson est réduit chez la femelle et les stades immatures, permettant ainsi la croissance lors de la réplétion (Morel et al., 2000). Chez le mâle, ce scutum recouvre

entièrement sa **face dorsale** et peut être accompagné par des plaques ventrales. Le scutum est parfois divisé sur sa surface par des sillons (Cervical, scapulaire, médiodorsal, latéral, caudal) et son bord postérieur est parfois découpé en festons au nombre de 11 plus ou moins fusionnés (Parfois absents). Sur la face dorsale se trouvent également les **ocelles** au niveau des pattes II. La **face ventrale** de l'idiosoma porte les 4 paires d'appendices locomoteurs (Sauf chez la larve qui n'en compte que 3 paires), composés de 6 articles : la hanche ou coxa qui est utilisée pour la diagnose, puis le trochanter, la patella ou genua, le tibia et le tarse se terminant par une ventouse et 2 griffes, leur permettant un déplacement sur les objets lisses verticaux (Moulinier., 2002). Ces pattes s'insèrent sur le corps via les quatre paires de hanches ou coxa sclérifiées, situés latéralement et antérieurement, numérotés de I à IV de l'avant à l'arrière. Ces coxa peuvent présenter une ou deux épines. Quand elles sont présentes, ces épines, plus ou moins longues seront utilisées comme critère de diagnose. Sur la première paire de pattes on retrouve un organe sensoriel l'**organe de Haller** (Organe possédant des soies sensorielles qui permettent de déceler une présence par détection de gaz carbonique).

Les tiques ne possèdent pas de poumons, mais dispose d'un système de trachées débouchant au voisinage de la hanche IV, par une paire de stigmates. Ceux-ci sont entourés d'un péritème qui prend une forme ovalaire chez les *Ixodidae* et de virgule chez les *Amblyomidae*. L'anus, ou uropore, est en position postéro-ventrale est contourné par un sillon anal semi-circulaire en avant chez les *Ixodidae* (tiques *prostriata* du genre *Ixodes*) (Euzéby., 2003), ou en arrière en forme de coupe chez les *Amblyomidae* (tiques *metastriata*) alors que l'orifice génital, ou gonopore, se trouve en position antéro-ventrale (Blary., 2004).

❖ I.1.B.2.Morphologie interne des adultes

Seuls sont mentionnés ici les éléments anatomiques qui présentent une importance majeure dans le rôle pathogène des tiques. Ces éléments de morphologie peuvent être mis à profit pour une identification des principaux genres.

✓ La musculature

La musculature des tiques est puissante, avec en particulier des muscles médians, dorso-ventraux qui permettent aux tiques de se fixer solidement aux supports pendant l'affût, ou au tégument de l'hôte pendant le repas sanguin, mais aussi de se déplacer très activement (François., 2008).

✓ L'appareil digestif

Il débute par un orifice buccal qui s'ouvre au dessus de l'hypostome et est limité dorsalement par les chélicères. Un pharynx musculueux et un œsophage étroit lui font suite. L'estomac central par rapport à l'ensemble du corps est la partie la plus développée (**Figure 6**). Celui-ci est composé et pourvu de nombreux caeca dorsaux et ventraux, qui sont des diverticules se gonflant lors des repas sanguins, occupant alors les espaces libres de la cavité hémocélienne. L'estomac est lié par un court intestin à l'ampoule excrétrice qui s'ouvre par l'anus. Il existe par ailleurs des glandes cuticulaires qui permettent l'excrétion d'eau et de sels minéraux au cours des repas. Cet ensemble très diverticulé se trouve en contact étroit avec les autres organes de la cavité générale, facilitant ainsi le passage de germes pathogènes vers ceux-ci. Ces acariens présentent également 2 glandes salivaires très développées, s'étendant sur les côtés depuis les stigmates aux bords latéraux du scutum. Elles sont formées d'acini disposés en grappe. Les glandes déversent leur contenu dans le salivarium, réservoir situé au dessus du pharynx. Puis de ce réservoir part un canal unique se jetant dans le canal aspirateur. La salive permet le passage de germes pathogènes de la tique vers l'hôte et a une action toxique en plus de son action histolytique. Son action toxique est due à des cellules « venimeuses », plus ou moins disséminées sur le trajet des canaux excréteurs salivaires. Lorsque ces propriétés sont particulièrement marquées, et en fonction des sites de fixation (Bourdeau., 1993).

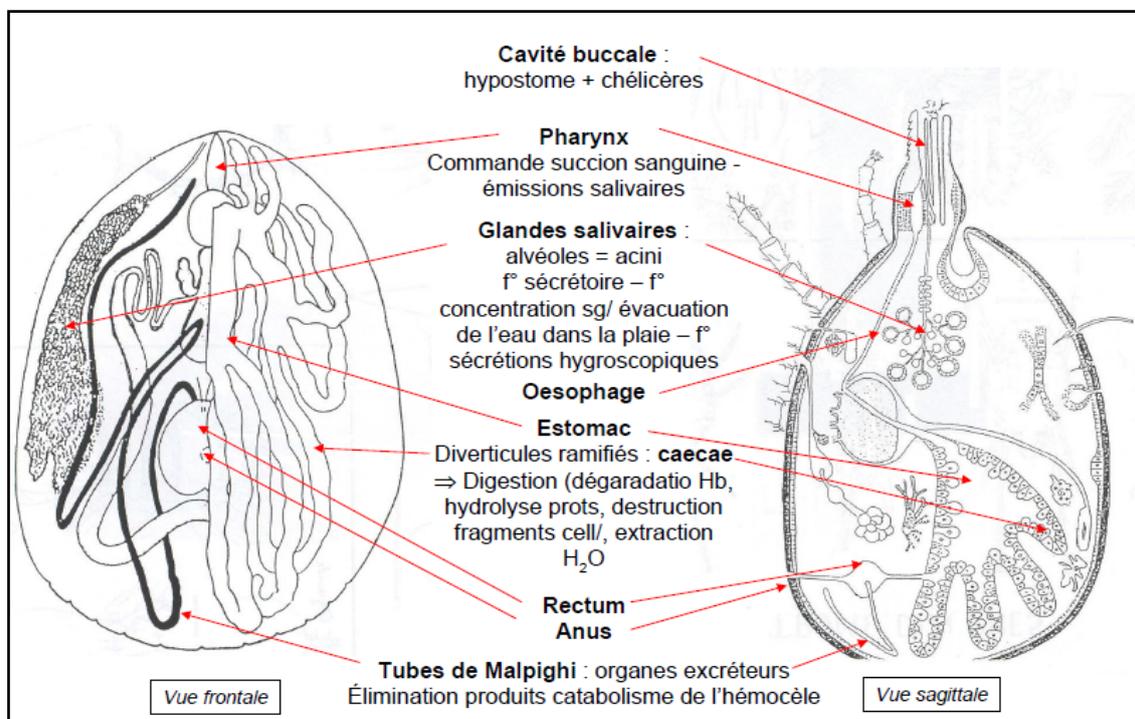


Figure 6 : Disposition interne de l'appareil digestif de la tique (Perez-Eid., 2007).

✓ **La respiration**

Se fait par des trachées qui débouchent au niveau des stigmates situés postérieurement à la quatrième paire de coxa

✓ **L'appareil circulatoire**

Il est assuré par un cœur dorsal, pulsatile et allongé en canal. L'hémolymphe circule dans le corps et s'occupe surtout du maintien de la pression osmotique ainsi que le transport des métabolites et hormones.

✓ **L'appareil nerveux**

Il est concentré en une masse ganglionnaire formant un ganglion cérébroïde qui est traversé par l'œsophage, la partie pré-œsophagienne est responsable de l'alimentation nerveuse des chélicères, les palpes, glandes salivaires et les yeux, le nerf œsophagien et stomacal innervent l'organe de Haller, tandis que la partie post-œsophagienne qui est formée par les ganglions des pattes et les cordons nerveux droits et gauches innervent les muscles et les organes sensorielles.

✓ **Organes du sens**

Formés par les soies, les sensilles et les organes de Haller ainsi que les yeux parfois (**Figure 7**).

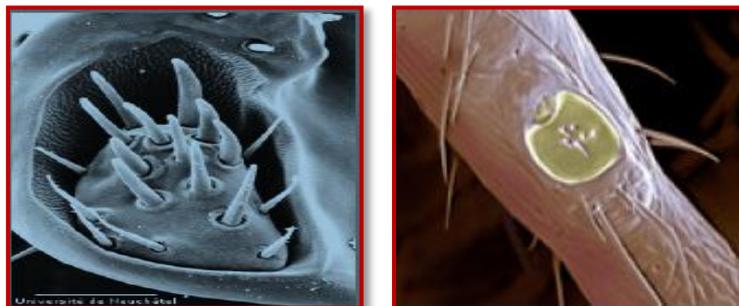


Figure 7 : Les sensilles et les organes de Haller (Hubert., 2010).

✓ **L'appareil génital**

L'appareil génital femelle est particulièrement développé. Il est formé d'un ovaire en forme de « fer à cheval ». De chaque extrémité part un oviducte long, sinueux. Les deux oviductes se rejoignent dans un utérus auquel est annexé une spermathèque. L'appareil génital se termine par un vagin, plus ou moins protractile, s'ouvrant sur un gonopore. Chez une femelle de 10mm de long, l'appareil génital déplié atteint 135mm. Le contact étroit entre les caeca gastriques et l'appareil génital permet le passage éventuel de certains microorganismes.

Chez le mâle, l'appareil génital présente moins de particularités. Les spermatozoïdes sont contenus dans des capsules, les spermatophores, transmis à la femelle au cours de l'accouplement (Blary., 2004).

❖ I.1.B.3. Particularités morphologiques des différents stades

La femelle adulte peut présenter, suivant les genres et son état de gorgement, une taille allant de 4 à 15 mm. On rencontre, uniquement chez les femelles, deux aires poreuses qui sont les abouchements de glandes (Organe de Génè) dont le rôle sécrétoire est d'imperméabiliser les œufs. Le corps de la femelle à jeun présente un scutum limité, sclérifié et pourvu de sillons permettant l'extension du tégument lors du repas sanguin.

Le mâle adulte est généralement plus petit et prend peu ou pas de repas sanguin. Le capitulum est de taille réduite et ne porte pas d'aires poreuses. De plus, contrairement à la femelle, le scutum, épais et rigide recouvre tout le tégument dorsal, ceci empêche le mâle de changer de taille au cours des repas sanguins.

La nymphe de morphologie analogue à celle de la femelle, mis à part l'absence du pore génital et des aires poreuses sur le capitulum. De plus la nymphe est de plus petite taille, allant de 1 à 2,5 mm.

La larve (Figure 8) de même morphologie générale que la nymphe, mais elle ne possède que trois paires de pattes, les stigmates sont absents et sa taille va de 0,5 à 1 mm.



Figure 8 : Larve d'*Ixodes ricinus* sous loupe (Gr. X40) (Original).

I.1.C. Bio-écologie des tiques

L'évolution zoologique et l'adaptation parasitaire des tiques dures sont étonnamment poussées. La biologie particulière et différente d'une espèce à l'autre de ce fait nous allons exposer une description sommaire et générale du cycle biologique.

▪ I.1.C.1. Cycle évolutif

Les œufs sont pondus par les femelles adultes après repas, éclosent et donnent des larves qui, après gorgement, se métamorphosent pour donner des nymphes, lesquelles muent, après repas, pour donner des adultes, mâles ou femelles. Les tiques ont donc trois stades de

développement (Figure 9). Pour tenir compte du comportement particulier des *Argasina*, dont les nymphes se gorgent plusieurs fois, en moyenne quatre ou cinq fois, et muent, pour augmenter de taille, après chacun de ces repas. Certains auteurs adoptent la double désignation de stase et de stade (Pérez-Eid et Gilot., 1998).

- Le terme de stase désigne les grandes étapes de développement, larvaire, nymphale et adulte.
- Celui de stade, désigne les étapes intermédiaires de développement, stade nymphal 1, stade nymphal 2, stade nymphal 3, 4 et 5.

Le passage d'une stase à l'autre se faisant par une métamorphose profonde avec remaniement histologique, celui d'un stade à l'autre correspondant une mue limitée engendrant un simple accroissement de taille. Dans la pratique courante, il s'avère que c'est presque le terme de stade qui est employé, pour désigner stades et stases, sans différenciation (Pérez-Eid., 2007).

La durée du cycle est très variable, elle dépend de l'abondance des hôtes et des conditions climatiques mais aussi de l'espèce considérée. Chacune de ces stases comprend une phase de recherche de l'hôte, sur lequel aura lieu le repas sanguin, qui est unique, de 3 à 12 jours (Selon la stase et l'espèce). Après le gorgement, la tique se détache et tombe sur le sol où auront lieu la ponte. Cette ponte donnera 2500 à 10000 œufs, déposés directement sur le sol ou dans une anfractuosité de terrain (Rodhain., 1996). Les œufs sont induits d'une substance cireuse imperméabilisante et demeurent agglutinés en amas (Bussiéras et Chermette., 1991). Suite à la ponte, l'œuf éclot au bout de 20 à 30 jours, temps nécessaire à l'embryogenèse, pour donner la première stase : la larve. Cette larve, après avoir éliminé ses déchets métaboliques résultant de l'embryogenèse, part à la recherche d'un hôte potentiel pour prendre son repas sanguin, la quantité de sang absorbée peut représenter jusqu'à 200 fois le poids de la tique, ou alors la tique entre en diapause lors de conditions métaboliques défavorables (Etat caractérisé par un métabolisme ralenti et un développement réduit). Le cycle reprendra quand les conditions redeviendront plus favorables (François., 2008).

Après son repas sanguin, la larve se détache, tombe sur le sol pour y effectuer dans un endroit favorable, sa métamorphose en nymphe. Cette métamorphose peut durer 2 à 8 semaines selon l'espèce et les conditions climatiques. La deuxième stase, la nymphe, présente le même comportement, la seule différence tient en la durée de la métamorphose en stase adulte qui sera plus longue, 5 à 25 semaines. La stase adulte prend un repas sanguin plus important en volume et donc plus long à fin d'assurer la ponte. Le repas dure de 5 à 10 jours, il arrive que la femelle vierge commence son repas mais elle ne peut le terminer que si la fécondation a

lieu. Les mâles adultes, quant à eux, ne se nourrissent pas (Cas des Ixodes) ou, dans le cas des metastriata, ne prennent qu'une petite quantité de sang pour assurer la spermatogénèse. L'accouplement aura lieu soit sur l'hôte, soit sur le sol. Après fécondation, le mâle mourra rapidement, tout comme la femelle après la ponte (Blary., 2004).

Ce cycle évolutif chez les *Ixodidae* peut être réalisé en un an. Cependant la durée du cycle peut être allongée en fonction des conditions climatiques et environnementales mais aussi des aléas de rencontre avec les hôtes. En effet, lors de conditions défavorables, les diapauses peuvent être allongées. Dans ces situations, on peut observer une seule phase de développement par an, rythmée par des saisons, et donc un cycle bouclé en 2 à 3 ans (Cas d'*Ixodes ricinus*) (Chauvet., 2004).

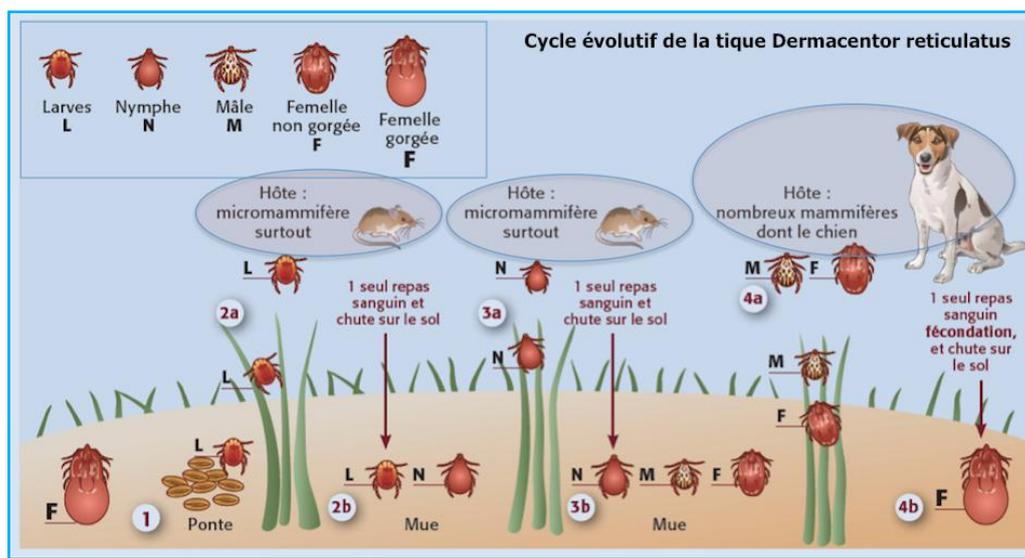


Figure 9 : Représentation du cycle biologique de *Demacentor reticulatus* en Europe (www.insecte.org., 2015).

Le cycle ici fait appel aux chiens et aux micromammifères mais qui peut se dérouler sur le même hôte si un des hôtes fait défaut et se qui est très probable dans le contexte du biotope Algérien.

▪ I.1.C.2. Différents types de cycle

Les tiques étant des ectoparasites intermittents, il existe trois types de cycles en fonction du nombre d'hôtes intervenant:

✓ Les cycles trixènes (ou triphasiques)

Ce sont les cycles où il y a un changement d'hôte entre chaque stase. Il y a alors trois phases parasitaires (larve, nymphe, adulte) séparées par deux phases à terre, où se passent les pupaisons (Morel et al., 2000). La fécondation a lieu sur l'hôte, la femelle se gorge ensuite

pendant plusieurs jours puis se laisse tomber au sol et cherche un endroit sombre et abrité pour pondre, après un repos d'une ou plusieurs semaines. Elle pond entre 500 et 7000 œufs durant plusieurs semaines et meurt. Les œufs éclosent après une incubation de 2 à 36 semaines (Selon l'espèce et les conditions climatiques). La vie larvaire commence et lorsque les conditions climatiques sont favorables, la larve se hisse au sommet d'un brin d'herbe et tend ses pattes dans le vide en attendant le passage de son hôte. Elle s'y fixe, prend son repas sanguin pendant quelques jours (4 à 5 jours) et se laisse tomber au sol. Après 3 à 5 semaines de sommeil, elle mue. La nymphe s'accroche à son hôte, prend son repas pendant 7 à 8 jours, retombe au sol et mue en mâle ou femelle après 3 à 5 semaines de sommeil. Le cycle dure de quelques mois (Une vingtaine de semaines) à 3 ou 4 ans (En moyenne un an par stade évolutif pour *I. ricinus*), la vie parasitaire proprement dite étant brève. Les tiques passent la majeure partie de leur vie dans l'environnement et les facteurs climatiques entraînent l'alternance de périodes d'activité et de diapause (Morel., 2000).

✓ **Les cycles dixènes (Ou diphasiques),**

Les trois stases évoluent sur deux hôtes individuellement différents : dans la première phase, la larve gorgée mue sur l'hôte et la nymphe qui en provient se refixe à proximité ; par la suite, la pupaison nymphale a lieu sur le sol et les adultes se fixent sur un nouvel hôte (Morel., 2000).

✓ **Les cycles monoxènes (ou monophasiques),**

Toutes les stases se succèdent sur un unique vertébré abordé par la larve, sont rares : il n'y a qu'une phase parasitaire et seuls la ponte, l'incubation et les déplacements des larves en quête d'un hôte se passent sur le sol, la durée du cycle s'en voit raccourcie. Ce type de cycle est l'aboutissement d'une sélection adaptée à des conditions microclimatiques difficiles. Le cycle est donc beaucoup plus rapide (Suppression de 2 phases de vie libre) la période de séjour sur l'hôte est au contraire prolongée.

▪ **I.1.C.3. Nature des hôtes**

La sélectivité des tiques envers leurs hôtes est variable et suivant la similitude ou la différence des tropismes manifestés aux diverses saisons, on rencontre trois types de tiques : Les tiques monotropes (Résultent d'une même sélectivité dans le choix de l'hôte à toutes les stases), Les tiques ditropes concernent les tiques dont la sélectivité des préimagos est différente (Plutôt des petits mammifères, oiseaux, reptiles) de celle des adultes (Plutôt des grands mammifères) et Les tiques télotropes qui voient les préimagos se gorger sur les vertébrés disponibles (Ils

sont ubiquistes) tandis que les adultes se gorgent plutôt sur les grands mammifères (Ils sont sélectifs) (Morel., 2000).

▪ **I.1.C.4. La localisation préférentielle sur les hôtes**

Les tiques ont des sites de fixation préférentiels sur leurs hôtes vertébrés, qui sont variables selon les espèces, et parfois selon les stades au sein d'une même espèce. Les raisons du choix ne sont pas clairement démontrées, même si on a pu évoquer le choix de tissus, plus vascularisés, plus fins, ou la moindre accessibilité de certains sites aux réactions de défense de l'hôte (Socolovschi et al., 2008).

En effet ce facteur est lié aux possibilités de pénétration de l'hypostome. Généralement, sur les ongulés, les espèces à hypostome court (Genre *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*) se fixent sur la tête (L'intérieure du cornet auriculaire et chignon) ainsi que sur l'encolure, les marges de l'anus et le toupillon. Tandis que les espèces à long hypostome se fixent sur les parties déclives où la peau est plus épaisse (Morel., 2000).

▪ **I.1.C.5. Nutrition**

Les *Ixodoidea* sont hématophages, elles prennent un unique repas de sang à chaque stase. La fixation des tiques procède d'abord d'une action mécanique, l'hypostome s'enfonçant dans l'effraction cutanée provoquée par les mouvements des chélicères. La seconde phase est la sécrétion d'un ciment, sécrétion salivaire blanchâtre bioactive (Brossard., 2002) qui va se solidifier et qui va former une gaine autour des chélicères et de l'hypostome enfoncés. Cette substance permet la fixation très solide de la tique et de plus elle a double rôles : la protection du tégument de l'hôte contre l'action salivaire (Sa destruction gênerait la fixation) et la protection de la tique contre les réactions inflammatoires de l'hôte. Le gorgement proprement dit intervient rapidement après la fixation, par alternance de courtes périodes de succion et de sécrétions salivaires. A l'extrémité des pièces buccales qui provoquent la rupture des capillaires sanguins à l'origine des petites hémorragies entraînant un afflux de sang au niveau du site de morsure, il se forme un foyer de lyse à partir du quel les tiques se nourrissent. Les tiques sont dites des telmophages, par opposition aux solénophages (Tels les moustiques) qui se nourrissent directement dans les vaisseaux sanguins. Ce « foyer de lyse » est constitué d'un tissu nécrosé, hémorragique, autour duquel une zone œdémateuse apparaît avec des structures cellulaires qui ne sont plus discernables. La tique prélève le sang à partir de ce foyer (Chanourdie., 2001). Le repas sanguin comporte toujours deux phases, qui sont très bien marquées chez les femelles : une phase lente et une phase rapide. Une phase de gorgement très lente et progressive au cours de laquelle les femelles sont fécondées. Ce phénomène

d'aspiration (Sang, lymphe, débris cellulaires) est ponctué de longs moments de quiescence suivis de sécrétions salivaires.

Une phase plus rapide au cours de laquelle la tique se gorge énormément. (1 à 3 jours) (Bourdeau., 1993).

▪ **I.1.C.6. Le biotope**

✓ **Les conditions climatiques**

Dans le milieu extérieur, les conditions de vie dépendent étroitement des facteurs climatiques (Température et humidité) et écologiques (Couverture végétale).

La température est le facteur dynamique essentiel d'organogenèse et d'activité. Pour chaque espèce il existe une température en dessous de laquelle s'installe une pause dans le développement de la tique, notamment pour les formes immatures et les adultes à jeun. Ainsi il est donc rare d'observer des tiques à une altitude comprise entre 800 et 1200 mètres et ces dernières ne sont plus retrouvées au delà de 1500 mètres. La connaissance des cartes d'isothermes permet de prévoir l'activité des tiques, et dans une certaine mesure, leur répartition. Au printemps, une température comprise entre 10 et 18°C permet un développement optimal des tiques.

L'humidité est un important facteur de survie, une humidité supérieure à 70% est nécessaire au bon développement des œufs et à la survie des stases à jeun (Perez-Eid et Gillot., 1998).

✓ **La couverture végétale.**

Il faut aussi noter l'importance de la végétation dans le biotope des tiques. En effet on note une corrélation directe entre la présence des espèces de tiques et le type de végétation. Mais il faut préciser que, la végétation est le reflet des facteurs climatiques et de la nature du sol. Les tiques se développant dans des endroits à forte hygrométrie, il en résulte la présence des tiques en cas de végétation abondante ou dans un tapis de feuilles mortes. Ces exigences expliquent donc la présence de tiques dans les forêts ou les prairies selon le degré d'humidité exigée par l'espèce (Chauvet., 2005).

▪ **I.1.C.7. Activité saisonnière et journalière des tiques**

Le développement des tiques est fortement lié aux conditions climatiques ce qui explique des disparités entre différentes régions (Température, pluviométrie). Dans les régions tempérées on peut ainsi remarquer une activité bimodale avec un pic au printemps et un en automne, période où la température est clémente et la pluviométrie abondante. Dans des régions au climat plus extrême on observe une activité unimodale avec un pic unique au printemps pour

les espèces présentes dans les pays nordiques, et au contraire une activité maximale en hiver pour les espèces méditerranéennes évitant ainsi les périodes de sécheresse de l'été.

✓ **Activité journalière**

Nous allons successivement nous intéresser aux stades libres puis aux formes parasitaires.

▶ Durant la vie libre :

Durant les périodes d'activité, les différentes stases peuvent être présentes sur la végétation aussi bien le jour que la nuit. Cependant les capacités des tiques à s'accrocher sur un hôte la nuit semblent fortement diminuer, ce qui pourrait être relié aux variations nycthémérales de température.

Les mouvements des tiques sont très limités et se situent seulement dans un plan vertical, les tiques montant et descendant sur la végétation. Ainsi la descente d'une tique à l'affût amorce la fin d'une période d'activité et de début d'une période de quiescence où l'individu reste au sol. La nuit les descentes sont plus importantes que le jour, car les températures sont inférieures.

Les tiques se positionnent d'une certaine manière sur les végétaux évitant une exposition trop importante au soleil et au vent qui engendreraient une dessiccation importante de la tique.

▶ Durant la vie parasitaire :

La fixation et le détachement de l'hôte s'effectuent à divers moments de la journée suivant l'espèce considérée (Chauvet., 2005).

I.1.D. Importance médicale et vétérinaire des tiques

On peut répartir le rôle pathogène des tiques en deux groupes (Action direct et action vectorielle ou indirect).

☒ **I.1.D.1. Rôle pathogène direct**

✓ **Action spoliatrice**

La fixation d'un grand nombre de tiques est à l'origine de cas d'anémies graves (Morel et al., 2000). Ceci est expliqué par le prélèvement d'environ 2 ml à 4 ml de sang par tique (Huber., 2010). Cependant, le nombre des tiques par animal est souvent élevé, d'où au total, une spoliation sanguine importante (Perez-Eid., 2007), qui de plus, peut se prolonger et entraînant des baisses de productivités, baisse de gains moyens quotidien, chute de poids et prédisposition aux infections et aux infestations (Wall et Shearer., 2001).

✓ **Action toxique et antigénique**

Il arrive que l'attachement de tiques de certaines espèces provoque la paralysie ascendante de leur hôte (Dworkin et al., 1999). Ce type de paralysie est à différencier de l'action vectrice de toxine. Cette action est due à l'élaboration d'une toxine probablement d'origine ovarienne et qui est sécrétée dans la salive très antigénique qui a pour cible les récepteurs nerveux de l'hôte d'où les manifestations cliniques observées (Perez-Eid., 2007).

✓ **Action traumatique et cytolique**

La lésion de la fixation de la tique entraîne une cytolyse, elle est érythémateuse et prurigineuse. Une réaction tissulaire et humorale par l'hôte sont attendues par une hyperhémie pour l'apport des éosinophiles d'où le résultat œdème tandis que la sensation douloureuse provient du tiraillement des tissus lésés sous l'effet du poids de la tique et les conséquences s'aggravent en fonction de l'endroit atteint. Après la chute de la tique, les lésions nécrotiques demeurent indurées et prurigineuses, chaude et peuvent s'exsuder pendant plusieurs semaines (Morel et al., 2000).

✓ **Action favorisante aux infections**

En outre, la lésion provoquée par la pénétration du rostre est une voie d'entrée potentielle pour plusieurs agents infectieux (De Marval., 2000).

☒ **I.1.D.2. Rôle pathogène indirect ou vectoriel**

Les tiques sont des hématophages à haut pouvoir vectoriel : des agents pathogènes peuvent être acquis (exemple : *Rickettsia aeschlimannii*) durant les divers stades du cycle de vie, puis transmis de manière trans-ovarienne (de la femelle à sa progéniture) et trans-stadiale (entre les différents stades) (Bitam et al., 2006). Une transmission d'une infection non systémique entre les tiques voisines est possible, par le co-repas ("cofeeding"). C'est-à-dire, si une tique infectée pique l'hôte, une deuxième tique, non infectée, vient piquer ce même hôte à proximité de la première. Cette deuxième tique peut s'infecter (Parola et Raoult., 2001). Le tableau I résume certains pathogènes transmis par les tiques.

Tableau I: certains bacteries, virus et parasites transmis par les tique (Moulinier C., 2002)

Pathologie	Germe transmis	Vecteur	Réservoir/hotes
Fièvre boutonneuse méditerranéenne	<i>Rickettsia connori</i>	<i>Rhipicephalus</i> spp <i>Amblyomma</i> spp <i>Haemaphysalis</i> spp	Canidés Léporidés Rongeurs
Fièvre pourprée des montagnes rocheuses	<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Dermacentor</i> spp <i>Amblyomma</i> spp <i>Rhipicephalus</i> spp	Canidés Léporidés Rongeurs Oiseaux
Fièvre boutonneuse de Sibérie	<i>Rickettsia siberica</i>	<i>Dermacentor</i> spp <i>Haemaphysalis</i> spp <i>Hyalomma</i> spp	Faune sauvage Rongeurs
Fièvre hémorragique	Virus	<i>Ixodes</i> spp <i>Dermacentor</i> spp <i>Amblyomma</i> spp <i>Hyalomma</i> spp	Bétaïls Ongulés sauvages
Fièvre Q	<i>Coxiella burnetti</i>	<i>Dermacentor</i> spp <i>Amblyomma</i> spp <i>Hyalomma</i> spp	Homme Bétaïl et mammifères
Maladie de lyme	<i>Borrelia burgdorferi</i> spp	<i>Ixodes ricinus</i> <i>Ixodes</i> spp <i>Amblyomma</i> spp	Rongeurs
Arboviroses	Arbovirus	<i>Ixodes</i> spp <i>Dermacentor</i> spp	Mammifères
Babésioses	<i>Babesia</i> spp	<i>Ixodes ricinus</i> <i>Rhipicephalus</i> spp <i>Boophilus</i>	Canidés Bétaïl
Thélorioses	<i>Theileria</i> spp	<i>Ixodes</i> spp	Bétaïl
Tularémie	<i>Francisella tularensis</i>	<i>Dermacentor</i> spp <i>Haemaphysalis</i> spp <i>Ixodes</i> spp	Léporidés Rongeurs Bétaïl

I.2. Ordre des Siphonaptera (les puces)

Les Siphonaptères (du latin *Siphos* = Tube) ou puces (Anglais: fleas), autrefois encore dénommées aphaniptères, sont des insectes sauteurs sans ailes et à pièce buccale de type piqueur-suceur avec 95% des espèces parasites obligatoires des mammifères alors que le reste s'attaque aux oiseaux. L'ordre des siphonaptères comprend environ 2500 espèces de morphologie, physiologie et comportement liées temporairement et étroitement à leur hôte (Wall et Shearer., 2001).

Ce sont des insectes à métamorphose complète (Holométaboles) hautement hématophage où ils peuvent causer une anémie avec une cardiomégalie grave (Bowman., 2009).

L'importance des puces en santé humaine et animale a été surtout liée à leur capacité de transmission d'agents de maladies infectieuses, la peste est la plus connue et la plus redoutée, mais sont également associées à d'autres maladies comme le typhus murin, la rickettsiose boutonneuse à puce ainsi que les bartonelloses comme la maladie des griffes du chat (Duchemin et al., 2006).

I.2.A. Origine et phylogénie des puces

Si l'on se réfère à une définition moderne des puces, les plus anciens spécimens de fossiles conservés dans l'ambre datent de l'Eocène (40 millions d'années) ou du Miocène inférieur (20 millions d'années). Ils ont pu être rattachés au genre actuel *Palaeopsylla*. D'autres fossiles plus anciens (Crétacé inférieur, environ 100 millions d'années), aplatis latéralement et porteurs de pattes adaptées au saut ont été également rapprochés des puces. Plus récemment, plusieurs spécimens de puces ont été retrouvés dans des sites archéologiques, notamment *Pulex irritans* en Hollande dans un site datant de l'âge du fer ou au Groenland, dans des sites des vikings (Sadler., 1990). Sur le plan phylogénétique, les puces sont rattachées aux mécoptères et notamment aux Boreidae (angl: «snow fleas»), à la fois sur des arguments génétiques mais aussi morphologiques (Whiting., 2002). En fait, les rapports entre les membres de l'ordre des Siphonaptères sont parmi les moins étudiés des insectes sur le plan moléculaire. Les études morphologiques et cladistiques sont rares et s'attachent à des groupes restreints (Lu et Wu., 2005).

I.2.B. Position taxonomique

Les puces appartiennent au Phylum des Arthropoda, la classe des Insectes et l'ordre des Siphonaptera (Michaud., 1988). Cet ordre comprend environ 2500 espèces et sous-espèces et organisées en 239 genres et regroupées dans 15, 16, 17 familles selon les auteurs dont 2 qui représentent une importance vétérinaire et médicale (Famille des Pulicidae et la famille des Ceratophyllidae) (Wall et Shearer., 2001).

- la famille des Ceratophyllidae est représentée par 500 espèces réparties entre 80 qui affectent les oiseaux et le reste pour les rongeurs.
- La famille des Pulicidae est la plus répandue à travers le monde et affecte les mammifères surtout.

(Beaucournu et Launay., 1990) (Tableau II), reconnaissent cinq superfamilles et quinze familles dont les rapports et les affinités ne font pas encore l'unanimité parmi tous les taxonomistes car La majorité des caractéristiques morphologiques utilisées pour l'affiliation des espèces de puces sont basées sur la forme et la structure de leurs organes génitaux, et la présence et la distribution des soies, épines, et cténidies sur le corps (Dunnet., 1999). Or une récente analyses basées sur quatre gènes menée par Whiting et ces collaborateurs montre que beaucoup de familles existantes et sont paraphylétiques et ainsi justifier une néo-réorganisation taxonomique (Whiting., 2002).

Tableau II : Classification des Siphonaptera (Wall et Shearer., 2001).

<i>Super famille</i>	<i>Famille</i>	<i>Sous famille</i>
Hystrichopsylloidea	Coptopsyllidae	Hystrichopsyllinae
		Macropsyllinae
	Stiphanocirciridae	Stiphanocircirinae
		Craneopsyllinae
	Pygiopsyllidae	Pygiopsyllinae
		Choristopsyllinae
		Lycopsyllinae
		Uropsyllinae
	Ctenophtalmidae	Ctenophtalminae
		Doratopsyllinae
Rhadinopsyllinae		
Neopsyllinae		
Anopsyllinae		
Dinopsyllinae		
Listropsyllinae		
Stenoponiinae		
Hystrichopsylloidea	Chimaeropsyllidae	Neotyphloceratinae
		Chimaeropsyllinae
		Chiastropsyllinae
Ceratophylloidea	Ancistropsyllidae	Epirimiinae
		Xiphiopsyllidae
Ceratophylloidea	Ceratophyllidae	Ceratophyllinae
		Leptopsyllinae
		Amphipsyllinae
Ceratophylloidea	Ischnopsyllidae	Ischnopsyllinae
Malacopsylloidea	Malacopsyllidae	Thaumapsyllinae
Malacopsylloidea	Rhopalopsyllidae	Parapsyllinae
		Rhopalopsyllinae
Vermipsylloidea	Vermipsyllidae	Dorcadiinae
		Vermipsyllinae
		Xenopsyllinae
		Hectopsyllinae

Pulicidae	Spilopsyllinae
	Archaeopsyllinae
Pulicoidea	Pulicinae
	Neotunginae
Tungidae	

I.2.C. Etude morphologique des puces

❖ I.2.C.1. Morphologie externe des adultes

Les puces sont de petits insectes de couleur jaune à brun sombre, dépourvus d'ailes (Franc., 2006). Protégées par une cuticule externe très dure constituée essentiellement de chitine et de polysaccharides aminés, le corps est recouvert de poils épineux hérissés vers l'arrière, ainsi que des épines courtes et robustes (Krämer et Mencke., 2001). Il est fortement comprimé latéralement, (Cleenewerk., 2004). Elles se déplacent en effectuant des sauts grâce à leur pattes postérieures très développées et munis de griffes (Ambroise-Thomas et al., 1990).

Elles mesurent le plus souvent moins de 5 mm de long (de 2 à 3 mm pour la majorité des espèces, exceptionnellement jusqu'à 8 mm). Les femelles sont généralement plus grosses que les mâles (Michaud., 1988).

Les diverses parties du corps sont facilement repérées (**Figure 10**). **Capsule céphalique** (Ou tête), fusionnée avec trois **segments thoraciques** bien individualisés (**Prothorax, mésothorax et métathorax**) et un **abdomen** plus ou moins ovale formé de 11 segments (Beaucournu et Launay., 1990 et Delfore., 2001).

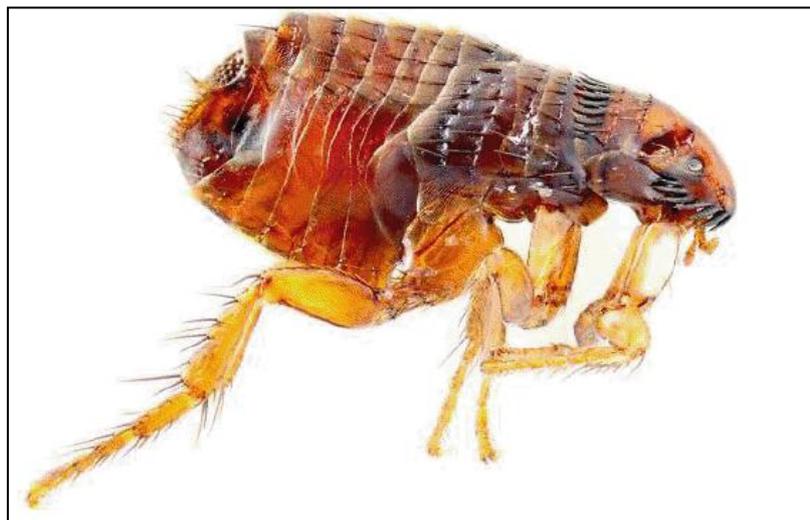


Figure 10 : Représentation externe d'une puce (Duchemin ., 2006).

☒ **Tête ou capsule céphalique**

La tête est globalement arrondie, trapézoïdienne ou subrectangulaire en fonction des espèces (Delfore., 2001), directement accolée au thorax, sans rétrécissement cervical. Ce profil leur permet de se faufiler entre les poils et même les duvets (Ambroise-Thomas et al., 1990). Les puces ont une tête en carène de petite taille comprenant une partie antérieure, et une partie postérieure, séparées par une suture, et de chaque côté par la fossette antennaire dans laquelle se loge des antennes courtes à trois articles, étroitement unie au thorax (Absence de cou) (Baud'hui., 2003 ; Michel., 2006 et Pailley., 2007). La présence d'une grosse soie préoculaire et d'une ou plusieurs soies en situation postcéphalique sont des caractéristiques d'espèces (Moulinier ., 2002).

Les yeux sont simples (des ocelles sur la face latérale), réduits ou absents (Michaud., 1988 et Bussiéras et Chermette., 1991).

L'appareil buccal est de type piqueur suceur (Michaud., 1988), (Moulinier., 2002), et constitué des pièces suivantes (**Figure11**):

- ▶ Labre-épipharynx, impair, peu développé, sa partie distale participe à la piqûre et à la nutrition.
- ▶ Les maxilles qui sont insérés sur une pièce basale, le stipe portent le palpe maxillaire (4 articles) et la lacinia piqueuse.
- ▶ D'un labium court et rudimentaire portant une paire de palpes labiaux à cinq segments très développés. Ils forment une gouttière engainant les divers stylets, les protègent et les maintiennent en place au moment de la piqûre.
- ▶ Les deux seules pièces perforantes sont les deux lacinia et l'épipharynx.

Chez certaines espèces, on observe la présence dans la partie inférieure de la tête (Zone génale), d'une rangée de fortes épines à pointe dirigée vers l'arrière «le peigne» ou «cténidie». Le nombre et la dimension des épines sont des caractéristiques d'espèces (Beaucournu et Launay., 1990 ; Bussiéras., et Chermette., 1991 et Moulinier., 2002).

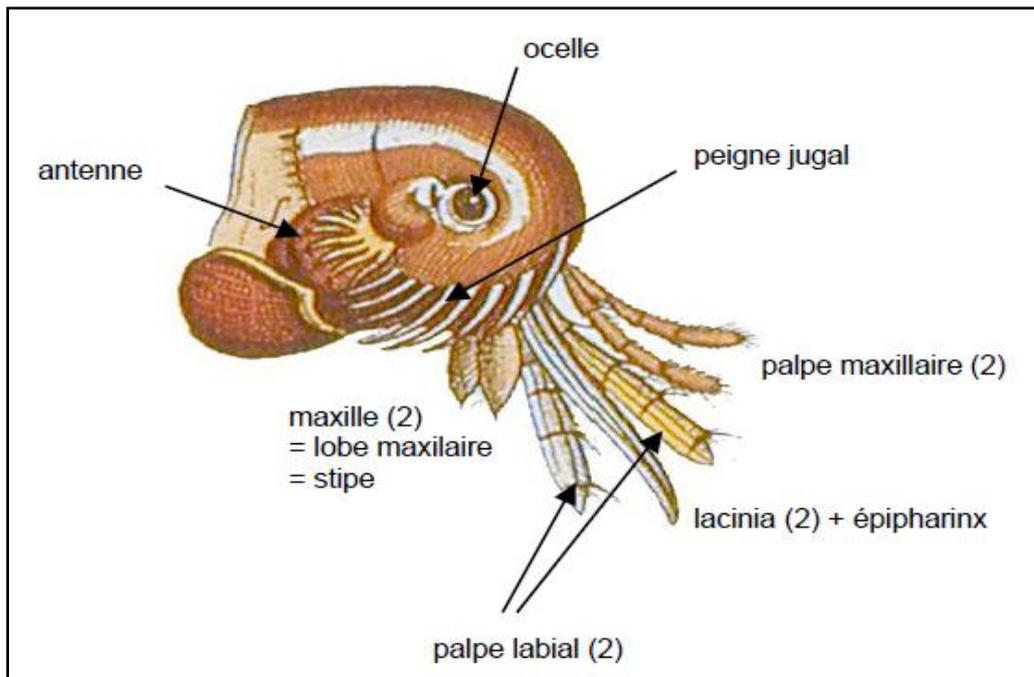


Figure 11 : Appareil buccal d'une puce (Robert., 2010).

☒ Thorax:

Dorsalement il comprend trois anneaux distincts : prothorax, mésothorax et métathorax (Baud'hui., 2003). Tous portent un stigmate et une paire de patte. Comme chez tous les insectes, la patte de la puce comporte 5 éléments : La hanche ou coxa, trochanter, fémur, tibia et tarse pentamère. L'article distal des torses se termine par une paire de fortes griffes dirigées vers l'extérieur. La 3ème paire de patte est toujours la plus développée et est adaptée au saut (Moulinier., 2002 et Delfore., 2001). Le prothorax porte parfois un peigne. (Delfore., 2001) et à la place des ailes, une grande plaque ou écaille aliforme (Baud'hui., 2003) On note également la présence sur le bord postérieur du pronotum une rangée de fortes épines: cténidie (Ou peigne) (Beaucournu et Launay., 1990 et Bussiéras et Chermette., 1991).

☒ Abdomen :

Formé de 10 ou 11 segments abdominaux, divisé dorsalement en tergites, et ventralement en sternites. Il peut se dilater de façon très importante grâce aux membranes reliant chaque segment (Duchemin et al., 2006). Composé de huit tergites et six sternites qui sont nettement visibles et sans différenciation majeure. Le sternite numéro 8 est souvent transformé chez le mâle. Le segment 9 est modifié chez le mâle en pince servant à maintenir la femelle pendant la copulation. Dans les deux sexes, le tergite 9 porte dorsalement une zone sensorielle bien développée, le sensillum (Ou plaque pygidiale) (Beaucournu et Launay., 1990).

I.2.C.2. Morphologie externe des larves et nymphes :

❖ Larve :

Les larves de puces sont vermiformes (**Figure 12**), apodes, munies d'une capsule céphalique à pièces buccales broyeuses (Beaucournu et Launay., 1990 et Nozais et al., 1996), Leur tégument thoraco-abdominal est blanchâtre. On distingue trois stades larvaires successifs. le 2^{ème} et le 3^{ème} se distinguent par la taille (La taille du dernier stade est de 5 à 10 mm) (Nozais et al., 1996), tandis que le 1^{er} se reconnaît à la présence d'une dent d'éclosion sur le front (Duchemin et al., 2006).



Figure 12 : larve de puce (Duchemin et al., 2006).

❖ Nympe :

La nymphe est immobile, emprisonnée dans un cocon tissé par la larve. Elle présente déjà la plupart des caractères de la morphologie externe de l'adulte (Nozais et al., 1996).

I.2.C.3. Morphologie interne (Imago) :

☒ Tube digestif:

L'appareil digestif de la puce est classique ainsi composé de différents éléments. Il comprend un pharynx, un œsophage, un proventricule muni de denticules internes qui permettent de fractionner le passage du sang vers l'intestin, un estomac volumineux, un intestin court et étroit qui aboutit sur une ampoule rectale et un anus. L'excrétion est assurée par les tubes de Malpighi (Moulinier., 2002 et Rothschild et al., 1986 in Beaucournu et Launay ., 1990).

☒ Système nerveux

En position ventrale, il est composé de ganglions abdominaux qui sont au nombre de huit chez le mâle et de sept chez la femelle. Les ganglions du prothorax et du mésothorax ont la particularité d'être séparés.

☒ **Appareil respiratoire**

La respiration s'effectue par un système de trachées s'ouvrant à l'extérieur par des stigmates respiratoires. Une trachée est constituée d'un tube très fin dont la paroi est soutenue par des cercles de chitine. L'appareil respiratoire se poursuit par des cellules trachéolaires qui se terminent par des trachéoles très fines. L'expiration est active contrairement à l'inspiration qui est passive (Panchout., 2007).

☒ **Appareil génital mâle :**

Il est composé de deux testicules, deux spermiductes, d'une vésicule séminale avec quatre glandes accessoires. Le canal déférent relie la vésicule séminale au pénis rétractile (Figure 13), il est accompagné de longs tendons chitineux enroulés en « cor de chasse ». On peut distinguer cette formation par transparence (Panchout., 2007).

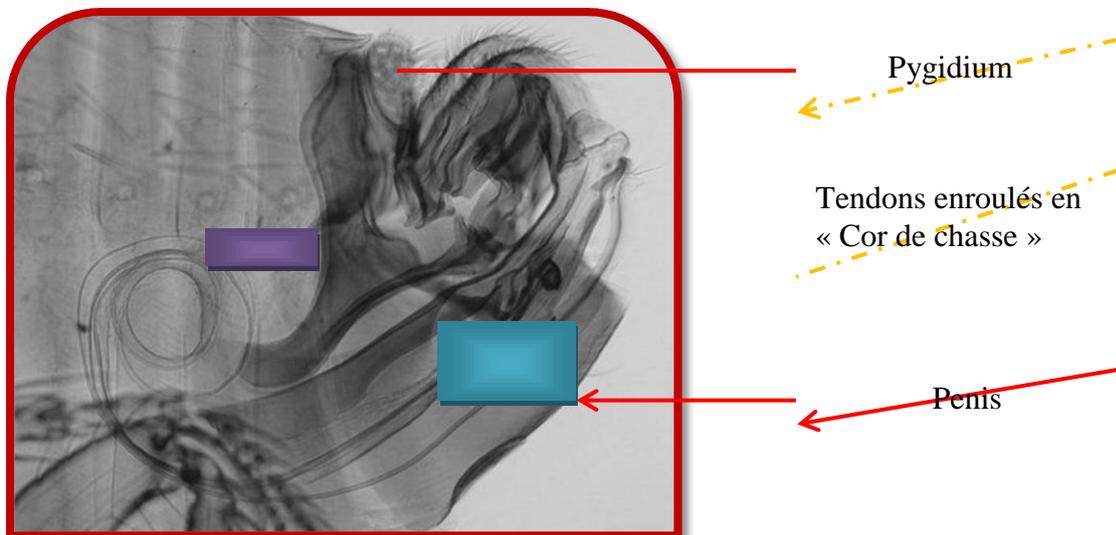


Figure 13: Appareil génital de *Pulex irritans* (Panchout F., 2007).

☒ **Appareil génital femelle :**

Le pleurite reliant les sternites 8 et 9 s'ouvre sur le plan médian, par l'orifice vaginal, donnant accès au vagin, celui-ci se transforme vers l'avant en oviducte relié aux ovarioles. Dorsalement s'ouvre l'ostium bursale ou orifice du *ductus bursae* et donne le spermathecae (Rothschild et al., 1986 in Beaucournu et Launay., 1990). La spermathèque, composé de 2 parties, la bulga vésiculeuse et la hilla en doigt de gant. La morphologie de la spermathèque varie avec l'espèce. (Moulinier., 2002).

I.2.D. Bio-écologie des puces

I.2.D.1. Habitat

Les puces sont fondamentalement associées à des hôtes qui vivent dans des abris dans lesquels ils reviennent plus au moins périodiquement. Et l'homme. A l'inverse les animaux qui ne possèdent pas de tels abris tels que la plus part des ongulés, artiodactyles notamment, ne sont pas en principe parasités par les puces (Wall et Shearer., 2001), lorsque de telles associations existent, elles sont liées à un taux de reproduction des puces très élevé ainsi qu'à une liaison étroite avec l'hôte : cas de Tungidae, des Vermipsyllidae, ou encore à une promiscuité marquée des hôtes (Cas de certaines espèces de Pulicidae). Au plan de comportement, on distingue du point de vue du contact des puces avec leurs hôtes, trois grands types :

Premier groupe : regroupe les espèces qui vivent en permanence sur leur hôte (Rongeurs, marsupiaux, quelques carnivores) et ne le quittent qu'exceptionnellement quand elles sont dérangées ou lorsque la température corporelle de l'hôte diminue (Anesthésie, mort) (Franc., 2006). Ces puces ont, en général, une bonne aptitude au saut et y sont qualifiées de **puces à fourrure** (Moulinier., 2002).

Deuxième groupe : associe des espèces dites «**nidicoles ou de litière**», cette catégorie est représentée par la famille des Cératophyllidés (*Ceratophyllus gallinae*). Ces puces attendent leur hôte dans leur terrier et ne le recherchent qu'au moment du repas. Elles se déplacent lentement et n'utilisent que rarement le saut.

Troisième groupe : rassemble des espèces dites «**sédentaires**» et qui vivent fixées par les pièces buccales sur l'hôte durant une partie de la vie imaginaire, ainsi *Echidnophaga gallinacea* sur les volailles ou *Spilopsyllus cuniculi* sur le lapin. Ou encore elles peuvent vivre totalement enchâssées dans les tissus de l'hôte sans qu'il n'y ait aucune communication avec l'extérieur, sauf au niveau de l'orifice de ponte, et ceci durant toute la vie du parasite, ainsi *Tunga penetrans* (Moulinier., 2002).

Les puces évoluent dans des milieux chauds et humides et fuient la lumière et l'ensoleillement direct. Elles sont très sensibles à la dessiccation mais résistent bien au froid. La présence et l'abondance de ces parasites dans un milieu donné peuvent être saisonnières. En effet, au cours des mois chauds de l'été, le nombre de parasites augmente

considérablement, alors que pendant l'hiver, on les retrouve en plus petite quantité (Metzger et Rust., 1997).

Les puces pullulent pendant la saison chaude dans les terriers des rongeurs et dans les nids (En particulier les nids érigés au sol). Dans les habitations, on les retrouve essentiellement dans les tapis, les moquettes, dans les interstices des planchers et dans la literie. Dans les terriers, nids et maisons inoccupées, elles peuvent survivre sans se nourrir pendant plusieurs mois en attendant le retour de l'hôte, qu'elles vont repérer en captant des odeurs, des variations de température et d'hygrométrie à l'aide du pygidium (Marvy., 1989).

I.2.D.2. Nutrition

Les Adultes sont hématophages, Les piqûres sont pluriquotidiennes effectuant 6 à 7 repas par jour, rapides (2 à 5 minutes) et indolores. Le poids moyen de sang ingéré peut atteindre 0,42 mg. La digestion du sang le rendra plus sombre au bout de quelques heures (Duchemin et al, 2006). Lors de la piqure, la peau est pénétrés par le labrum et les maxillaires, ces insectes inoculent des allergènes contenus dans leur salive (Cleenewerk., 2004), puis retirent leur trompe et aspirent un mélange de sang et de lymphe. Les puces sont dites solenophages, c'est-à-dire qu'elles aspirent du sang directement dans un capillaire (Moulinier., 2002).

Il peut y avoir une corrélation entre la longueur des pièces buccales et l'épaisseur de la zone tégumentaire choisie, mais aussi d'autres facteurs interviennent comme le phototropisme. La quantité de sang prélevée à chaque repas varie avec la taille du parasite et donc avec le sexe (Beaucournu et al., 1990).

L'augmentation de la température rapproche la fréquence des repas (Signoli et al., 2007). En général, le repas du sang est nécessaire pour accomplir le développement des ovaires des puces femelles (Bitam et al., 2010). La puce adulte peut en outre survivre 6 mois sans nourriture ; la plupart des adultes vivent pendant un an.

I.2.D.3. Le cycle de développement des puces

Comme des insectes holométaboles, les puces complètent le cycle de l'œuf à l'adulte en passant par différents stades larvaires et un stade nymphal (Ratovonjato et al., 2000 et Bitam et al., 2010). La durée du cycle biologique dépend de l'espèce en cause, de la température, de l'humidité et de l'accès à la nourriture. Si toutes les conditions favorables sont réunies, une puce parvient au stade adulte en deux à trois semaines. Dans le cas contraire, son développement peut prendre plusieurs mois (Moulinier., 2002).

❖ Les œufs

Après un ou plusieurs repas sanguins et l'accouplement (Sauf les puces des oiseaux qui s'accouplent avant le repas sanguin) (Moulinier., 2002), les puces femelles pondent par série de 2 à 6 œufs. Les œufs sont ovales et mesurent 0,3 à 0,5 mm de longueur. De couleur blanchâtre et ils jaunissent après une semaine. Le nombre d'œufs est variable selon les espèces : Plus de 1.000 œufs pour *Ctenocephalides felis* (puce de chat) et entre 300 à 400 pour *Xenopsylla cheopis* (Puce de rat) (Ratovonjato et al., 2000). Ils sont pondus isolément à l'intérieur des habitations au niveau des anfractuosités et fissures des parterres, où l'humidité et la température sont plus ou moins élevées et stables. Les œufs peuvent éclore dans 1 à 10 jours, selon la température et l'humidité (Bitam et al., 2010).

❖ Les larves

De l'œuf va sortir une minuscule larve allongée, vermiforme, apode et sans yeux mais possède des pièces buccales mordantes. Les larves se développent dans un milieu ombragé, humide et à température modérée (Signoli et al., 2007) ; elles sont très hygrophiles, à phototactisme négatif et à géotropisme positif (Bitam et al., 2010), et bien que dépourvues de pattes, sont extrêmement agiles et remuantes. Elles se nourrissent sur le sol de débris organiques, squames cutanées et poussières de sang séché provenant des individus parasités par les puces adultes. Les trois stades larvaires durent chacun 2 à 6 jours (Boure., 2001). La durée de l'évolution peut dépasser 15 jours. Arrivées à maturité, les larves vont choisir un interstice, pour devenir nymphe.

❖ Nymphe (Pupe ou chrysalide)

Ovoïde et blanchâtre, vivent à l'intérieur du cocon qui devient rapidement couvert par les débris qui vont l'aider pour son camouflage. Ce stade est immobile et ne s'alimente pas, et dure 1 à 2 semaines en moyenne. La nymphe se métamorphose par la suite en adulte, qui devient hématophage pour les deux sexes. Pour s'adapter aux différentes variations des conditions physiques, la puce est capable de passer en état de quiescence dans tous ses stades de variations (Ratovonjato et al., 2000).

I.2.D.4. La recherche de l'hôte

La recherche est plus passive qu'active. L'insecte se poste en attente du passage éventuel de l'hôte. Dès qu'il est détecté le saut est déclenché pour précipiter la rencontre.

Les indices connus pour la recherche de l'hôte chez les puces sont la chaleur du corps, les mouvements, et le carbone dioxyde exhalé (CO₂). Si la puce ne trouve pas un hôte, elle peut survivre pour une certaine durée qui, dépend des espèces, de l'humidité et de la température

(Bitam et al., 2010).

En attendant de trouver leur hôte, les puces tiennent dans les terriers ou dans les nids des oiseaux et des mammifères sauvages, les détritiques des poulaillers ou des pigeonniers, les habitations humaines, sous les tapis ou dans les fentes des parquets.

I.2.D.5. Spécificité parasitaire

Aucune puce spécifique de primate n'existe. Quelques espèces seulement sont spécifiques; la plupart ne présentent que des préférences trophiques avec une spécificité écologique (Signoli et al., 2007) un même hôte pourra donc être parasité par différentes espèces de puces, d'où le risque de transmission d'agents pathogènes d'une espèce à l'autre (Bussiéras et Chermette., 1991).

La présence d'un hôte dans un biotope donné n'implique pas obligatoirement, la présence de la puce spécifique correspondante. L'altitude ou la latitude peuvent entraver le développement larvaire. Certaines espèces sont estivales, d'autres hivernales (Beaucournu et al., 1990).

La dispersion des puces est assurée par les déplacements de l'hôte et les sauts d'individu à individu (Pailley., 2007).

I.2.D.6. Mode de locomotion

Le saut est une caractéristique de l'ordre des Siphonaptères, peut arriver à une longueur 150 fois leur longueur propre du corps (Beaucournu et al., 1990).

Ce comportement est d  à la r siline, une protéine élastomère qui est comprimée durant la flexion du coxa, puis rapidement relâchée, et maintient également le fémur replié sur la hanche (Bitam et al., 2010).

I.2.E. Importance médicale et vétérinaire des puces

➤ I.2.E.1. Rôle pathogène direct

L'apparition et la gravité des signes cliniques dus à l'infestation par les puces dépendent des facteurs suivants:

- la fréquence de l'exposition aux puces
- la durée et le taux de l'infestation par les puces
- le degré d'hypersensibilité
- la présence d'une infection secondaire ou d'une autre maladie cutanée.

De ce fait le rôle direct est souvent peu important. Il est caractérisé par l'action spoliatrice de sang et le rôle irritatif par l'apparition de papules prurigineuses, cette action peut être marquée chez les sujets sensibles et provoque surtout chez le chien et le chat ainsi que le cheval une

dermite allergisante aux piqûres de puces (D.A.P.P), on a noté aussi une possibilité d'ulcération au niveau du point de piqure (Franc., 1994).

➤ **I.2.E.2. Rôle pathogène indirect**

Les puces peuvent être à l'origine de la transmission de nombreux agents pathogènes provoquant les maladies plus ou moins graves, pour l'animal et pour l'homme (Bussiéras et Chermette., 1991 et C.C.L.I.N., 2001). Elles sont vectrices de:

☒ **Helminthes**

- *Hymenolepis fraterna* ou *Hymenolepis nana* (Cestode) qui causent une helminthiase intestinale (Beaucournu et Launay., 1990 et C.C.L.I.N., 2001).
- Dipylidiose de l'homme par ingestion accidentelle de puces de chien infesté par *Dipylidium caninum* (cestode) (Thérèse et al., 2002).

☒ **Protozoaires**

Trypanosoma nabisi du lapin, *T. crocidurae* des musaraignes et divers autres Trypanosomes (Beaucournu et Launay., 1990).

☒ **Virus**

Le virus de Sanarelli, agent de la Myxomatose. *Spilopsylla cuniculi*, puce introduite en Australie pour y propager le virus et tenter d'éliminer les lapins (Beaucournu et Launay., 1990 et Bussiéras et Chermette., 1992).

☒ **Infections bactériennes**

➤ **Rôle redoutable dans la transmission de la peste**

Les puces jouent un rôle essentiel dans la transmission de la peste. Elles s'infectent sur des rats en fin d'évolution de la maladie. Elles deviennent elles-mêmes efficacement infestantes après deux semaines puis le restent toute leur vie. Il n'y a pas de transmission héréditaire de puce à puce. Les bacilles se multiplient intensivement dans l'intestin et dans le proventricule, provoquant une obstruction plus ou moins complète de ce dernier. Pour se nourrir, les puces font un effort de régurgitation du contenu du proventricule vers les pièces buccales ; l'hôte est alors contaminé. La salive des puces n'est donc pas infestante. Les déjections de puces véhiculent des bacilles et restent infestantes pendant plusieurs années (Moulinier., 2002).

Les puces le plus souvent impliquées dans la transmission de *Yersinia pestis* dans les populations de rongeurs appartiennent au genre *Xenopsylla*. *Xenopsylla cheopis* est la plus souvent impliquée et évolue aussi bien en milieu urbain que rural.

‣ **La transmission de Rickettsies**

◆ **La fièvre boutonneuse à puces**

C'est une maladie émergente incomplètement décrite, due à une rickettsie du groupe boutonneux *Rickettsia felis*. Cette bactérie a été détectée pour la première fois chez *Ctenocephalides felis* puis fut associée à d'autres espèces comme *Ctenocephalides canis* ou *Pulex irritans*. L'infection semble ubiquitaire. Cette pathologie se caractérise par de la fièvre avec une escarre d'inoculation (Boudes et Parola., 2007).

◆ **Le typhus murin**

Le typhus murin, dû à *Rickettsia typhi*, est une zoonose transmise à l'homme par les ectoparasites des muridés. *Xenopsylla cheopis*, vecteur principal, ne meurt pas de l'infection et pourrait transmettre la rickettsie à une faible partie de sa descendance. La puce contamine l'homme par ses déjections qui pénètrent l'organisme à la faveur des lésions de grattage, par voie muqueuse ou par inhalation, et peut-être par piqûre.

La maladie a une répartition mondiale. Elle est vraisemblablement endémique dans les pays où les contacts avec les muridés sont fréquents.

L'incubation du typhus murin est de 7 à 14 jours; l'invasion peut être brutale ou progressive. Le tableau de début de la maladie associe une fièvre élevée, des céphalées, une asthénie extrême et des myalgies. A la phase d'état, la fièvre est en plateau, il n'y a pas d'escarre et une éruption apparaît en trois à six jours. L'éruption, discrète ou purpurique, est maculeuse puis maculo-papuleuse. On peut observer des manifestations cliniques variables comme des nausées, vomissements, une toux sèche ou des confusions. L'évolution sous antibiotiques est favorable en 7 à 14 jours (Boudes et Parola., 2007).

‣ **Les bartonelloses**

La bactérie en cause du genre *Bartonella* dont 6 sont pathogènes pour l'homme, le chat et le chien: *B. henselae*, *B. vinsonii*, *B. bacilliformis*, *B. quintana*, *B. clarridgeiae*, *B. elizabethae*. Les chats sont porteurs sains de *Bartonella henselae* (Brouqui et al., 1999). La transmission s'effectue pendant le repas sanguin par inoculation lors de la piqûre, mais aussi par l'intermédiaire des déjections avec une amplification bactérienne réalisée dans le tube digestif de l'arthropode (Boulouis et al., 2007).

Tous les micro-organismes (Germes) n'ont pas les mêmes capacités à provoquer des infections, certains étant pratiquement toujours associés à des manifestations cliniques (Maladies) alors que d'autres ne provoquent qu'exceptionnellement des maladies. Les pathogènes vectorisés par les ectoparasites sont nombreux, de ce fait nous allons se focaliser sur les pathogènes traités dans la partie pratique (***Rickettsia spp*, *Bartonella spp* et *Borrelia spp***).

II.1. *Rickettsia spp.*

II.1.A. Généralités sur les rickettsies

De nombreuses bactéries vivent au contact des cellules animales. Certaines, sont intracellulaires strictes, c'est le cas des rickettsies, les premières bactéries décrites comme intracellulaires strictes des eucaryotes (Silveman., 1995 et Perlman et al., 2006) grâce aux travaux des pionniers, (Howard Ricketts, Stanislaus Von Prowazek et Charles Nicolle lauréats du prix Nobel, 1928), au début du vingtième siècle (Gross et al., 1996).

Le genre *Rickettsia* (Rickettsial, Rickettsiaceae) avec quelques espèces qui sont connues pour provoquer des maladies infectieuses chez l'homme et l'animal à savoir *R. prowazekii* (des rickettsies du groupe typhique), l'agent causal du typhus épidémique et *R. rickettsii* (des rickettsies du groupe boutonneux), l'agent de la fièvre pourprée des montagnes Rocheuses (Hackstadt., 1996). Certains rickettsies sont importantes à la fois comme des agents pathogènes émergents (Azad et Beard., 1998) et comme agents sélectionnés pour le développement des armes biologiques (Azad et Radulovic., 2003). De nombreux animaux constituent le réservoir naturel de ces bactéries. L'homme ne représente qu'un hôte accidentel (Maurin., 2003), à l'exception de *R. prowazekii* (Agent du typhus exanthématique) qui est une espèce à réservoir essentiellement humain, les autres sont toutes des zoonoses (Duval et al., 1998 ; Parola et Raoult., 1998 et Maurin., 2003).

Les rickettsies infectent également de nombreux arthropodes, qui interviennent dans leur cycle infectieux en assurant la transmission inter-humaine, inter-animale ou de l'animal à l'homme (Maurin ., 2003).

Étant donné la diversité de *Rickettsia sp* (Fournier et al., 2003), et de leurs pathologies associées, une bonne compréhension des relations évolutives et la taxonomie de ces diverses bactéries est essentielle pour le diagnostic au niveau des espèces.

II.1.B. Historique

Le genre *Rickettsia* est baptisé au nom de Howard Taylor Ricketts (Marcheur., 1996), qui a travaillé dessus en 1906 et curieusement mourut du typhus en 1910 (Maurin., 2003). C'est en 1910, à Tunis, que Conor et Bruch décrivent une nouvelle entité clinique qui se caractérisait par son apparition estivo-automnale, son éruption de boutons dermo-épidermique, son évolution cyclique se terminait généralement par la guérison. De plus, le genre responsable a été découvert en 1932 par Brumpt chez les tiques est nommé *Rickettsia conorii* en hommage au premier descripteur de la maladie (Golvan., 1983).

Récemment, l'introduction des nouvelles techniques de laboratoire et l'avancement des méthodes moléculaires ont permis de grands progrès dans la connaissance des rickettsioses. Ainsi, sept nouvelles rickettsioses ont été découvertes depuis 1984 à travers le monde, alors que huit seulement avaient été découvertes auparavant (Parola et Raoult., 1998). Actuellement 25 espèces sont validées au sein du genre dont 15 sont reconnues comme pathogènes humains. Parmi celles-ci 11 sont transmises à l'homme par des tiques (Bitam I et Raoult D., 2009). De nouvelles espèces continuent à être découvertes, la dernière dénommée *R. raoultii* découverte en 2008 (Bitam., 2011).

En 2001, le premier génome d'une *Rickettsia* transmise par les tiques (*Rickettsia conorii*) a été complètement séquencé. Il a révélé plusieurs caractéristiques uniques parmi ces génomes bactériens (Ogata et al., 2001 et Ogata. et al., 2002). Il a été comparé et différencié de *R. prowazekii* (Agent du typhus épidémique) (Ogata et al., 2002). Plus récemment, les génomes de *R. rickettsii*, *R. sibirica*, *R. akari*, *R. felis* et *R. typhi* ont été rapportés (Mcleod et al., 2004), et aussi ceux de *R. bellii*, *R. massiliae*, *R. africae* et *R. slovaca* (Ronesto et al., 2005).

II.1.C. Classification et phylogénie

La taxonomie des *Rickettsiaceae* est en pleine refonte suite à l'essor des outils de biologie moléculaire et à la découverte incessante de souches, d'espèces ou de nouveaux genres (Parola et Raoult., 1998 et IFR48., 2006). Certaines entités ont été renommées ou reclassées, c'est pourquoi il nous semble important de connaître l'ancienne et la nouvelle classification.

Les différents genres et espèces des *Rickettsiaceae* ont d'abord été recensés sur des critères phénotypiques à savoir : paroi de type Gram négatif, position intracellulaire, petite taille, association à des arthropodes ; et dans leur contexte : écologique, épidémiologique, le sérotypage, leur pouvoir pathogène chez l'homme et chez l'animal (Raoult et Brouqui., 1998 ; Roux., 1999 et Raoult., 2005). Ces dix dernières années, les outils de phylogénie moléculaire largement utilisés ont complètement bouleversé cette classification phénotypique (Rikihisa., 1999 et Dumler et al., 2001). L'étude phylogénique de ces bactéries basée sur les séquences géniques, notamment celle de la fraction 16S de l'ARN ribosomal (Roux., 1999 et Raoult., 2005). D'après ces études moléculaires, les anciens genres des rickettsies sont maintenant répartis dans trois sous-groupes différents des Protéobactéries (Alpha 1, alpha 2 et gamma), ce qui révèle bien leurs fortes disparités phylogénétiques (Figure 15) (Rikihisa., 1999 et Dumler et al., 2001).

Les auteurs proposent que les « Tribus » des *Ehrlichieae* et des *Wolbachieae* soient transférées dans la famille des *Anaplasmataceae*, ne laissant que les *Rickettsieae* dans la famille des *Rickettsiaceae* ; le terme « Tribu » serait ainsi éliminé (Dumler et al., 2001).

Les *Ehrlichieae* font ainsi partie du sous-groupe alpha 1 des *Protéobactéries*, de l'ordre des *Rickettsiales* et de la famille des *Anaplasmataceae* (Rikihisa., 1991; Raoult et Brouqui., 1998 et Rikihisa., 1999). On distingue quatre groupes (Génogroupes) : genres *Ehrlichia*, *Anaplasma* et *Neorickettsia*, ainsi que *Wolbachia pipientis* (Dumler et al., 2001).

Par contre, les bactéries du genre *Rochalimaea* ont été reclassées dans le genre *Bartonella*. Ainsi, ces micro-organismes sont transférés de la famille des *Rickettsiaceae* à la famille des *Bartonellaceae*. (Brenner et al., 1993).

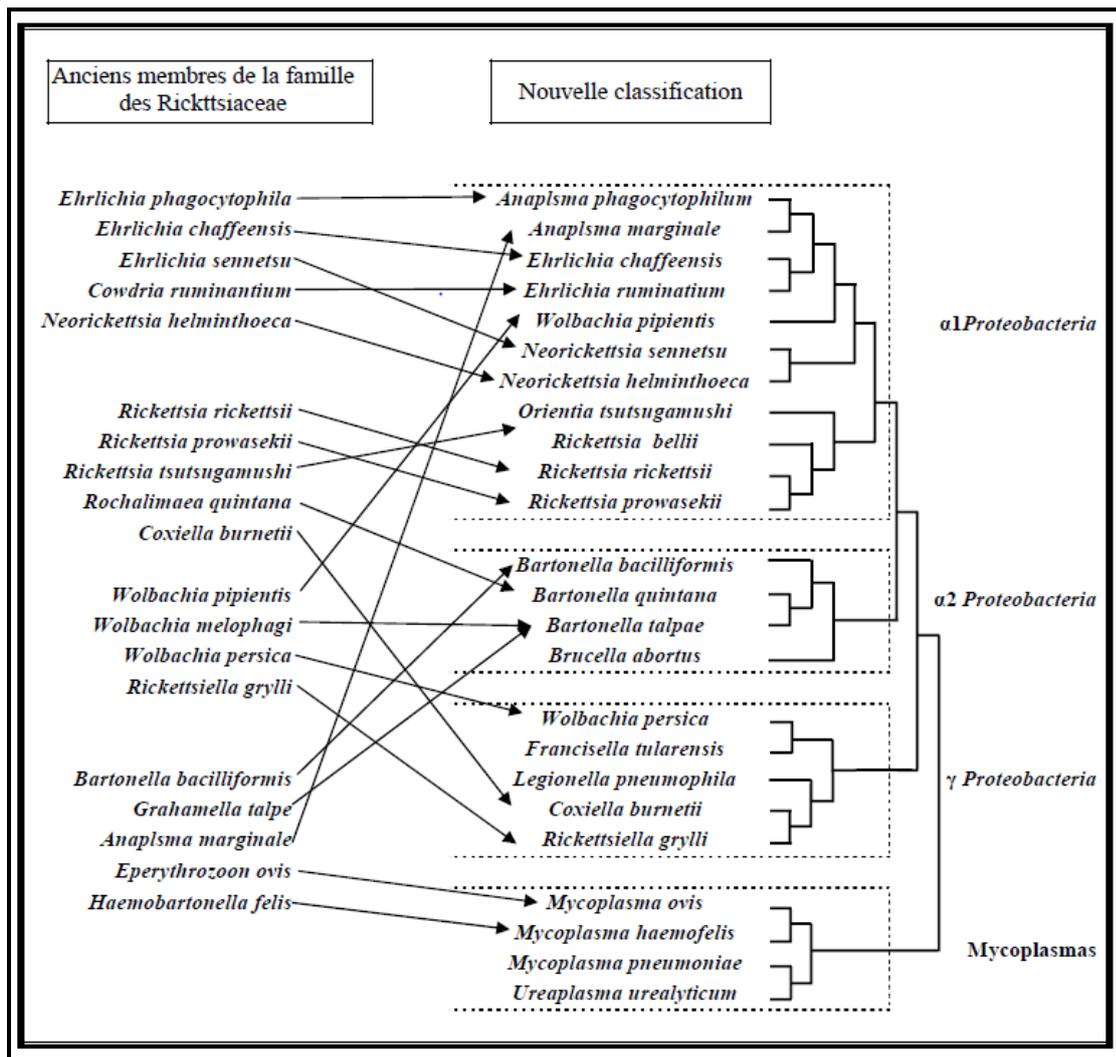


Figure 14: Anciens et nouveaux membres des *Rickettsiaceae* (Roux., 1999 et Raoult., 2005).

II.1.D. Caractéristiques

II.1.D.1. Morphologiques et bactériologiques

Les Rickettsies sont des petits bacilles (Coccobacilles) polymorphes (Elle va de l'enrubannée au sphérique) (Figure 15) Gram négatifs (0,3 à 0,5 µm de diamètre et 0,8 à 2,0 µm de longueur), que l'on peut teindre en rouge clair (La coloration du fuschine basique) par la méthode de Gimenez (Raoult et Roux., 1997). Ces bactéries ne peuvent être colorées par la coloration de Gram et on préfère les colorations de Macchiavello et Stamp (Coloration par la fuchsine 5 mn, décoloration par l'acide citrique à 0,5 % quelques secondes, recoloration par le

bleu de méthylène 30 secondes). En Microscopie électronique elle parait sans flagelle, ni de capsule et ne dispose pas de forme sporulé (IFR48., 2006)

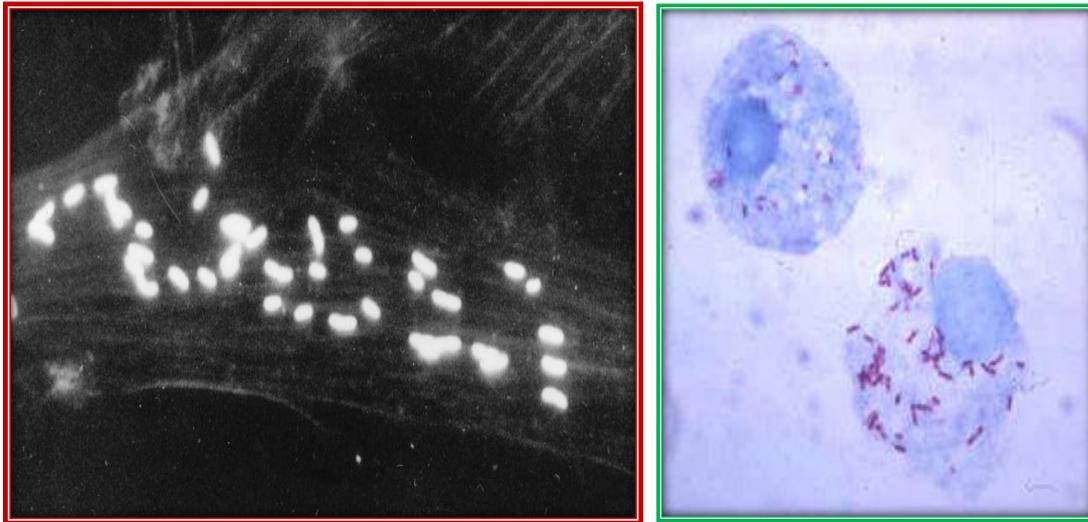


Figure 15: A gauche morphologie générale de rickettsies, A droite rickettsies en culture sur cellules L 929 (Fibroblastes de souris) (Coloration de Gimenez – grossissement 10 X 100) (Davoust et al., 2010).

II.1.D.2. Caractéristiques épidémiologiques des rickettsioses (sens stricte)

II.1.D.2.a. Epidémiologie descriptive

Puisque sont des agents de maladies vectorielles, ces bactéries ont des répartitions géographiques très calquées sur la distribution de leur vecteur, de même pour leur saisonnalité qui est étroitement liée à l'activité du vecteur (Bitam., 2010 et Raoult et Roux., 1997). Les rickettsioses ont pour la plupart des appellations qui reflètent leur répartition géographique (Tableau III; Fièvre pourprée des montagnes rocheuses (qui se manifeste à la fin du printemps et début de l'été suivant l'activité saisonnière des vecteurs (Léone., 2009), typhus Nord-asiatique ou typhus à tique de Sibérie, typhus du Queensland, fièvre boutonneuse orientale, fièvre boutonneuse du Japon, fièvre boutonneuse des îles Flinders (Maurin., 2003).

La fièvre boutonneuse méditerranéenne est endémique dans les pays du pourtour Méditerranéen, trouvée aussi en Afrique subsaharienne, en Inde et au tour de la mer noire (Raoult D et Brouqui P., 1998), une maladie estivale saisonnière qui peut survenir de mai à octobre mais principalement de juillet à septembre (Raoult et Brouqui., 1998 et Bessis., 2008). **Le tableau III** représente une récapitulation des distributions des rickettsioses à travers le monde (Davoust et al., 2010).

Tableau III : Répartition géographique de différentes rickettsioses à travers le monde

(Davoust et al., 2010).

	Espèce	Maladie	Répartition géographique
Groupe Typhi	<i>Rickettsia typhi</i>	Typhus marin	Ubiquitaire
	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Typhus épidémique	Afrique, Am Centrale, Am du Sud, Etats unis, Asie
Groupe boutonneux	<i>Rickettsia conorii conorii</i>	Fièvre boutonneuse méditerranéenne	Sud Europe, Afrique, moyen orient
	<i>Rickettsia indica</i>	Typhus marin à tique	Inde
	<i>Rickettsia israeliensis</i>	Fièvre boutonneuse d'Israël	Israël
	<i>Rickettsia caspia</i>	Fièvre boutonneuse d'Astrakan	Australie, Tchad
	<i>Rickettsia rickettsii</i>	Fièvre pourprée des montagnes rocheuses	Etats unis, am du sud
	<i>Rickettsia sibirica sibirica</i>	Typhus à tique de Sibérie	Russie, chine
	<i>Rickettsia sibirica mongolitimonae</i>	LAR	Asie, France, Afrique
	<i>Rickettsia australis</i>	Fièvre du Queensland	Australie
	<i>Rickettsia japonica</i>	Fièvre boutonneuse japonaise	Japon
	<i>Rickettsia africae</i>	Fièvre à tique africaine	Afrique, Antilles
	<i>Rickettsia honei</i>	Fièvre boutonneuse des îles Flinders	Australie, Etats unis, Thaïlande
	<i>Rickettsia slovaca</i>	TIBOLA	Europe, Afrique du nord
	<i>Rickettsia heilongjiangensis</i>		Est de l'Asie
	<i>Rickettsia aechlimannii</i>	Fièvre boutonneuse	Maroc, Afrique du sud, Espagne
	<i>Rickettsia parkeri</i>	Fièvre boutonneuse	Etats unis, am du sud
	<i>Rickettsia massiliae</i>	Fièvre boutonneuse	Europe du sud, Afrique
<i>Rickettsia helvetica</i>	Fièvre non éruptive	Thaïlande, France, Japon, Italie	
<i>Rickettsia raoultii</i>	SENLAT	Europe	
<i>Rickettsia monacensis</i>	Fièvre boutonneuse	Algérie, Tunis, Maroc, Europe, Etats unis	

	<i>Rickettsia honei</i> " <i>marmioni</i> "	Fièvre boutonneuse d'Australie	Australie
	<i>Rickettsia akari</i>	Rickettsiose vésiculeuse	Etats unis, Croatie, Ukraine, Afrique du sud
Autres	<i>Rickettsia felis</i>	Fièvre boutonneuse à puces	Ubiquitaire

II.1.D.2.b. Epidémiologie analytique

◆ Agents pathogènes:

Parmi les rickettsioses appartenant au groupe boutonneux du genre *Rickettsia*; *R. conorii* qui à été mis au point par Conor en Tunisie depuis 1910 (Raoult et Brouqui., 1998), où on a longtemps cru que cet agent de la fièvre boutonneuse méditerranéenne était le seule en Afrique hors y avait la découverte et la caractérisation en 1992 de *R. africae* (Socolovschi et al., 2008), quelques années plus tard 25 espèces sont validées dont 11 pathogènes de l'homme (*R. connerii*, *R. africae*, *R. sibirica*, *R. parkeri*, *R. slovakia*, *R. honei*, *R. rickettsii*, *R. japonicum*, *R. aechlimannii*, *R. australis*, *R. helvetica*). La fièvre pourpre des montagnes rocheuses causée par une bactérie intracellulaire ***Rickettsia rickettsii***, est l'une des maladies des rickettsioses potentiellement fatale chez l'animal en l'occurrence le chien et l'être humain aux USA. Or, la fièvre boutonneuse due à ***Rickettsia conorii***, touche les êtres humains dans le sud de l'Europe, Est central et sud de l'Afrique, et peut aussi infecter les chiens (Mumcuoglu et al., 1993) mais les signes cliniques de la maladie chez ce dernier n'ont pas été rapportés (Harrus et Bark., 1994 et Shaw et al., 2001).

◆ Agents et modes de transmission

Les rickettsioses sont des maladies vectorielles et transmissibles par des vecteurs en générales des ectoparasites arthropodes dont les vecteurs sont mentionnés dans le tableau IV (Davoust et al., 2010). Plus particulièrement et loin des spécificités les tiques semblerait les vecteurs les plus compétant par rapport aux puces et poux.

Selon Golvan (1983), des tiques ont été trouvés naturellement infectées et ont permis la transmission expérimentale. Par contre Gentilini en (1993), considère que les tiques s'infectent en piquant un animal malade, et restent infectées toute leur vie, et transmettent l'infection à leur descendance, jouant ainsi un rôle important dans la conservation de

Rickettsia conorii. L'infection de la tique peut se faire soit à partir du chien (Transmission horizontale) soit par voie trans-ovarienne (Transmission verticale).

La fièvre pourpre des montagnes rocheuses a été déclarée aux USA, en Amérique Centrale et du Sud, est transmise par des tiques, respectivement par *Dermacentor*, *Rhipicephalus* et le genre *Amblyomma* (Mumcuoglu et al., 1993). La fièvre boutonneuse de l'Afrique du sud, de Europe du sud et de l'Est Centrale, est transmise aux chiens par *Rhipicephalus sanguineus* (Weiser et Greene., 1989; Mumcuoglu et al., 1993 ; Drancourt et Raoult., 1994 ; Grindem et al., 1999 et Kordick et al., 1999).

Ainsi, dans le sud de la France et le pourtour méditerranéen, *Rickettsia conorii*, agent de la fièvre boutonneuse méditerranéenne, a été isolée sur la même espèce de tiques *Rhipicephalus sanguineus* spécifique aux chiens (Parola et Raoult., 1998).

De plus que le rôle vectoriel des tiques, elles jouent aussi un rôle important dans le maintien des rickettsioses et cela on étant réservoir ; les rickettsies sont alors transmises d'une génération à une génération de tiques et par le biais de la pique (Glandes salivaires) des hôtes assurera la transmission transtadiale (Raoult et Brouqui., 1998).

Tableau IV: Complexe pathogène-vecteur (Davoust et al., 2010).

	Espèce	Maladie	Vecteur
Groupe Typhi	<i>Rickettsia typhi</i>	Typhus marin	Puces <i>Xenopsylla cheopis</i>
	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Typhus épidémique	Poux <i>Pediculus humanis corporis</i>
	<i>Rickettsia conorii conorii</i>	Fièvre boutonneuse méditerranéenne	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
	<i>Rickettsia indica</i>	Typhus marin à tique	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
	<i>Rickettsia israeliensis</i>	Fièvre boutonneuse d'Israël	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
	<i>Rickettsia caspia</i>	Fièvre boutonneuse d'Astrakan	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
	<i>Rickettsia rickettsii</i>	Fièvre pourprée des montagnes rocheuses	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> , <i>Dermacentor</i> , <i>Amblyomma</i>
Groupe boutonneux			

	<i>Rickettsia sibirica sibirica</i>	Typhus à tique de Sibérie	<i>Dermacentor, Haemaphysalis</i>
	<i>Rickettsia sibirica mongolitimonae</i>	LAR	<i>Hyalomma</i>
	<i>Rickettsia australis</i>	Fièvre du Queensland	<i>Ixodes</i>
	<i>Rickettsia japonica</i>	Fièvre boutonneuse japonaise	<i>Ixodes, Dermacentor</i>
	<i>Rickettsia africae</i>	Fièvre à tique africaine	<i>Amblyomma</i>
	<i>Rickettsia honei</i>	Fièvre boutonneuse des îles Flinders	<i>Amblyomma, Ixodes</i>
	<i>Rickettsia slovaca</i>	TIBOLA	<i>Dermacentor</i>
	<i>Rickettsia heilongjiangensis</i>		<i>Dermacentor</i>
	<i>Rickettsia aeclimannii</i>	Fièvre boutonneuse	<i>Hylamomma, Rhipicephalus</i>
	<i>Rickettsia parkeri</i>	Fièvre boutonneuse	<i>Amblyomma</i>
	<i>Rickettsia massiliae</i>	Fièvre boutonneuse	<i>Rhipicephalus</i>
	<i>Rickettsia helvetica</i>	Fièvre non éruptive	<i>Ixodes</i>
	<i>Rickettsia raoultii</i>	SENLAT	<i>Dermacentor</i>
	<i>Rickettsia monacensis</i>	Fièvre boutonneuse	<i>Ixodes</i>
	<i>Rickettsia honei</i> " <i>marmioni</i> "	Fièvre boutonneuse d'Australie	<i>Hylamomma, Ixodes</i>
	<i>Rickettsia akari</i>	Rickettsiose vésiculeuse	Acarien
Autres	<i>Rickettsia felis</i>	Fièvre boutonneuse à puces	<i>Ctenocephalides canis, Ctenocephalides felis, xenopsylla cheopis, Archaeopsylla erinacae.</i>

◆ Pathogénie:

Les signes de la fièvre pourpre des montagnes rocheuses sont les dommages causés aux cellules endothéliales des petites artères et veinules, par l'invasion de grandes quantités des rickettsies (Parola et Raoult., 1998 et Grindem et al., 1999). Auparavant, les *Rickettsia rickettsii* ont causés des anomalies morphologiques sur les cellules endothéliales : raréfaction du cytosol, dégénérescence nucléaire (Parola et Raoult., 1998). Bien que la diminution des plaquettes soit la cause fondamentale de la thrombocytopénie dans les cas cliniques à *Rickettsia rickettsii*, les anticorps anti-plaquettes ont aussi été identifiés chez des chiens infectés (Grindem et al., 1999). D'autre part, un manque du phosphofruktokinase a été rapportée chez des chiens Springer épagneuls et les Bergers Allemands (Weiser et Greene., 1989 et Shaw et al., 2001).

II.1.E. Etude Clinique

II.1.E.1. Symptômes

Les symptômes sont généralement de l'ordre d'une atteinte cutané (Œdèmes, escarres, éruptions) avec des signes généraux et peut même atteindre le système neurologique et cela en fonction de l'agent en cause, le tableau V récapitule quelques données cliniques causées par les rickettsies.

II.1.E.2. Diagnostic

L'isolement et l'identification du germe sont difficiles, et ne se font pas en routine. C'est pour cela les données cliniques et surtout épidémiologiques (Saison, séjour en zone d'endémie, chien, profession) peuvent orienter le diagnostic d'une rickettsiose (Humaine et animale).

Mais ils Pourraient se faire avant l'éruption par l'inoculation du sang sur :

- Cultures cellulaires,
- Sac vitellin de l'œuf embryonné,
- Cobaye et souris.

La possibilité de mise en évidence des rickettsies par immunofluorescence directe d'une biopsie cutanée ou chez le vecteur aussi est une méthode de diagnostic.

— fixation du complément

— immunofluorescence-IgM plus précoce

(A faire sur 2 sérums prélevés à 10 jours d'intervalle. Se méfier des sérologies positives sur un seul sérum en zone d'endémie, qui peuvent traduire une cicatrice sérologique).

—Méthodes moléculaire par PCR.

II.1.E.3. Traitement

Le tableau V illustre les différentes molécules utilisées pour le traitement de quelques rickettsies.

Tableau V: le traitement des rickettsies (Assous et al., 1999 ; Smogyi et al., 2010; Bourée ., 2001 ; Boulouis et al, 2008 ; Flandrois et al., 1997 ; Danis et al., 2007 ; Spicer., 2000 ; Nozais., 1996 et Euzéby., 2001).

Maladie	Germe	Vecteur	Clinique	Diagnostic+	Traitement
1. Fièvre boutonneuse méditerranéenne	<i>Rickettsia conorii</i>	Morsure de tique	(Fièvre 100%), céphalée±algies diffuses Tache noire (70%) au point de morsure Eruption maculopapuleuse(97%)	Sérologie recherche des anticorps spécifiques par immunofluorescence indirecte	Azithromycine Doxycycline Ciprofloxacine
2. Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses	<i>Rickettsia rickettsii</i>	Morsure de tique	Eruption qui commence aux extrémités et s'étend vers le centre, Céphalées, Fièvre, Myalgées, Splénomégalie.	Sérologie recherche des anticorps spécifiques par immunofluorescence indirecte Biopsie de peau	Azithromycine Doxycycline Ciprofloxacine Tétracyclines
3. Typhus épidémique Maladie de Brill-Zinsser	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Poux	Fièvre à 40-41°C. Eruption maculeuse. Syndrome typhique comprenant agitation et délire, Torpeur et hébétude	Sérologie recherche des anticorps spécifiques par immunofluorescence indirecte	Azithromycine Doxycycline Ciprofloxacine Vaccin disponible pour les groupes à risque.
4. Typhus des broussailles	<i>Rickettsia tsutsugamushi</i>	Morsure d'acarien	Syndrome fébrile. Eruption, Polyadénopathie Escarre.	Sérologie recherche des anticorps spécifiques par immunofluorescence indirecte	Azithromycine Doxycycline Ciprofloxacine
5. Typhus murin	<i>Rickettsia typhi</i>	Puce du rat (<i>Xenopsylla cheopsis</i>)	Eruption qui s'étend du tronc aux extrémités	Sérologie de Weil-Félix	Tétracyclines

II.1.E.4. Prophylaxie

Il n'existe pas de vaccin. La prophylaxie la plus efficace repose sur la lutte et la protection vis-à-vis des arthropodes vecteurs (Maurin., 2003).

II. 2. *Bartonella* spp.

II.2.A. Généralités sur les Bartonella

Les Bartonella sont des bactéries appartenant au sous groupe alpha de la classe Proteobacteria (Joblet et al., 1995 ; Jensen et al., 2000 et Fournier et al., 2003) plus précisément $\alpha 2$ Proteobacteria (Roux., 1999 et Raoult., 2005), hémotropes infectant de nombreux mammifères domestiques ou sauvages, et plusieurs d'entre elles sont directement incriminées comme agents de zoonoses (Sauget., 2005) et considérée comme maladies émergente (Chang et al., 2000). On connaît actuellement 27 espèces ou sous-espèces de *Bartonella*. Les animaux domestiques et sauvages représentent un réservoir important des *Bartonella*, l'homme est un réservoir pour deux d'entre elles. L'état de réservoir se caractérise par une bactériémie au long cours, éventuellement accompagnée de récurrence(s). Le chat a longtemps été considéré comme un hôte réservoir n'exprimant pas de symptômes, mais des preuves directes et indirectes (sérologiques) indiquent que cette espèce peut aussi être affectée par *Bartonella*. Le chien est plutôt considéré comme un hôte accidentel, avec un tableau clinique se rapprochant de celui de l'homme. Les symptômes les plus courants chez ces deux espèces sont ceux d'endocardites, d'atteintes oculaires, neurologiques, articulaires ou rénales, voire cutanées, associées à des manifestations générales. Des endocardites sont aussi décrites chez les bovins. Au sein des réservoirs, la transmission se fait principalement par l'intermédiaire d'arthropodes hématophages, comme la puce du chat (*Ctenocephalides felis*), les tiques (genre *Ixodes*) ou les mouches piqueuses (*Hippoboscidae*) (Boulouis et Chomel., 1999; Dehio, 2004, Dehio et al., 2004, Maillard et al., 2005). Le diagnostic de ces infections chez les animaux réservoirs s'appuie sur l'hémoculture, la sérologie et la recherche de l'ADN (Par PCR) à partir de différents prélèvements. Puisqu'il n'existe pas de vaccins, la prévention de l'infection chez les carnivores consiste essentiellement à lutter contre les acariens grâce à des traitements adaptés. Le traitement de ces infections chez les animaux reste aléatoire et ne permet pas une éradication définitive de la bactérie.

II.2.B. Historique

Les nouvelles techniques de biologie moléculaire permettent aujourd'hui de connaître les espèces de *Bartonella* susceptibles d'être hébergées chez les arthropodes et d'être potentiellement transmises à l'Homme et à l'animal.

La première espèce de *Bartonella* spp a été décrite en 1906 par le médecin Péruvien Alberto Barton. Elle a été retrouvée dans la Cordillère des Andes en Equateur, au Pérou et en

Colombie entre 700 et 2500 mètres d'altitude. Capable de se multiplier dans les globules rouges humains, elle est à l'origine d'une anémie hémolytique aigue appelée «fièvre d'Oroya». Elle est aussi décrite dans la maladie dite « verruga peruana » et les affections qu'elle provoque sont regroupées sous le nom de maladie de Carrion. Récemment en Mai 1993, ils ont réussi à isoler sur culture un organisme bactérien à Gram négatif, appartenant au genre *Bartonella* dans le sang d'un chien atteint d'endocardite (Breitschwert et al., 1995).

Ainsi sur la base des phénotypes et génotypes (Analyses de la séquence ARN 16S), les bactéries anciennement du genre *Rochalimaea* (qui faisait partie du genre *Rickettsia*) ont été reclassées sous le genre *Bartonella* (Brenner et al., 1993).

II.2.C. Taxonomie

Le genre *Bartonella* comprend actuellement 27 espèces ou sous espèces capables d'infecter l'Homme et l'animal (Boulouis et al., 2005 ; Dehio., 2004 ; Dehio et al., 2004 et Maillard et al., 2006). Basé sur la comparaison des séquences codant pour l'ARNr 16S, le genre *Bartonella* fait désormais partie du sous groupe des Alpha-2-protéobactéries et de l'ordre des Rhizobiales (Boulouis, Chang et al., 2005; Breitschwerdt et Kordick, 2000; Delcroix et Barbazange 2003, Sauget., 2005). Elles sont biologiquement proches des *Rickettsia* et génétiquement proches des *Brucella* (Larpen, 2000; Maillard et al., 2005 ; Maillard et Trotter., 2003). Elles montrent également une évolution très proche avec *Agrobacterium* et *Rhizobium* (Boulouis, Chang et al., 2005).

Le tableau VIII présente les principales espèces de *Bartonella* spp et leurs réservoirs mammifères.

Tableau VI : Les principales espèces de *Bartonella* et leurs réservoirs mammifères

Espèce de <i>Bartonella</i>	Année de découverte	Réservoir principal
<i>B. alsatica</i>	1999	Lapin sauvage
<i>B. bacilliformis</i>	1906	Homme
<i>B. bovis</i>	2002	Bovin (<i>Bos taurus</i>)
<i>B. capreoli</i>	2002	Chevreuil (<i>Capreolus capreolus</i>)
<i>B. chomelii</i>	2004	Inconnu
<i>B. clarridgeiae</i>	1996	Chat
<i>B. doshiae</i>	repositionnement dans la classification en 1995	Campagnol agreste
<i>B. elizabethae</i>	repositionnement dans la classification en 1993	Rat
<i>B. grahamii</i>	repositionnement dans la classification en 1995	Micrommamifères sauvages
<i>B. henselae</i>	repositionnement dans la classification en 1993	Chat
<i>B. koehlerae</i>	1999	Chat
<i>B. quintana</i>	repositionnement dans la classification en 1993	Homme
<i>B. schoenbuchensis</i>	2001	Chevreuil (<i>Capreolus capreolus</i>)
<i>B. tribocorum</i>	1998	Rat
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>vinsonii</i>	repositionnement dans la classification en 1993	Campagnol
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>berkhoffii</i>	1996	Coyote
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>arupensis</i>	1999	Souris sauvage
<i>B. washoensis</i>	1999	Ecureuil fouisseur

(Boulouis, Chang et al., 2005).

Les *Bartonella* des ruminants sont très proches génétiquement : *B. chomelii* partage 98,9% d'homologie pour le gène de l'ARNr 16S avec *B. bovis*, 99,0 % avec *B. capreoli* et 99,6 % avec *B. schoenbuschensis*. Avec les autres espèces de *Bartonella*, ce pourcentage s'élève en moyenne à 97% (Maillard et al., 2004).

II.2.D. Caractéristiques

II.2.D.1. Bactériologiques et morphologiques

Les bactéries du genre *Bartonella* sont des bacilles ou coccobacilles Gram négatif, aérobie, oxydase, catalase, uréase et nitrate réductase négatives (Pour la majorité d'entre elles) et indole négative. Elles ne dépassent pas 3 µm de longueur, *B. henselae* mesure par exemple de 0,3 à 0,6 µm sur 0,3 à 1 µm (**Figure 17**). Certaines d'entre elles possèdent des caractéristiques morphologiques particulières : *B. bacilliformis*, *B. clarridgeiae*, *B. bovis* et *B. capreoli* sont

flagellées (Breitschwerdt et Kordick, 2000), alors que *B. henselae*, *B. quintana* et *B. tribocorum* possèdent des pilis (Akardjoudje et Cossart., 2003).



Figure 16: *B. henselae* sous microscope optique (Breitschwerdt et Kordick, 2000).

Ces bactéries croissent sur milieux enrichis avec du sang de mouton (de cheval ou de lapin) de type Columbia ou cœur-cerveau additionné de 5 à 10 % de sang défibriné et nécessitent une atmosphère contenant 5% de CO₂ (Boulouis., et al 2005; Maillard et al., 2005 ; Singleton., 1999 et Trottet., 2003). La coloration de Gimenez permet de visualiser les bactéries sur culture cellulaire (Delcroix et Barbazange., 2003). Les sources d'énergie sont le pyruvate, le succinate, la glutamine mais pas le glucose. L'incubation est longue et a lieu à 34-37°C. Elle dure de 5 jours à 4-6 semaines (Boulouis, et al 2005). Les colonies peuvent être polymorphes mais sont généralement petites, blanches ou grises, rugueuses et adhérentes à la gélose. Après repiquage, la croissance est généralement plus rapide mais les colonies peuvent perdre certaines de leurs caractéristiques. Les conditions de croissance requises sont parfois différentes pour certaines d'entre elles: *B. bacilliformis* a une température optimale de croissance comprise entre 25 et 28°C alors que *B. clarridgeiae* se cultive sur gélose au sang de mouton ou sur gélose chocolat (Akardjoudje et Cossart., 2003 et Delcroix et Barbazange., 2003). Les *Bartonella* présentent peu de caractéristiques biochimiques à l'exception de la production d'aminopeptidases et sont inertes vis-à-vis des galeries de diagnostic usuelles (Boulouis et al., 2005, Breitschwerdt et Kordick., 2000; Maillard et al., 2005, Maillard, Trottet, 2003).

Bartonella bovis est un cocco-bacille à Gram négatif, d'environ 1,3 µm de diamètre, dépourvu de flagelle, aérobie, oxydase et catalase négatives. Les souches décrites sous l'appellation "*Bartonella weissii*" sont actuellement incluses dans l'espèce *Bartonella bovis* (Euzéby., 2004).

Bartonella capreoli est un coccobacille à Gram négatif, d'environ 0,8 µm de diamètre sur 1,6 µm de longueur, présentant de multiples flagelles polaires, aérobic, elle est oxydase et catalase négatives (Euzéby, 2004). Au microscope électronique, *Bartonella chomelii* se présente comme des bacilles droits ou en forme de S, de 1,2 µm de longueur sur 0,5 µm de diamètre et présentant des flagelles aux deux pôles de la cellule. Comme les autres bartonelles, *Bartonella chomelii* est aérobic, catalase négative et oxydase négative.

Dix espèces sont pathogènes pour l'Homme : *B. bacilliformis*, *B. quintana* (ces deux espèces sont spécifiques de l'Homme (Boulouis, Maillard et al., 2005), *B. henselae* (responsable de la maladie des griffes du chat), *B. elizabethae*, *B. grahamii*, *B. vinsonii subsp. berkhoffii*, *B. vinsonii subsp. arupensis*, *B. washoensis*, *B. clarridgeiae* et *B. koehlerae* (Boulouis, Chang et al., 2005; Boulouis et Chomel., 1999; Kelly et al., 2005; Maillard et al., 2006 et Saugé, 2005).

II.2.D.2. Caractéristiques épidémiologiques

Les bartonelloses des mammifères présentent deux caractéristiques : une bactériémie au long cours chez le réservoir principal (Beugnet et al., 2006), et la transmission ou la dissémination par un vecteur arthropode. Certaines espèces de *Bartonella* sont à l'origine de zoonoses dont la plus connue est la maladie des griffes du chat, affection décrite par Debré en 1950 (Boulouis, Chang et al., 2005, Dehio., 2004).

II.2.D.2.a. Epidémiologie descriptive

L'infection des bovins par des bactéries du genre *Bartonella* est connue depuis les années trente du siècle dernier. Des *Bartonella* ont été retrouvées dans du sang de bovins en différents endroits du globe : tout d'abord en Algérie en 1934, en Palestine la même année, l'année suivante en Espagne.

En 1947, des chercheurs mettent en relation des symptômes observés sur des bovins au Rwanda (amaigrissement, soif intense, constipation) avec des *Bartonella* isolées sur frottis sanguins. Depuis, d'autres bactéries ont été retrouvées sur des bovins, aux Etats-Unis par exemple, ou en Asie (Akardjoudje et Cossart., 2003 ; Delcroix et Barbazange, 2003 et Trottet., 2003). *B. bovis* a été mise en évidence sur des bovins de Côte d'Ivoire pour la première fois par Kelly et ses collègues en 2005.

Les ruminants domestiques et sauvages (Elan, cerf) sont aussi infectés par la bactérie. (Akardjoudje et Cossart., 2003 ; Chang et al., 2000; Halos et al., 2004 et Maillard et Vayssier-Taussat et al., 2004) Maillard, Riegel et al. en 2004, ont montré la haute prévalence de *B.*

bovis chez des bovins ne présentant aucun symptôme, ceci qui suggère fortement que les bovins sont des réservoirs naturels pour cette bactérie (Maillard, Riegel et al., 2004), certaines espèces de tiques hébergent

Bartonella. En Europe, il s'agit d'*Ixodes ricinus* (Breitschwerdt et Kordick, 2000 et Sauget, 2005).

VI.2.D.2.b. Epidémiologie analytique

◆ **Réservoirs**

Les bovins constituent un réservoir important. Une étude menée par Maillard R et al., en 2006, a essayé de mettre en corrélation l'âge, la parité et l'intensité de l'infection à *Bartonella* sur un troupeau de vaches françaises (d'une semaine à plus de 9 ans), et ce, sur plusieurs mois. En ce qui concerne les prélèvements, 236 des 400 vaches testées, soit 59%, ont fourni un résultat positif pour la culture de *Bartonella*. Parmi ces bactéries, ils n'ont identifié que *B. bovis* (Maillard et al., 2006).

92,5 % des animaux compris dans la tranche d'âge 1-2 ans étaient bactériémiques. La bactériémie décroît avec l'âge : seulement 29,2 % des vaches de plus de 6 ans sont infectées. Les auteurs rapportent que le niveau de bactériémie dépend de l'âge (Il est maximal entre 1 et 2 ans), du statut reproducteur ainsi que du stade de gestation. En effet, il est particulièrement élevé chez les jeunes génisses (Tranche d'âge de 1 à 2 ans) et les femelles gestantes (69,6 % contre 54,5 % pour les non gestantes). C'est la seule étude révélant cet état de fait chez des animaux naturellement infectés (Maillard et al., 2006).

Par ailleurs, des études menées sur des cervidés sauvages (chevreuil en France et cervidés nord américains) ont montré que plus de 90 % des animaux étaient bactériémiques pour *B. schoenbuchensis* (Boulouis et Maillard et al., 2005).

Les souches décrites sous l'appellation « *Bartonella weissii* », et actuellement incluses dans l'espèce *Bartonella bovis*, ont été isolées chez quelques chats ne présentant aucun signe clinique. Compte tenu de sa fréquence chez les bovins et de sa relative rareté chez le chat, il est vraisemblable que la transmission de *Bartonella bovis* au chat soit un phénomène accidentel (Euzeby., 2004).

La faible prévalence de *Bartonella chomelii* chez les bovins suggère que ces animaux sont des hôtes accidentels et le réservoir de ce germe n'est pas connu (Euzeby., 2004).

Le mouton ne semble pas héberger de bartonelles malgré que *Melophagus ovinus* contienne de l'ADN de *Bartonella* (Halos et al., 2004). Il en est de même pour le porc et le cheval (Maillard et al., 2005) Le tableau IX présente les bartonelles, leurs réservoirs et leurs vecteurs

Tableau VII : Principales espèces de *Bartonella*, réservoir principal, hôte accidentel et vecteurs

[Boulouis, Chang et al., 2005, Boulouis, Maillard et al., 2005, Chang et al., 2000, Dehio et al., 2004, Kelly et al., 2005, Halos et al., 2004, Maillard et al., 2005]

Espèce de <i>Bartonella</i>	Réservoir principal	Hôte accidentel	Vecteur
<i>B. alsatica</i>	Lapin sauvage		Inconnu
<i>B. bacilliformis</i>	Homme		<i>Lutzomia verrucarum</i> , <i>Pediculus humanus corporis</i>
<i>B. bovis</i>	Bovins (<i>Bos taurus</i>)		Tiques et poux, <i>Lipoptena cervi</i> , <i>Hippobosca equina</i>
<i>B. capreoli</i>	Chevreuril (<i>Capreolus capreolus</i>)		Tiques et poux, <i>Lipoptena cervi</i> , <i>Hippobosca equina</i>
<i>B. chomelii</i>	Inconnu		Tiques et poux, <i>Lipoptena cervi</i> , <i>Hippobosca equina</i> (?)
<i>B. clarridgeiae</i>	Chat	Chien, Homme	<i>Ctenocephalides felis</i>
<i>B. doshiae</i>	Campagnol agreste		Inconnu
<i>B. elizabethae</i>	Rat	Chat, chien, Homme	<i>Xenopsylla cheopis</i>
<i>B. grahamii</i>	Micromammifères sauvages	Chat, chien, Homme	Puces
<i>B. henselae</i>	Chat (lynx, puma, lion, guépard)	Chien, Homme	<i>Ctenocephalides felis</i>
<i>B. koehlerae</i>	Chat	Chien, Homme	<i>Ctenocephalides felis</i>
<i>B. quintana</i>	Homme		<i>Pediculus humanus corporis</i>
<i>B. schoenbuchensis</i>	Chevreuril (<i>Capreolus capreolus</i>)	Homme	Tiques et autres arthropodes
<i>B. tribocorum</i>	Rat		Inconnu
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>vinsonii</i>	Campagnol		<i>Trombicula</i>
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>berkhoffii</i>	Coyote, chien	Chien, Homme	Inconnu
<i>B. vinsonii</i> subsp. <i>arupensis</i>	Souris sauvage		Inconnu
<i>B. washoensis</i>	Ecureuil fouisseur	Chat, chien, Homme	Inconnu
<i>B. weissii</i>	Ruminants (?) (<i>Bos taurus</i> , orignal, cerf)	Chat	Inconnu

◆ Mode de transmission

Les tiques (*Ixodes ricinus*) (Breitschwerdt et Kordick., 2000 et Sauget, 2005), les Hippoboscidés (*Lipoptena cervi*, *Hippobosca equina*, *Melophagus ovinus* (Halos et al., 2004) sont des candidats potentiels dans la transmission de la bactérie aux ruminants. Cependant, la transmission de *Bartonella* par les tiques n'a jamais été démontrée malgré de nombreuses études épidémiologiques et cliniques réalisées. La transmission transplacentaire a été constatée chez des souris infectées naturellement ou expérimentalement (Beugnet et al., 2006 et Delcroix et Barbazange., 2003), mais jamais chez les bovins, ni chez le chat (Boulouis et

Chomel., 1999). L'absence de bactériémie chez les veaux de moins de 8 mois, malgré le manque d'anticorps maternels chez certains veaux (19% dans cette étude), paraît infirmer cette hypothèse (Maillard et al., 2006).

Les changements hormonaux induits par la gestation semblent jouer un rôle important dans la bactériémie à *Bartonella*. Ceci a été avancé en comparant les niveaux de bactériémie de souris mâles et femelles. De plus, le placenta, lors de gestation avancée, pourrait être le site d'une intense multiplication de *Bartonella*, comme cela a déjà été constaté pour les α 2 protéobactéries comme *Brucella*. Les deux derniers trimestres de gestation semblent essentiels pour la relation *Bartonella*/vache gravide. Il n'y a pas de différence de bactériémie entre la vache non gestante et celle dans son premier trimestre de gestation, alors que le niveau de bactériémie est plus élevé pendant le second et le troisième trimestre. L'expulsion placentaire est plus facile pour les animaux bactériémiques (Maillard et al., 2006). La transmission transplacentaire semble possible mais en raison des différents types de placentation selon les espèces considérées (diffuse (Equidés), cotylédonaire (Ruminants), zonaire (Carnivores), discoïdale (Rongeurs, Homme)), elle semble limitée (Breitschwerdt et Kordick., 2000).

◆ Pathogénie

Le point commun entre les *Bartonella* est leur hémotropisme chez les mammifères réservoirs. Il serait déterminé par leur besoin en fer. Elles sont dotées d'un pouvoir d'invasion des cellules endothéliales (Dehio., 2004 et Maillard et al., 2005) et semblent être capables de coloniser d'autres types cellulaires : certaines cellules épithéliales pour *B. bacilliformis*, des cellules cardiaques pour *B. quintana* (Trottet., 2003).

Dans cette partie, étant donné les lacunes concernant la pathogénie des *Bartonella* des ruminants, nous avons fait une synthèse des données disponibles sur les bactéries les mieux documentées (*B. tribocorum*, *B. henselae*, *B. bacilliformis* et *B. quintana*) que nous pensons transposables, au moins en partie, pour la majorité des espèces de ce genre bactérien.

Le parasitisme érythrocytaire des *Bartonella* a été étudié grâce à plusieurs modèles animaux mais a été compris le plus précisément pour *B. tribocorum* chez le rat.

Les lésions observées sont de l'ordre de :

✓ Vasoprolifération

Les *Bartonella* (*B. bacilliformis*, *B. quitana* et *B. henselae*) sont les seules bactéries connues pour leur capacité à provoquer des lésions de vasoprolifération (Dehio, 2004) grâce à leur pouvoir d'invasion des cellules endothéliales, et causer à la fois leur prolifération et leur migration (Boulouis, Chang et al., 2005, Maillard et al., 2005). Il s'agit d'un procédé

d'angiogénèse pathologique résultant de la prolifération et la migration des cellules endothéliales suivies par leur organisation en de nouveaux capillaires (Dehio., 2004). Ces lésions de vaso-prolifération sont constituées de cellules endothéliales, des bactéries et d'infiltrats mixtes de macrophages, de monocytes et de polynucléaires neutrophiles (PNN). Les *Bartonella* se regroupent en agrégats autour et dans les cellules endothéliales, ceci indiquant que l'endothélium vasculaire représente un tissu cible pour la colonisation intra et extracellulaire, *in vitro*. Le traitement antibiotique provoque l'amendement de l'infection et induit une régression complète des lésions vasculaires. Ceci implique donc que la présence des bactéries est indispensable au développement et au maintien de ces lésions. Ces découvertes suggèrent que les *Bartonella* envahissent et colonisent l'endothélium vasculaire et produisent un facteur mitogène qui a une action locale et temporaire (Dehio., 2004).

✓ **Inflammation**

L'infiltration mixte de macrophages, de monocytes et de PNN retrouvée dans les lésions vasoprolifératives indique une inflammation chronique. Généralement, une réaction inflammatoire aiguë induit une cascade de médiateurs qui active l'endothélium, provoquant ainsi le relargage de molécules chimiotactiques pro-inflammatoires et l'activation d'interactions récepteurs-ligands entre l'endothélium activé et les PNN circulants (Dehio., 2004).

✓ **Autres facteurs du pouvoir pathogène**

Déformine de *B. bacilliformis* interagit avec les érythrocytes humains par la formation de profonds trous et tranchées dans la membrane érythrocytaire qui sont de véritables portes d'entrée pour l'invasion bactérienne. Ce phénomène paraît être déclenché par un facteur bactérien nommé « déformine ». La déformine est en fait une molécule hydrophobe de 1,4 kDa ayant une forte affinité pour l'albumine. (Dehio., 2004). Des analyses biochimiques et immunologiques ont identifié le GroEL comme un candidat pour son activité mitogène (Dehio., 2004). De nombreuses protéines de la membrane externe (Omps) de *B. henselae* sont susceptibles de se lier aux cellules endothéliales, particulièrement une protéine de 43 kDa (Omp43), mais ceci reste à démontrer (Dehio., 2004).

II.2.E. Etude Clinique

II.2.E.1. Symptômes

Généralement, *Bartonella* ne provoque pas de symptôme chez les hôtes réservoirs (Dehio., 2004). Or le chat, espèce réservoir pour *B. henselae*, peut, dans de rares cas, présenter des symptômes. Qu'on est-il des bovins ? Jusqu'à présent, aucune preuve ne permet de conclure mais Maillard et ses collaborateurs, en 2006, suspectent que la bartonellose des bovins a un impact sur la reproduction (avortements, mortalité embryonnaire).

Pour les espèces infectées naturellement, en particulier les micromammifères et les ruminants, aucune manifestation clinique n'est rapportée (Boulouis, Maillard et al., 2005).

Néanmoins, des troubles de la reproduction ont été décrits chez des souris infectées expérimentalement, et une association significative entre infection et troubles de la reproduction semble exister chez les bovins (Boulouis et Maillard et al., 2005).

Des endocardites à *B. bovis* sont également suspectées chez les bovins (Beugnet et al., 2006).

Chez le chat, aucun signe clinique majeur n'a été signalé dans les infections naturelles à *Bartonella* (Beugnet et al., 2006). Seule une uvéite a été récemment associée à la présence de *Bartonella* et différentes associations statistiques entre la présence d'anticorps contre *B. henselae* et des stomatites, des infections urinaires ou des gingivites et des lymphadénopathies ont été rapportées (Boulouis et Chang et al., 2005 et Dehio., 2004). En revanche, des infections expérimentales ont mis en évidence un épisode fébrile ainsi qu'une léthargie et une anorexie, une adénopathie et/ou un dysfonctionnement neurologique, une lésion au point d'injection ou des troubles de la reproduction (problème de fertilité, mort-nés) (Boulouis, Maillard et al., 2005, Maillard et al., 2005).

D'autres essais n'induisent qu'une bactériémie au long cours (Boulouis, Chang et al., 2005, Boulouis et Chomel, 1999). En effet, la bactériémie naturelle peut durer plus d'un an (Beugnet et al., 2006), tout en ne provoquant aucun symptôme (Dehio., 2004).

II.2.E.2. Diagnostic

Peu de recherches sont entreprises car les bovins ne présentent pas de symptôme ou ils ne sont pas identifiés.

Etant donné que le ruminant n'est à priori pas malade, aucun diagnostic différentiel n'est à envisager. Toutefois, chez la vache, la bactériémie à *B. bovis* a été corrélée à des troubles de la reproduction (Mortalités embryonnaires, avortements dans le dernier tiers de la gestation) (Maillard et al., 2006) On peut donc penser à la fièvre Q, la leptospirose, la chlamydie, l'actinomyose, la brucellose, la salmonellose, l'épérythrozoose (Ou mycoplasme) la toxoplasmose, la néosporose.

Alors le diagnostic de laboratoire repose sur différentes méthodes de détection :

✓ **Culture bactérienne**

Elle est possible pour *B. bovis* à partir du sang (Maillard et al., 2005).

La culture bactérienne est possible à partir de biopsie de peau ou ponction de noeud lymphatique ou du pus. Chez l'animal, la culture est la méthode la plus sensible mais elle est incompatible avec l'urgence thérapeutique (Maillard et al., 2005).

✓ **Sérologie**

L'immunofluorescence est probablement la méthode la plus simple pour différencier les *Bartonella* (Figure 18). C'est la méthode la plus employée et la mieux documentée (Beugnet et al., 2006).

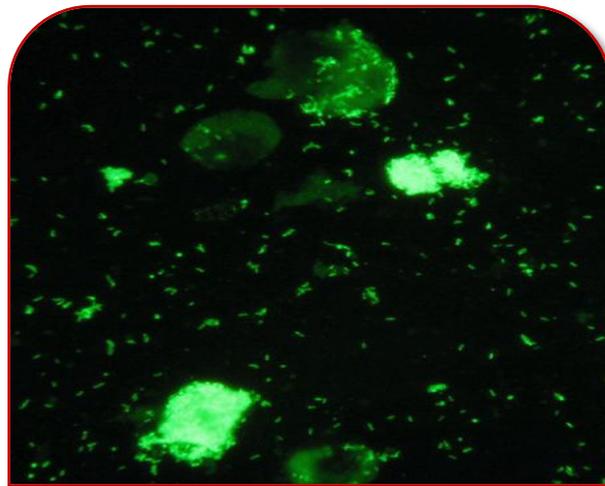


Figure 17 : Immunofluorescence indirecte pour le diagnostic de l'infection à *Bartonella* (Boulouis, Maillard et al., 2005).

Il faut cependant noter les limites des techniques sérologiques. En effet, il ne semble pas y avoir de corrélation vraiment étroite entre la bactériémie, son intensité et les titres en sérologiques aussi bien chez le chat que chez les rongeurs, les bovins ou les chevreuils. La sérologie de groupe pourrait toutefois s'avérer un indicateur du statut sanitaire d'un élevage (Boulouis et Chomel., 1999).

✓ **PCR**

La PCR de différents gènes a permis de simplifier l'identification. Le premier gène utilisé a été celui de l'ARNr 16S et 23S, ce qui a induit le rapprochement des genres *Bartonella*, *Grahamella* et *Rochalimaea*. Depuis peu, l'identification des différentes *Bartonella* est possible par amplification de la région intergénique d'ARNr 16S-23S (ITS pour intergenic spacer), ou par amplification de certains gènes codant pour des protéines tels que *gltA*, *groEL*, *ribC*, *rpoB*, *ftsZ* et l'antigène 17 kDa (Boulouis, Chang et al., 2005) Ces techniques sont peu employées en médecine vétérinaire. (Boulouis et Maillard et al., 2005).

✓ Examen nécropsique

Il n'existe pas de diagnostic nécropsique, aucune lésion macroscopique n'est décelable, sauf une induration et un érythème au point d'inoculation dans certaines infections expérimentales (Delcroix et Barbazange., 2003).

II.2.E.3. Traitement

Pour l'Homme, une antibiothérapie est nécessaire, uniquement dans les formes graves ou atypiques. Erythromycine, rifampicine, azithromycine, clarithromycine ou doxycycline sont les antibiotiques envisageables et doivent être administrés pendant au moins plusieurs semaines, aucun traitement n'est mis en œuvre pour les ruminants (Beugnet et al., 2006; Boulouis et Chang et al., 2005 et Boulouis et Chomel, 1999).

Le traitement des bartonelloses félines est le seul pour lequel des données sont disponibles. L'utilisation de cyclines, d'érythromycine ou d'enrofloxacin aboutit à des résultats inconstants (Beugnet et al., 2006) soit le traitement n'a aucun effet sur la bactériémie, soit il induit une diminution de l'intensité de la bactériémie mais ne modifie ni sa durée, ni les éventuelles récurrences constatées par l'expérience, ou lors d'infection naturelle (Boulouis, Maillard et al., 2005) Chez le chien, aucune étude n'a prouvé l'efficacité du traitement antibiotique. L'azithromycine, du fait de sa pénétration intracellulaire, ainsi que la doxycycline et l'enrofloxacin apparaissent être des antibiotiques de choix (Beugnet et al., 2006, Boulouis, Maillard et al., 2005).

II.2.E.4. Moyens de lutte

Comme les vecteurs ne sont pas identifiés avec certitude, les moyens de lutte sont illusoire. Le contrôle des réservoirs pourrait s'appuyer sur l'utilisation de vaccins. Cependant, la diversité des espèces et des types de *Bartonella* rendent pour le moment cette approche non envisageable (Boulouis, Chang et al., 2005 et Boulouis et Chomel., 1999).

Les animaux constituent le principal réservoir de *Bartonella* et sont donc le point central de l'épidémiologie de cette maladie.

II – PARTIE EXPÉRIMENTALE

PARTIE 1 : ÉPIDÉMIOLOGIE DES MALADIES VECTORIELLES

Etude 1 : Détection de *Bartonella tamiae*, *Coxiella burnetii* et rickettsies chez des arthropodes et tissus provenant d'animaux sauvages et domestiques dans le nord est de l'Algérie.

Introduction:

Depuis le début du 20^{ème} siècle, les tiques (acariens), les puces (Siphonaptera) et autres arthropodes hématophages ont été impliqués comme vecteurs, réservoirs et/ou des amplificateurs d'agents de zoonoses humaines (Parola et al., 2005b). Les tiques sont une de ces arthropodes hématophages parasites obligatoire de toutes les classes de vertébrés dans presque toutes les régions du monde (Parola et Raoult., 2001). Elles sont considérées comme le second vecteur (après les moustiques) responsables de maladies humaines et les plus importants vecteurs d'agents pathogènes qui causent des maladies chez les animaux (Mediannikov et Fenollar., 2014). Les tiques peuvent transmettre un large éventail d'agents pathogènes, notamment les virus, les protozoaires et les bactéries (Baneth., 2014). De même, les puces sont également capables de transmettre plusieurs agents de maladies infectieuses (Bitam et al., 2010a). La transmission de ces agents zoonotiques à l'homme se fait principalement par leurs morsures ou inoculation de leurs excréments infectés dans les lésions de morsure prurigineuses (Eisen et Gage., 2012; Parola et al., 2005a.).

Les rickettsioses, bartonelloses et la fièvre Q sont des maladies à transmission vectorielle causées par des bactéries; ces maladies ont une distribution géographique étendue et peuvent être très sévères. *Rickettsia* spp., L'agent étiologique de rickettsiose, est une bactérie à Gram négatif intracellulaires qui représentent une menace mondiale émergente (Parola et Raoult., 2006). *R. felis*, un agent pathogène émergent, et *R. typhi*, l'agent du typhus murin (MT), sont les principaux agents pathogènes rickettsies associés aux puces (Bitam et al., 2010b),

appartenant au groupe de la fièvre pourprée (SFG) (Merhej et al., 2009) et le groupe de typhus, respectivement (Nogueras et al., 2013). Cependant la plupart des rickettsioses appartenant à la SFG sont transmises par les tiques (Bitam., 2012) qui sont largement distribués en Afrique du Nord (Mouffok et al., 2009; Parola et al., 2013). En Algérie, 11 espèces de rickettsies ont été détectées chez les tiques, les puces, les poux ou des cas humains, dont *R. subsp. conorii conorii*, *R. aeschlimannii*, *R. sibirica mongolitimonae*, *R. massiliae*, *R. slovaca*, *R. massiliae*, *R. africae*, *R. monacensis*, *R. felis*, *R. typhi* et *R. prowazekii* (Kernif et al., 2012).

De même, les bartonelloses sont des maladies causées par les bactéries fastidieuses, hémotropes du genre *Bartonella* (Chomel et al., 2009). qui parasitent les érythrocytes ou des cellules épithéliales à travers une gamme d'hôtes de mammifères, y compris les humains, les rongeurs et les chiroptères (Chomel et Kasten., 2010; Mogollon-Pasapera et al., 2009) (Harms et Dehio., 2012). En Algérie, *B. vinsonii subsp. berkhoffii*, *B. clarridgeiae*, et *B. elizabethae* ont été détectés pour infecter les chiens domestiques (Kernif et al., 2010, Azzag., 2015). *B. henselae* a été isolée de chats errants (Azzag et al., 2012). *B. rochalimae* a été détectée dans des puces recueillies sur des rats (*Rattus norvegicus*) (Bitam et al., 2012) Aussi, *Coxiella burnetii*, l'agent responsable de la fièvre Q, est une bactérie intracellulaire zoonotique hautement infectieuse qui peut affecter différentes espèces de mammifères sauvages et domestiques, comme elle peut aussi infecter les arthropodes et les oiseaux (Maurin et Raoult., 1999). En Algérie quelques cas humains sur la fièvre Q ont été signalés notamment à Oran ou un patient a été détecté sérologiquement positif (Angelakis et., 2014). Le but de cette enquête était d'évaluer la présence de bactéries zoonotiques émergentes dans des ectoparasites et tissus échantillonnés à partir d'animaux domestique et sauvages présents dans le nord est de l'Algérie.

Matériels et méthodes :

Sites d'Etude :

La première partie de l'étude a été menée en mai 2012 à EL Ghora (Bougous, El Tarf) (36 ° 39 '34 "N 8 ° 22' 10" E) à l'extrême Nord-est de l'Algérie. EL Ghora est une zone bioclimatique humide. Ce site est le plus élevé de la zone d'étude qui correspond à des "forêts" de 1200 mètres d'altitude. La seconde partie de ce travail a été effectuée en Juillet 2013, à Cheabat El Balout (Ouled Driss, Souk Ahras) Nord-est de l'Algérie, près d'El Tarf, (36 ° 22 '01.30 "N 08 ° 07' 27.48" E). Ce site d'étude est une zone montagneuse de 1000 m au dessus du niveau de la mer, ce qui représente une extension de l'Atlas Telli. Il a un climat semi-humide caractérisé par un été chaud et un hiver froid et humide avec une pluviométrie moyenne de 800 mm par an.

Collecte d'échantillons

L'enquête à El Ghora (Bougous, El Tarf) a été menée sur les animaux domestiques (bovins ovins, caprins et chiens). Les ectoparasites ont été recueillis avec l'accord des propriétaires des animaux. Tous les arthropodes ont été collectés à l'aide de pinces émoussées et immédiatement placés dans 70% d'éthanol à l'intérieur de tubes étiquetés avec un numéro d'identification.

L'échantillonnage sur le terrain à Cheabat El Balout (Ouled Driss, Souk Ahras), a été réalisé sur des animaux sauvages [deux sangliers (*Sus scrofa de Algira*), deux chacals (*Canis aureus*) une mangouste (*Echinomon Herpestis*), dix chauves-souris (*Chiroptera spp*), un porc-épic (*Hystrix cristata*) et quatre hérissons (*Atelerix algirus*)]. Leurs ectoparasites et tissus (rates) ont été collectés. Les hérissons ont été capturés à l'aide de projecteurs lors de promenades nocturnes à proximité d'un abattoir avicole. Chaque hérisson a été pesé, sexué et identifié

selon les clés de (Kowalski K, Rzebik-Kowalska B. Mammifères de l'Algérie Wrocław, Pologne: Ossolineum Publishing House; 1991.). Les hérissons ont été anesthésiés en utilisant la kétamine et libérés dans son habitat naturel, après la collecte de leurs ectoparasites. L'étude sur les hérissons a été autorisée par le comité d'éthique locale et la législation nationale (le journal officiel n ° 47 Du 19 juillet 2006, <http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details>). Les deux sangliers, deux chacals, une mangouste et le porc-épic ont été trouvés fraîchement morts suite à des accidents de la route et ont également été inspecté pour collecte d'ectoparasites, leurs rates ont été échantillonnées à l'aide de scalpels adaptés et stockés dans un tube contenant de l'éthanol à 70%. Finalement en utilisant des filets de chasse, nous avons capturé 10 chauves-souris. Les filets utilisés sont identiques à ceux utilisés par les ornithologues pour capturer les oiseaux. Ils sont tendus entre deux pôles, et placés dans le passage des chauves-souris, à l'entrée de la grotte. Les chauves-souris ont été récupérées le lendemain, et étaient morts. Une fois détaché des filets, nous avons effectué la recherche d'ectoparasites et l'échantillonnage des rates. Tous les matériaux biologiques collectés des deux sites d'étude ont été acheminé par la suite au Centre collaborateur de l'OMS pour les rickettsioses et d'autres maladies bactériennes arthropodes à Marseille, en France, pour l'identification morphologique et moléculaire des ectoparasites au niveau du genre et espèce en utilisant des critères morphologiques et clés taxonomiques normalisées ainsi identification moléculaire ciblant le 12S (seulement les tiques des chauves-souris étaient moléculairement identifiées) l'analyse moléculaire également des ectoparasites et tissus échantillons ont été faites pour détecter *Rickettsia* spp, *Bartonella* spp, *Coxiella burnetii* et *Borrelia* spp.

Extraction d'ADN

Avant extraction d'ADN, les échantillons d'El Ghora ont été sélectionnés en fonction d'une bonne représentation des espèces et d'hôte car le nombre final était important, ainsi tous les

échantillons recueillis à Cheabat El Balout ont été utilisés pour l'extraction d'ADN. Les ectoparasites et les rates ont été rincés deux fois avec l'eau distillée pendant 10 minutes et séchés sur papier filtre stérile. Les ectoparasites et les rates ont été broyés individuellement dans des tubes Eppendorf stériles. Un total de 200 µl d'ADN a été extrait de la moitié de chaque ectoparasite et une partie de chaque rate à l'aide du kit QIAamp Tissue (Qiagen, Hilden, Allemagne) par QIAGEN EZ1-BioRobot, en suivant les instructions du fabricant. L'ADN génomique a été stocké à -80 ° C dans des conditions stériles jusqu'à utilisation en plaque de PCR en temps réel.

Détection de *Bartonella* spp :

Les d'ADN d'échantillons extraits ont été testés par PCR en temps réel en ciblant les ITS (Varagnol et al., 2009) spécifique à *Bartonella* spp. Le mélange final de réaction de qPCR est composé de (5 µl) d'ADN extrait avec (15 µl) de mélange contenant (10 µL) de master mix à partir du Kit QuantiTect Probe PCR (Qiagen, Hilden, Allemagne), (0,5 µL, 20 pmol) de chaque amorce, (0,5 µl, 62,5 nmol) de la sonde et de (3,5 µl) de l'eau RNase DNase-free. L'amplification et la détection de séquence d'ITS ont été réalisées dans le système de temps réel CFX96Tm C1000Tm tactile thermocycleur (Bio-Rad, Singapour) avec le programme suivant: 15 min à 95 ° C suivie par 40 cycles de 1 s à 95 ° C, 40 s à 60 ° C, et 40 à 45 ° C (Socolovschi et al., 2012b). Le contrôle négatif utilisé consiste à l'ADN extrait de tique non infectée d'une colonie d'élevage de notre laboratoire et utilisé dans tous les PCR liés à ces travaux. Le contrôle positif utilisé était l'ADN extrait d'une dilution de souche cultivée de *B. elizabethae*. Les résultats étaient considérés comme positifs si le seuil de cycle (Ct) valeur obtenue par CFX96Tm était inférieure à 36. Les échantillons positifs avec qPCR étaient ensuite confirmés par PCR standard réalisée avec des amorces spécifiques de *Bartonella* (Urb1 et Urb2) de la région inter-génique entre le 16S et 23S. Le succès de l'amplification

PCR a été vérifiée par migration sur gel d'agarose 2%, puis purifié en utilisant la plaque NucleoFast 96 PCR (Machery-Nagel EURL, France, tel que recommandé par le fabricant. Les produits de PCR purifiés ont été séquence en utilisant les amorces Urb1 et Urb2 et l'utilisation de BigDye version 1.1 cycle de mélange séquençage de réaction (Applied Biosystems, Foster City, CA). Les données ont été recueillies avec un séquenceur capillaire ABI Prism Analyzer 3130xl génétique (ABI PRISM, PE Applied Biosystems, USA). Les séquences ont été éditées et assemblés en utilisant le logiciel Chromas Pro 1,34 (Technelysium Pty. Ltd., Tewantin, Australie).

Détection de *Rickettsia* spp

L'ADN de *Rickettsia* spp a été détecté par PCR en temps réel en ciblant un fragment de 25-pb du gène Citrate synthase de *Rickettsia* spp (Socolovschi et al., 2012). Nous avons utilisé un témoin positif de *R. montanensis* pour s'assurer du bon fonctionnement de la manipulation en cas de négativité. Tous les échantillons positifs par qPCR ont été par la suite séquencés comme détaillé pour le séquençage de *Bartonella* spp.

Détection de *Borrelia* spp

L'ADN de *Borrelia* spp a été détecté par PCR en temps réel en ciblant un fragment de 16S ARNr. Le témoin positif utilisé consiste à l'ADN de *Borrelia crocidurae*.

Résultats

Collecte d'échantillons

En ce qui concerne l'étude menée sur les animaux domestiques à El Ghora, un totale de 1549 tiques ont été recueillies, composées de 8 espèces. 565 tiques ont été échantillonnés sur 123 bovins; *Rhipicephalus sanguineus* (316/565), *R. bursa* (50/565), *Hyalomma detritum*

detritum (94/565) et *H. anatolicum excavatum* (105/565). 529 tiques appartenant à cinq espèces; *R. sanguineus* (454/529), *R. bursa* (72/529), *Hyalomma lusitanicum* (1/529), *H. detritum detritum* (1/529) et *Ixodes ricinus* (1/529) ont été recueillies sur 250 moutons. Quatre espèces; *R. sanguineus* (104/130), *R. bursa* (19/130), *H. lusitanicum* (3/130) et *H. marginatum marginatum* (4/130) ont été collectées sur 125 chèvres, aussi 325 tiques ont été échantillonnées sur 50 chiens et appartenant à deux espèces; *R. sanguineus* (323/325) et *I. hexagonus* (2/325). À propos de l'enquête sur les animaux sauvages et de leurs ectoparasites à Chebat El Balout, 77 tiques, 136 puces, 11 Nycteribiidae et 16 rates ont été échantillonnées. Sur les deux sangliers, nous avons échantillonné deux rates et 13 tiques [*R. sanguineus* (9/13), *Dermacentor marginatus* (3/13) et *Haemaphysalis punctata* (1/13)], en outre, la rate, deux *R. sanguineus* et trois *I. ricinus* (2 adultes et 1 nymphe) ont été recueillies auprès d'une mangouste. La collection des ectoparasites et les rates ont été effectuées aussi sur un porc-épic et deux chacals où nous avons identifié 21 puces *Parodontis riggenbachi* sur le porc-épic et 23 *R. sanguineus* sur les deux chacals. En utilisant les filets Nous avons piégé dix chauves-souris qui ont été examinés: nous avons identifié *I. vespertilionis* (19) (8 larves et 11 adultes), des puces femelles *Ischopsyllus intermedius* (3), Nycteribiidae (11). Enfin nous avons capturé quatre hérissons où nous avons identifié 112 puces [*Archaeopsylla ericnacei* (110/112) et 2/112) de *Ctenocephalides felis*] et 19 tiques [*R. sanguineus* (10/19) et *I. hexagonus* (9/19)].

Détection de *Bartonella* spp

A El Ghora, sur les 1549 tiques collectées sur les mammifères domestiques, 191 tiques ont été commodément sélectionnés et ont été testées par PCR pour l'ensemble des agents pathogènes recherchés dans ce travail (tableau).

Toutes les 191 tiques ont été testées avec qPCR en ciblant l'ITS2 de *Bartonella* spp, et se sont révélés négatifs. Cependant 26 échantillons prélevés sur les chauves-souris de Souk Ahras ont

été positifs ; (12/19) *I. vespertilionis*, (8/11) *Nycteribiidae* et 6/10 rates. Nous avons analysé et séquencé les produits de PCR sur les échantillons représentatifs positifs (avec des valeurs élevées de Ct, Ct <30), les résultats ont montré que toutes les *Bartonella* spp détectée dans ectoparasites et la rate de chauves-souris sont très similaires à *Bartonella tamiae* (100% de similarité avec la souche *Bartonella tamiae* Th339 16S-23S ribosomal RNA intergénique, séquence partielle, GenBank pas EF605284.1, 451/451 pb).

Détection de *Rickettsia* spp.

L'utilisation du système RKND03 de *Rickettsia* spp, sur les 191 tiques d'El Ghora, a révélé que 15,18% (29/191) de tiques étaient positifs à *Rickettsia* spp par qPCR et composées de quatre espèces de tiques notamment dans 51,72% (15/29) de *R. sanguineus*, 6,89% (2/29) de *R. bursa*, 20,68% (6/29) de *Hy. de. detritum* et 20,68% (6/29) de *Hy. an. excavatum*. A propos des (15/29) des *R. sanguineus*; (3/15) ont été collectées sur les bovins, (11/15) ont été échantillonnées sur des ovins et (1/20) ont été collectées sur les chiens. 6,89% (2/29) de *R. bursa* ont été toutes collectées sur des bovins, également 20,68% (6/29) de *Hy. de. detritum* ont été collectées sur les bovins et enfin les 20,68% (6/29) *Hy. an. excavatum* ont été échantillonnées sur les caprins. L'analyse de séquence d'ADN des produits de PCR ciblant le OmpA sur les rickettsies détectées sur les *R. sanguineus* et *R. bursa* a montré 100% de similarité avec *Rickettsia massiliae*. En outre le séquençage du fragment du gène OmpA de la rickettsie détectée sur les *Hyalomma* a montré 99% de similarité avec *Rickettsia souche aeschlimannii* EgyRickHimp-El-Arish-17 protéine de membrane externe A (OmpA) gène, cds partielles (adhésion GenBank pas. de HQ335158.1, 632/633 pb).

A Chebat El Balout, le système RKND03 de qPCR a été utilisé sur les 77 tiques, 136 puces, 11 *Nycteribiidae* et 16 rates échantillonnées sur les animaux sauvages. Dans l'ensemble nous avons détecté l'ADN de *Rickettsia* spp en trois tiques de sangliers (2 *D. marginatus* et une

Ha. Punctata) et dans 80 puces *A. erinacei* et *Ct. felis* des hérissons. L'analyse de séquence d'ADN des produits de PCR ciblant l'OmpA sur les deux *D. marginatus* et la *Ha. punctata* a montré 99% de similarité avec *Rickettsia slovacica* souche WB2 / Dm Pavullo membrane externe de la protéine A (ompA) gène, cds partielles GenBank accession no. HM161787.1, 618/633 pb). A propos des 80 *A. erinacei* des hérissons qui étaient positifs à *Rickettsia* spp en utilisant le système RKND03, deux qPCR ciblant la biotine synthase (bioB) et les gènes de la phosphatase membranaire de felis R. (Leulmi et al., 2014) ont été réalisés et tous les 80 puces étaient positifs à *R. felis*.

Détection de *Coxiella burnetii*.

A El Ghora, les 191 tiques ont été testées par qPCR ciblant le IS1111 de *C. burnetii*, et étaient négatifs, cependant à Cheabat el Balout, Souk Ahras, nous avons détecté l'ADN de *C. burnetii* chez 3 *I. vespertilionis* de chauves-souris. Nous avons obtenu le même résultat en utilisant un autre système de qPCR ciblant l'Is30a.

Détection de *Borrelia* spp.

Tous les échantillons testés étaient négatifs à *Borrelia* spp en utilisant le système 16S de *Borrelia* spp.

Tableau 1 : résumé des resultats obtenus

Ectoparasites	Localisation	Animal (N)	No. des ectoparasites collectés (m = male, f = femelle)	No. des ectoparasites testés avec qPCR (m = male, f = femelle)	<i>Rickettsia</i> spp	<i>Bartonella</i> spp	<i>Coxiella burnetii</i>	<i>Borrelia</i> spp
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	El Ghora, El Tarf.	Bovin (123)	316 (104m, 212f)	20 (10m, 10f)	3/20 (1m, 2f) <i>R. massiliae</i>	-	-	-
		Ovins (250)	454 (217m, 237f)	20 (10m, 10f)	11/20 (9m, 2f) <i>R. massiliae</i>	-	-	-
		Caprins (128)	104 (55m, 49f)	20 (10m, 10f)	-	-	-	-
		chiens (50)	323 (222m, 101f)	20 (10m, 10f)	1/20 (1m) <i>R. massiliae</i>	-	-	-
	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Sanglier (2)	9 (5m, 4f)	9 (5m, 4f)	8/9 (5m, 3f) <i>R. massiliae</i>	-	-	-
		Mangouste (1)	2 (1m, 1f)	2 (1m, 1f)	2/2 (1m, 1f) <i>R. massiliae</i>	-	-	-
		chacals	23 (15m, 8f)	23(15m, 8f)	13/23(8m,	-	-	-

		(2)			5f) <i>R. massiliae</i>			
		hérissons (4)	10 (2m, 8f)	10(2m, 8f)	-	-	-	-
<i>Rhipicephalus bursa</i>	El Ghora, El Tarf.	Bovins (123)	50 (39m, 11f)	20 (10m, 10f)	2/20 (2f) <i>R. massiliae</i>	-	-	-
		Ovins (250)	72 (37m, 35f)	20 (10m, 10f)	-	-	-	-
		Caprins (128)	19 (19m)	19 (19m)	-	-	-	-
<i>Hyalomma lusitanicum</i>	El Ghora, El Tarf.	Ovins (250)	1 (1m)	1 (1m)	-	-	-	-
		Caprins (128)	3 (2m, 1f)	3 (2m, 1f)	-	-	-	-
<i>Hyalomma detritum detritum</i>	El Ghora, El Tarf.	Bovins (123)	94 (41m, 53f)	20 (10m, 10f)	6/20 (2m, 4f) <i>R. aeschlimanni</i>	-	-	-
		Ovins (250)	1 (1f)	1 (1f)	-	-	-	-
<i>Hyalomma anaticum excavatum</i>	El Ghora, El Tarf.	Bovins (123)	105 (54m, 51f)	20 (10m, 10f)	6/20 (4m, 2f) <i>R. aeschlimanni</i>	-	-	-
<i>Hyalomma marginatum marginatum</i>	El Ghora, El Tarf.	Caprins (128)	4 (4f)	4 (4f)	-	-	-	-
<i>Ixodes ricinus</i>	El Ghora, El Tarf.	Ovins (250)	1 (1m)	1 (1m)	-	-	-	-
	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Mangouste (1)	1 (1m)	1 (1m)	-	-	-	-
<i>Ixodes hexagonus</i>	El Ghora, El Tarf.	Chiens (50)	2 (2f)	2 (2f)	-	-	-	-
	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Hérissons (4)	9 (1m, 8f)	9 (1m, 8f)	-	-	-	-
<i>Dermacentor marginatus</i>	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Sangliers (2)	3 (3f)	3 (3f)	2/3 (2f) <i>R. slovacica</i>	-	-	-
<i>Haemaphysalis punctata</i>	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Sangliers (2)	1 (1f)	1 (1f)	1/1 (1f) <i>R. slovacica</i>	-	-	-
<i>Ixodes vespertilionis</i>	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Hérissons (10)	19 (2f, 17 nymphs)	19 (2f, 17 nymphs)	-	12/19 (1f, 11 nymphes) <i>B. tamiiae</i>	3/19 (2f, 1 nymphe)	-
<i>Ichnopsyllus intermedius</i>	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Chauves souris (10)	3 (3f)	3 (3f)	-	-	-	-
<i>Ctencephalides felis</i>	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Hérissons (4)	2 (2f)	2 (2f)	2/2 (2f) <i>R. felis</i>	-	-	-
<i>Pariodontis riggenbachi</i>	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Porc-épic (1)	21 (3m, 18f)	21 (3m, 18f)	-	-	-	-
<i>Nycteribiidae</i>	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Chauves souris (10)	11	11	-	8/11 <i>B. tamiiae</i>	-	-
<i>Archaeopsylla erinacei</i>	Cheabat El Balout, Souk Ahras	Hérissons (4)	110 (39m, 71f)	110 (39m, 71f)	80/110 (19m, 61f) <i>R. felis</i>	-	-	-

Discussions :

Cette enquête rapporte la première détection de *B. tamiiae* chez les *I. vespertilionis*, *Nycteribiidae* et les rates de chauves-souris en Algérie. L'association *R. slovacica* et *H. punctata* de sanglier et aussi *R. massiliae* et *R. bursa* de bovin étaient signalées pour la première fois en Algérie dans ce travail. Autres rickettsiae ont été détectées et confirmées dans

cette étude comme précédemment détectée en Algérie, à savoir *R. massiliae*, *R. sanguineus*, *R. aeschlimanni* dans *Hyalomma spp* tiques et *R. felis* chez les puces *A. erinacei*. En utilisant les outils moléculaires *C. burnetii* l'agent de la fièvre Q a également été détecté chez les tiques *I. vespertilionis* de chauve-souris. Dans cette étude, la détection de pathogènes dans les tiques, les puces et les rates des animaux sauvages et domestiques de l'Algérie ont été faites en utilisant des méthodes validées constituées de deux systèmes de qPCR et/ou séquençage. La robustesse des données que nous présentons ici est basée sur des procédures et des contrôles stricts de laboratoire, y compris les contrôles positifs et négatifs rigoureuses pour valider chaque test.

À propos de la détection de *B. tamiae* dans les ectoparasites et la rate de chauves-souris, il faut savoir que les chauves-souris sont les deuxièmes espèces de mammifères après rongeurs qui sont connus d'être réservoir de *Bartonella spp* (Concannon et al., 2005). Les recherches sur ces mammifères ont confirmé la présence de ces agents pathogènes dans les chauves-souris (chiroptères) au Guatemala (Concannon et al., 2005), Kenya (Kosoy et al., 2010) et le Royaume-Uni (Bai et al., 2011). La *B. tamiae* détectée dans ce travail dans la rate, les tiques et *Nycterbiidae* était très semblable à *B. tamiae* détectée par (Kosoy M et al., 2008) à partir de trois patients humains en Thaïlande.

A propos de la détection moléculaire de *C. burnetii* chez *I. vespertilionis* de chauve-souris, cet agent de la fièvre Q est associé à des nombreuses manifestations aiguës et chroniques (Kazar., 2005; Maurin et Raoult., 1999). La fièvre Q est généralement une maladie fébrile aiguë avec des signes cliniques non spécifiques chez l'homme, mais l'hépatite et la pneumonie atypique sont vus dans les cas graves, et une faible proportion de personnes infectées développent une infection chronique par endocardite valvulaire mortelle (Kazar., 2005; Maurin et Raoult., 1999). La fièvre Q a été décrite dans le monde entier où leurs foyers impliqués les moutons,

les chèvres, les chats, les chiens et les animaux sauvages, tandis que les réservoirs sont nombreux, mais seulement partiellement connus et comprennent les mammifères, les oiseaux et les arthropodes, principalement ticks (Angelakis et Raoult., 2010). En ce qui concerne la preuve moléculaire de *R. slovaca* chez les tiques de sangliers, principalement dans *Ha. punctata* et *D. marginatus*, cet agent pathogène de la SFG, a été isolé de *D. marginatus* tiques dans l'ancienne Tchécoslovaquie (Parola., 2005). La détection de *R. slovaca* chez les *Ha. punctata* peut être due à une co-alimentation avec une *D. marginatus* sur le même hôte. *R. slovaca* est associée à un syndrome caractérisé par des escarres du cuir chevelu, et le terme «SENLAT" a été proposée pour cette entité clinique (Parola., 2013). La description clinique de l'infection de *R. slovaca* comprend l'asthénie (70%); maux de tête (53%); adénopathies (69 à 100%); une escarre douloureuse du cuir chevelu entouré d'un halo érythémateux péri-lésionnelle (64%); et parfois une légère fièvre (36-54%), éruption cutanée (5%) et œdème de la face (Parola., 2009). Nos résultats confirment la présence de *R. massiliae* chez les tiques en Algérie. *R. massiliae* a été détectée avant sur *R. turanicus* (Bitam et al., 2006). Ces rickettsies du SFG ont été isolées pour la première sur des *R. sanguineus* recueilli près de Marseille, en France, en 1992, puis détectée dans d'autres espèces, y compris *R. bursa* dans les pays européens (Parola et al., 2013).

Nos résultats confirment également la présence de *R. aeschlimanni* sur *Hy.ana. excavatum* et *Hy. de. detritum* des bovins comme a été détectée déjà sur les tiques (*Hy. dromedarii*, *Hy. mar. rufipes*) de chameaux (Djerbouh et al 2012) et les tiques de tortues (*Hy. aegyptium*) en Algérie (Bitam et al., 2009). *R. aeschlimannii* est un agent pathogène émergent qui a été associé aux tiques, en particulier *Hy. mar. marginatum* et *Hy. mar. rufipes*, en Europe méridionale et en Afrique (Parola et al., 2005). Enfin, nous avons détecté l'ADN de *R. felis* sur des *A. erinacei* et *Ct. felis* d'hérissons comme étaient décrit chez des puces d'hérissons de

M'sila et Bordj-Bou-Argeridj, Algérie (Khaldi et al 2012). *R. felis* est un agent émergent des maladies infectieuses chez l'homme, et cet agent de fièvre est connu pour être maintenu chez les puces de chat (*Ct. felis*) (La Scola et al., 2002; Parola, 2011). À ce jour, 12 espèces de puces, huit espèces de tiques et trois espèces d'acariens ont été trouvés à être infectées par *R. felis* (Parola, 2011). Cet rickettsiae a récemment été détecté chez plusieurs espèces de moustiques en Afrique sub-saharienne (Keita et al, 2013;. Mediannikov et al, 2013;. Socolovschi et al, 2012b.). Les caractéristiques cliniques peuvent inclure la fièvre, fatigue, maux de tête, éruption maculo-papuleuse généralisée (Parola., 2011).

En conclusion, nous avons élargi les connaissances du répertoire des bactéries transmises par les tiques et de puces d'animaux domestiques et sauvages en Algérie. Dans notre étude, nous illustrons également le rôle des tiques et les puces dans l'enquête entomologique des maladies transmises par les ectoparasites, qui permettent aux cliniciens de comprendre une partie des fièvres inconnues chez les patients. Autres études sur les rickettsioses, bartonelloses et d'autres maladies transmises par des vecteurs doivent être effectuées afin d'évaluer leur pertinence clinique et épidémiologique en Algérie, pour estimer aussi la prévalence réelle et de permettre la mise en place de plans de contrôle anti-vectorielle.

Etude 2 : Première détection de *Borrelia garinii* et confirmation de la présence de *Rickettsia monacensis* dans des tiques *Ixodes ricinus* collectées à El Tarf, Algérie.

Introduction :

La Borréliose de Lyme, ou maladie de Lyme (LB), due à *Borrelia* spp., est une Bactérie transmise par les tiques du genre *Ixodes* et connue pour se produire dans les régions du Nord, en Europe, Amérique et Asie. LB est causée par un groupe de spirochètes (*Borrelia burgdorferi sensu lato*) ou de (Lyme *Borrelia*) (Stanek et al 2012). *Borrelia burgdorferi sensu lato* est divisé en au moins 11 espèces génomiques différentes, y compris les agents pathogènes humains de *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii* (Stanek et al., 2012) Récemment *Borrelia valaisiana*, *Borrelia spielmanii* et *bissettii* *Borrelia* ont été associés à la maladie de Lyme (Schutzer et al., 2012). En Afrique du Nord, *Ixodes ricinus* le principal vecteur de LB en Europe, est présent (Bouattour et al., 2004) et observé tout au long des zones humides et les plus fraîches, habituellement à la plus haute altitude des montagnes de l'Atlas (Estrada-Pena et al., 2004). Quelques études basées sur les caractéristiques cliniques et sérologiques, ont soupçonné la présence de LB en Afrique du Nord (Bouattour et al., 2004). Un total de 21 patients ont été serodiagnostiqués LB à Alger (Algérie) entre 1996 et 1999 (Alem et Hadji., 1999). En outre, deux cas de paralysie faciale de LB chez des patients marocains et 29 cas ont été signalés comme LB en Tunisie (Younsi et al., 2001, Aoun et al 1998). Toutefois, ces cas ont été rapportés par la détection d'anticorps sériques (ELISA), et sans confirmation par la technique de Western Blot. *Borrelia* spp., ont été détectés dans des *Ixodes ricinus* recueillies en Tunisie et en Maroc (Bouattour et al., 2004, Sarih et al., 2003). *B. lusitaniae* a été jugée prédominante (environ 97% en Tunisie et 93% au Maroc) (Bouattour et al., 2004, Sarih et al., 2003). *B. garinii* et *B. burgdorferi sensu stricto* étaient également présentes mais très rares. En Tunisie, 1/16 des

Ixodes ricinus ont été trouvés positifs à *B. garinii* (Bouattour et al., 2004, Younsi et al., 2001). Au Maroc, 3/82 d'*Ixodes ricinus* ont été infectés par *B. burgdorferi sensu stricto* et 3/82 ont été infectés par *B. garinii* (Sarih et al., 2003). Cependant, dans ces études, l'identification de Borrelia a été réalisée en utilisant l'étude de la longueur des fragments de restriction polymorphisme du produit d'amplification (PCR RFLP). En Egypte, les tiques dures et molles collectées dans des fermes à travers le gouvernorat de Gizeh ont été testées par PCR et séquençage, et sur lesquelles étaient identifiées *B. burgdorferi sensu lato* dans 66% (330/500) des tiques (Adham et al., 2010).

R. monacensis est un agent d'une rickettsiose émergente qui avait été détectée en Algérie en 2009 (Dib et al., 2009). En 2005, en utilisant des outils moléculaires et de la culture, *R. monacensis* a été identifiée et isolée comme agent pathogène humain chez les patients, en Espagne et en Italie (Parola et al., 2013). Selon la description des premiers cas, la maladie se caractérise par des symptômes pseudo-grippaux, la fièvre et une escarre d'inoculation, en outre, une éruption cutanée généralisée (Parola et al., 2013).

Matériels et méthodes

L'étude a été menée en premier lieu à Seraidi (36 ° 55 ', 00"N - 7 ° 40', 00"E), Annaba (Nord-est de l'Algérie). Ce site est le plus élevé de la zone d'étude et correspond aux zones montagneuses. Ces forêts sont composées de couche d'arbre de chêne Zeen (*Quercus canariensis*) et surtout de chêne-liège (*Quercus suber*). Sur ces hauteurs du Massif est Seraidi un village forestier situé à 850 m au dessus du niveau de la mer. L'étude a été menée simultanément aussi à EL Ghora (Bougous, El Tarf) (36 ° 39 '34 "N 8 ° 22' 10" E).

Collecte des ectoparasites :

La collection des ectoparasites a été effectuée une fois en mois de Mars, Avril et Septembre 2012. Les tiques ont été recueillies avec la méthode du drapeau et en utilisant un aspirateur modifié. Les ectoparasites qui étaient collectés, étaient identifiés par genre et par espèce en utilisant les clés morphologiques de Estrada - Peña et al., 2004.

Extraction d'ADN :

Une fois les arthropodes détachés du drapeau et/ou du collecteur de l'aspirateur et identifiés ils étaient mis dans des tubes individuels étiquetés. Par la suite au niveau du laboratoire de référence de l'unité de recherche sur les maladies infectieuses tropicales et émergentes à Marseille, France, que nous avons procédé à l'extraction des ces arthropodes. Les tiques collectées ont été rincées deux fois dans de l'eau distillée pendant 10 minutes, le traitement a été effectué dans une hotte de biosécurité à flux laminaire. Chaque tique a été écrasée individuellement dans des tubes Eppendorf stériles. Un total de 200 µl d'ADN a été extrait de la moitié de chaque tique à l'aide du kit QIAamp Tissue (Qiagen, Hilden, Allemagne) sur la machine QIAGEN EZ1-BioRobot, en suivant les instructions du fabricant. L'ADN génomique a été stocké à -20 ° C dans des conditions stériles jusqu'à utilisation dans les plaques de PCR. La partie restante de chaque tique a été maintenue à -80 ° pour une éventuelle confirmation et contrôle de résultats.

Détection de *Rickettsia* spp

L'ADN de *Rickettsia* spp a été détecté par PCR en temps réel en ciblant un fragment de 25-pb du gène Citrate synthase de *Rickettsia* spp (Socolovschi et al., 2012). Nous avons utilisé un témoin positif de *R. montanensis* pour s'assurer du bon fonctionnement de la manipulation en cas de négativité. Tous les échantillons positifs par qPCR ont été par la suite séquencés en

faisant une PCR Standard ciblant les gènes OmpA et CS. Le succès de l'amplification par PCR standard a été vérifiée par migration sur gel d'agarose de 2%, puis une purification du produit a été faite sur des plaque de NucleoFast 96 PCR (Machery-Nagel EURL, France, tel que recommandé par le fabricant. Les produits de PCR purifiés ont été séquencés avec les amorces OmpA et Cs et le BigDye version 1.1 cycle sequencing ready reaction mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) dans le séquenceur ABI 31 000 automated sequencer (Applied Biosystems). Les séquences par la suite ont été récupérées et assemblées-analysées avec le programme ChromasPro (version 1.5). Le blast a été effectué sur le GenBank blast de NCBI.

Détection de *Borrelia* spp

L'ADN de *Borrelia* spp a été détecté par PCR en temps réel en ciblant un fragment de 16S ARNr. Le témoin positif utilisé consiste à l'ADN de *Borrelia crocidurae*. Tous les échantillons positifs ont été séquencés de la même méthode utilisé pour le séquençage de *Rickettsia* spp et cela en utilisant les amorces de 16S et flab spécifique pour le séquençage de *Borrelia* spp.

Résultats

Collecte des ectoparasites

Un total de 174 tiques ont été recueillies et appartenant à trois espèces: 45,97% (80/174) étaient *Ornithodoros erraticus* et recueillies à Seraidi, Annaba et 45,97% (80/174) *Ixodes ricinus* ainsi que 6,89% (12/174) *Rhipicephalus sanguineus* collectées à El Ghora, Bougous.

Détection de bactéries

Par qPCR, juste les *Ixodes ricinus* d'El Ghora étaient positive à *Borrelia* spp et *Rickettsia* spp, par contre les tiques molles (*O. erraticus*) étaient toutes négatives. Sur l'ensemble des tiques

testées par qPCR, 2% (4/80) d'*Ixodes ricinus* avaient l'AND de *Borrelia* spp et 8.75% (7/80) d'*Ixodes ricinus* étaient positives à *Rickettsia* spp par qPCR. En utilisant la PCR standard ciblant le 16S et le Fla B; *Borrelia garinii* était identifiée dans 2% (4/80) avec 100% similarité avec *Borrelia garinii* BgVir isolée d'une tique *I. persulcatus*, numéro d'accension (CP003151.1) dans GenBank. En utilisant la PCR standard ciblant l'OmpA de *Rickettsia* spp nous identifions *Rickettsia monacensis* dans 8.75% (7/80) avec 100% numéro d'accension (FJ919640.1) dans GenBank.

Conclusion et discussion

Nous avons définitivement confirmé ici la présence d'un agent de LB, *B. garinii* en Algérie, en le détectant dans des *Ixodes ricinus* par l'utilisation des méthodes moléculaires valides telle que la PCR en temps réel et les séquençages. Nous confirmons également la détection de *R. monacensis* dans les *Ixodes ricinus* dans l'extrême Est de l'Algérie. *B. garinii* est la plus neurotrope des genres *B. burgdorferi sensu lato* qui causent LB, y compris des cas de méningo-polyneuritis et rarement, encéphalomyélite (Stanek et al 2012). Avec la démonstration de la prévalence de cet agent en Algérie, les cliniciens doivent être conscients. Le diagnostic clinique de la maladie est facile à l'étape de l'érythème migrant; il devient plus difficile au cours des étapes ultérieures. En outre, la confirmation définitive du diagnostic aurait besoin de l'utilisation de Western Blot en plus de l'ELISA. Les résultats suggèrent que les outils moléculaires détectent *B. garinii* chez les tiques et donc fournissent une meilleure compréhension de son épidémiologie. D'autres études sont nécessaires pour clarifier l'épidémiologie de l'agent de LB en Algérie et en Afrique du Nord. *R. monacensis* est un agent d'une rickettsiose émergente qui a été détecté en Algérie en 2009 (Dib et al., 2009). En 2005, en utilisant des outils moléculaires et de la culture, *R. monacensis* a été identifié et isolé comme agent pathogène humain chez les patients en

Espagne et en Italie (Parola et al., 2013). Selon la description des premiers cas, la maladie se caractérise par des symptômes pseudo-grippaux, la fièvre et l'inoculation d'escarre, en outre, une éruption cutanée généralisée (Parola et al., 2013). En Afrique du Nord, les zones à risque pour l'infection par *B. garinii* et *R. monacensis* comprendront les zones fraîches et humides du pays qui sont associés avec les montagnes de l'Atlas. Là, où *Ixodes ricinus* est en contact avec les humains, et peut jouer un rôle considérable dans la transmission de *B. garinii* et *R. monacensis*.

**PARTIE 2 : COMPETENCES VECTORIELLES DES PUCES ET PUNAISES
DE LIT DANS LA TRANSMISSION DE BARTONELLA QUINTANA.**

Etude 3: Evaluation de la compétence vectorielle de *Ctenocephalides felis* dans la transmission de *Bartonella quintana*.

Introduction

Bartonella quintana est un bacille Gram négatif considéré comme agent pathogène ré-émergent et responsable de diverses maladies humaines : fièvre des tranchées, angiomatose bacillaire chez les sidéens, endocardite, lymphadénopathie chronique et bactériémie chronique (*Bartonella quintana*) collectées dans diverses régions de France en 2003 et dans les puces de l'homme (*Pulex irritans*) collectées auprès d'un singe (*Cercopithecus cephus*) au Gabon en 2005 (Rolain, Bourry, Davoust, & Raoult., 2005; Rolain, Franc, Davoust, & Raoult., 2003). Ces résultats confirment que *B. quintana* peut être trouvé dans les puces. Cela pourrait expliquer 2 rapports cliniques sur des adénopathies chroniques attribuables à des infections à *B. quintana* et dont le seul facteur de risque épidémiologique identifié était la présence de puces (Drancourt et al., 1996; Raoul, Drancour, Carta & Gastaut., 1994). Notre objectif était d'évaluer la relation qui peut exister entre les puces et *B. quintana* via un protocole d'infection comprenant la mise en place d'un élevage et l'infection des puces (*C. felis*) par *Bartonella quintana*.

Matériels et méthodes

Elevage des puces

Depuis 2010, les puces de chat (*C. felis felis*, de souche Bristol) ont été maintenu par notre équipe au laboratoire des rickettsioses de la Faculté de Médecine de Marseille, France. Les puces adultes ont été nourries in vitro en utilisant le sang humain citraté via une membrane artificielle en Parafilm M (Sigma-Aldrich, Saint- Louis, Missouri, USA). Les larves de puces ont été aussi maintenues à 80% d'humidité dans des récipients avec 40 g de sable, 3 g de sang séché et lyophilisé pulvérisation, 20 g de nourriture de rat et 2 g de levure (Kernif et al 2015). Pour ce modèle expérimentale, Les puces et leurs excréments ont été testés négatives pour la présence de *B. quintana* en utilisant la PCR en temps réel (qPCR). Pour éviter la contamination, la machine d'élevage tel que décrite par Wade et Georgi (1988) a été introduite dans une boîte à gants en acrylique transparent, Numéro de référence '830 ABD / EXP / SP' (Fisher, scientifique, USA) et cela pour élever les puces infectées dans un confinement adapté.

La souche Bartonella quintana

Toutes les expérimentations impliquant *B. quintana* (souche Oklahoma, ATCC 49793) ont été effectuées sous enceinte sécurisée dans un laboratoire de biosécurité de niveau 2 (Faculté de Médecine de Marseille). Cette souche de *B. quintana* a été cultivée en utilisant des milieux sélectifs, sur gélose au sang de mouton (5%, BioMérieux, France) à 37°C en atmosphère enrichie par 5% de CO₂, comme décrit précédemment (Rolain, Arnoux, Parzy, Sampol & Raoult., 2003). Entre 8 et 12 jours après culture, les bactéries ont été récoltées par addition de 400 µl de tampon phosphate salin, pH 7,2 (PBS, BioMérieux); ensuite cet isolat a été dilué en cascade de 10 à 10⁶ fois, puis 200 µl de la suspension bactérienne pure et de chaque dilution ont été mélangés avec 2 ml de sang total (un sang non thérapeutique obtenu de

l'Etablissement Français du Sang). De plus, nous avons mis en culture, sur gélose au sang, 10µl des différentes dilutions que nous avons ensuite analysé par deux gènes *fabF3* (3-oxoacyl-[acyl-carrier-protéine]) et *yopP* (intracellulaire hypothétique effecteur) en qPCR (Angelakis, Rolain, Raoult et Brouqui., 2011) afin d'estimer le nombre initial d'unités formant les colonies CFU par microlitre et pour déterminer la dernière dilution infectante des puces.

Infection des puces et la stratégie d'échantillonnage

Deux essais expérimentaux distinct ont été effectués en utilisant des puces tirées à partir de la même colonie et avec le même âge. Nous avons formé 6 groupes pour chaque essai (y compris un groupe contrôle et 5 lots infectés) qui se composait de 80 puces, dans chaque groupe avec environ 25 males et 55 femelles. La concentration de *B. quintana* en suspension dans le pure était de $1,8 \times 10^6$ bactéries du groupe 1 (G1) et 4.2×10^7 bactéries dans le groupe 1' (G1') par uL de PBS dans les essais 1 et 2, respectivement, et ces suspensions bactériennes ont été diluées en cascade jusqu'au 10^{-4} .

Chaque groupe de puces (de G1 à G5 du premier essai et de G1' à G5' de l'essai 2) ont été alimentés pendant 4 jours avec du sang infecté contenant 2 mL de sang et 200 uL de la suspension bactérienne aux différentes dilutions (3.6×10^4 , 8.4×10^9 bactéries). Les groupes témoins ont été nourris avec 2 ml de sang non infecté contenant 200 uL de PBS. Par la suite, tous les groupes ont été nourris avec le sange non infecté dès le début du troisième jour après l'infection (dpi). Au troisième dpi, 10 puces vivantes et environ 50 mg de fèces de chaque groupe ont été récupérés pour être analysés par qPCR et la mise en culture pour déterminer l'acquisition et la viabilité de *B. quintana*. 5 puces de chaque dilution ont été analysées par immunohistochimie pour déterminer la localisation de la bactérie à l'intérieur du corps de la puce (Tableau 1 et Fig. 1). Nous avons récupéré les fèces des puces qui avaient été infecté par

l'inoculum $8,4 \times 10^9$ bactéries et cela chaque 48 h pour surveiller l'excrétion de *B. quintana* (Tableau 2). A la fin de l'expérience (13 dpi), 10 puces de chaque groupe de dilution ont été analysées par qPCR.

Extraction d'ADN

Les puces de chaque groupe ont été individuellement décontaminées par immersion de 5 minutes dans de l'éthanol (COOPER, Paris, France), suivie par trois immersions dans le PBS stérile comme décrit précédemment (La Scola et al. 2001). Chaque puce a été incisée avec un scalpel puis incubé pendant une nuit à 56 ° C dans 180 µL de tampon G2 (30 mM Tris-Cl; 30 mM d'EDTA, 5% de Tween 20; 0,5% Triton X-100; MM GuHCl 800) et 20 µl de protéinase K (activité = 600 MAU / ml de solution ou 40 MAU / mg de protéine), et ensuite homogénéisé jusqu'à ce que la prélyse soit fait. En outre, les 50 mg des fèces ont été homogénéisés dans 200 uL de PBS. Après cette étapes de pré-lyse, les extractions d'ADN pour obtenir 200 µl d'ADN pour les deux types d'homogénéisation a été effectuée en utilisant un robot automatique EZ1 (QIAGEN-BioRobot® EZ1, Tokyo, Japon), en suivant les instructions du fabricant (kit tissulaire EZ1 ADN, QIAGEN®, Hilden , Allemagne).

L'Amplification par qPCR

L'ADN extrait a été dans une matrice de qPCR ciblant deux gènes spécifiques de *B. quintana* qui codaient pour les 3 oxoacyl- [acyl-support-protéine] synthase (fabF3) et pour un effecteur intracellulaire hypothétique (yopP). Les séquences d'amorces sont les suivantes: Bqui05300F / FabF3 / 5'-GCT-GGC-CTT-GCT-CTT-GAT-GA-3 ', Bqui05300R / FabF3 / 5'-GCT-ACT CTG-CGT-GCC-TTG- GA-3 ', Sonde avec Bqui05300P / FabF3 / 6FAM-TGC-AGC-AGG TGG-AGG-AGA-ACG-TG-TAMRA et Bqui11580F / yopP / 50-TAA-ACC-TCG-GGG GAA-GCA- GA-30, Bqui11580R / yopP / 5'-TTT -CGT-CCT-CAA-CCC-CAT-CA-3 ',

sondé avec Bqui11580P / yopP / 6FAM-CGT-TGC-CGA-CAA-GAC-GTC-CTT-GC-TAMRA) (Angelakis et al., 2011). L'analyse a été réalisée en utilisant la machine de qPCR CFX96® (Bio-Rad, France). Le programme de qPCR était le suivant: les mélanges réactionnels ont été maintenus à 50 ° C pendant 2 min, puis 95 ° C pendant 5 min et ensuite mis à travers 40 cycles de 95 ° C pendant 1 seconde et 60 ° C pendant 35 secondes. Le qPCR a été considéré comme positif lorsque le seuil de cycle (Ct) était inférieur à 36 (Figure 2). Le nombre de *B. quintana* dans chaque échantillon a été calculé sur la base des nombres de copies d'ADN de *B. quintana* et une courbe standard d'étalonnage qui a été obtenue par qPCR et analyse des résultats des dilutions en série de la culture de *B. quintana* en ciblant les deux gènes (Tableau 1 et Figure 2).

Echantillonnage pour les cultures

Les colonies de *B. quintana* sont généralement petites, blanche à blanche crème qui leur permettent d'être facilement distinguées de celles formées par d'autres commensaux de l'intestin des puces, mais certaines colonies sont très grandes et invasive. Environ 300 µl de fèces homogénéisées (50 mg dans 500 µl de PBS) de puces infectées et non infectées dans le sang de mouton à 5% ont été filtrés en utilisant un filtre de 0,8 µm (Millex Ø 33 mm, Dominique Dutscher®) avant d'être mise en culture. Ces filtrats ont été cultivées sur des plaques de gélose (sang de mouton à 5%, bioMérieux®) et incubées à 37 ° C sous une atmosphère de 5% de CO₂. Après formation des premières colonies sur la plaque de gélose, la procédure de mise en culture a été répétée pour isoler les espèces bactériennes et la confirmation de l'identification a été réalisée par qPCR. Dix puces nourris de la dilution $\approx 3.6 \times 10^8$ des bactéries ont été décontaminés pendant 5 minutes dans de l'éthanol (Cooper®, Paris, France) et rincés trois fois 5 min, dans du PBS stérile comme décrit précédemment (La Scola et al., 2001). Ces puces ont ensuite été broyées dans 500 µl de PBS et 300 µl de la

suspension résultante ont été cultivée sur des plaques de gélose au sang; l'homogénat restant a été analysé par qPCR.

L'analyse par immunohistochimie

L'immunohistochimie a été réalisée sur 3 µm d'épaisseur d'une section de paraffine de puces fixés au formol et en utilisant l'indice de référence Autostainer Ventana (Ventana Medical Systems, Inc., Tucson, AZ). Les puces non infectées ont été utilisées comme contrôle négatif. Après déparaffinage, chaque section de tissu a été incubé en utilisant l'antigène polyclonale de lapin *anti-B. quintana* anticorps, dilué à 1: 5000 comme décrit précédemment (Lepidi et al., 2000).

Résultats

***B. quintana* dans le repas sanguin infectant et la survie des puces**

En utilisant des techniques de culture, nous avons confirmé que *B. quintana* se cultive entre 8 à 10 jours après mise sur gélose au sang, et l'extraction de l'ADN de ces colonies abouti à des produits positifs en qPCR. Le nombre moyen de *B. quintana* dans chaque échantillon de repas de sang a été calculé (tableau 1). Afin de déterminer si *B. quintana* influencée la mortalité des puces, les 80 puces infectées par l'inoculum 3.6×10^8 bactéries, ont été comparés avec les 80 puces non infectées à 3, 11 et 13^{ème} dpi. Les taux de mortalité des puces infectées étaient de 5/80 (10 puces viables récupérés pour l'analyse), 12/65, 21/53 et puces à 3^{ème} dpi, 11^{ème} dpi, et 13^{ème} dpi, respectivement. Les taux de mortalité pour les puces non infectées étaient 3/80 (10 puces viables récupérés pour l'analyse), 13/67, 18/54 et puces à trois dpi, 11 dpi, et 13 dpi, respectivement. Nous ne avons pas observé de différence dans les taux de puces infectées et de contrôle à l'aide du teste chi-deux (χ^2) ($P > 0.13$).

L'acquisition de *B. quintana* par les puces

Au 3^{ème} dpi, la charge de l'infection de *B. quintana* a été examinée au niveau de l'ensemble de puces (individuellement) dans les deux essais que nous avons effectué. Nous avons détecté *B. quintana* dans 52% (26/50) dans les puces infectées dans l'essai 1 et dans 90% (45/50) des puces dans l'essai 2. Les puces de contrôle étaient négatives pour la présence de la bactérie dans les deux essais. Nous avons détecté *B. quintana* dans tous les groupes (G1' à G5') des essais 2 et dans les puces groupes de G1, G2 et G3 pour le premier essai (tableau 1). Les plus grandes charges de *B. quintana* d'infection pour chaque groupe de puces dans les deux essais sont présentées au tableau 1. Les puces qui ont été infectés par l'inoculum pure (G1; G1') ont affiché les plus grandes quantités de *B. quintana* par échantillons de puces individuelles (6×10^2 à $9,6 \times 10^3$ bactéries dans l'essai 1 et $1,5 \times 10^2$ à 7×10^4 bactéries dans l'essai 2). Les puces des deux essais avaient significativement des différentes charges de *B. quintana* et ces valeurs ont diminué dans les groupes de puces qui ont été nourris par des dilutions de 10^{-4} . Les puces dans les deux derniers groupes (G4 et G5) du premier essai étaient négatives après qu'ils ont été nourris avec des repas de sang de 8×10^5 bactéries. Les quantités de *B. quintana* dans chaque groupe de puces individuelles analysées par qPCR du gène fabF3 sont représentés par quantité de bactéries (de $3,8 \times 10$ jusqu'à 7×10^4) et une valeur de Ct allant de 25,92 à 36,5 sur la figure 2. Enfin, il n'y avait pas de différence significative dans le nombre de copies d'ADN moyenne par puce individuelle au cours des dix groupes en utilisant le gène fabF3 ($p = 0,76244$) ou le gène yopp ($p = 0,51222$).

Localisation de *B. quintana* dans les organes de *Ctenocephalides felis felis*.

Les résultats de l'immunohistochimie des cinq puces testées (au 3^{ème} dpi) de l'essai 1 a démontré la présence de *B. quintana* sous forme de grappe dense de micro-organismes immunopositives dans l'intestin des puces infecté (Figure 1). Ces microorganismes

immunopositives ont été trouvés dans tous les groupes des puces exposées à *B. quintana*; Toutefois, la densité des amas est faible dans les puces de la G4 et G5 à partir de l'essai 1.

Evaluation de *B. quintana* dans les puces et leurs excréments

Détection de *B. quintana* dans les fèces

Au 3^{ème} dpi, nous avons testé séparément les excréments des puces exposées à *B. quintana* et des puces contrôles des deux essais par qPCR. Les résultats indiquent la présence de *B. quintana* dans les excréments des *C. felis felis* dans tous les groupes du premier et du 2^{ème} essai, et les charges bactériennes diminuent du groupe G1' ($9,7 \times 10^6$ bactéries) à G5' ($2,4 \times 10^3$ bactéries). Dans l'essai 1, la présence de *B. quintana* dans les fèces de *C. felis felis* a été trouvée dans tous les groupes à l'exception de G5, et le niveau variait entre $1,9 \times 10^6$ bactéries (G1) à $1,4 \times 10^2$ bactéries (G4) (tableau 1).

Persistence de *B. quintana* dans les fèces

Nous avons suivi la présence et l'élimination des bactéries dans les fèces et dans les puces qui ont été nourris par la suspension pure (essais 1 et 2, $3,6 \times 10^8$ bactéries et $8,4 \times 10^9$ bactéries, respectivement). Les résultats rapportés dans le tableau 2 montrent que la charge moyenne de *B. quintana* dans les excréments de puces évolue dans les essais 1 et 2 jusqu'à ce qu'au 3^{ème} dpi à un nombre maximal de $9,7 \times 10^6$ bactéries, et la valeur logarithmique a ensuite diminué jusqu'au 11 dpi à un minimum de $7,6 \times 10$ bactéries dans les deux essais. Au 13 dpi, les excréments de toutes les puces infectées par les inocula étaient négatifs dans les deux essais (tableau 2). Au 13^{ème} dpi, nous avons testé 10 puces viables de chaque groupe par qPCR, et ces puces étaient négatives, ce qui indique que les bactéries étaient complètement éliminées des corps des puces infectées (Tableau 1).

Discussions

La puce du chat, *C. felis felis*, se niche dans le monde entier et a été rapportée à parasiter de nombreuses espèces d'animaux domestiques et sauvages (Rust et al., 1997). La puce du chat est le seul arthropodes qui a été démontré à ce jour pour transmettre naturellement *Rickettsia felis* (Reif et al., 2009). En outre, la puce du chat a été confirmée comme un vecteur de *Bartonella henselae*, l'agent causal de la maladie des griffes du chat (Zangwill et al 1993; Chomel et al., 1996). Foil et al. (1998) ont démontré l'infection expérimentale des chats avec *B. henselae* après inoculation avec les excréments des puces (Foil et al., 1998). Récemment, les puces ont été soupçonnées d'être un vecteur potentiel de plusieurs bartonella à savoir *B. quintana*, *B. clarridgeiae*, *B. koehlerae*, *B.* et *B. birtlesii tribocorum* (Bouhsira et al. 2013a). Une relation symbiote-hôte a été observée chez les vecteurs comme les poux de corps chez les humains, *Pediculus humanus corporis* qui excrète l'agent de la fièvre des tranchées, *B. quintana*, dans ses excréments (Higgins et al., 1996). La première manifestation clinique de la fièvre des tranchées a été attribué à *B. quintana* et a été caractérisée par l'apparition soudaine de maux de tête, des douleurs dans les tibias, des étourdissements et de la fièvre (Foucault et al., 2006). Une bactériémie chronique s'est développée chez certains patients (Brouqui et al., 1999), et cette bactériémie chronique asymptomatique chez l'homme a indiqué que l'homme peut être le réservoir naturel de *B. quintana* (Foucault et al., 2002). Bien que les humains sont un hôte réservoir principal de *B. quintana*, certains rapports récents ont trouvé *B. quintana* dans des dents de chat (La Scola et al., 2005), chez les chiens et des macaques (Chomel et al 2006;. Huang et al. 2011; Li et al 2011 et 2013). Nos résultats indiquent que d'autres arthropodes, tels que les puces, peuvent acquérir *B. quintana* puis excréter dans ses excréments.

Plusieurs études ont suggéré que des arthropodes tels que les mouches, les poux, les puces, les tiques peuvent transmettre *Bartonella* spp. au cours de leur repas de sang (Tsai et al., 2011),

mais peu d'études ont décrit les détails de la cinétique de croissance et la transmission de ces bactéries. L'infection humaine par *B. quintana* est présumée découler de l'inoculation de matières fécales dans les piqûres de poux suite aux grattages (Maurin et Raoult 1996). Un autre organisme, *B. henselae*, est aussi incriminé pour être transmis par la contamination d'une morsure avec les fèces infectées, et la puce est capable d'ingérer *B. henselae*, et être support à la répllication de ces bactéries dans leur tube digestif, et excréter des viable organismes dans leurs fèces (Higgins et al., 1996). Comme suggéré par Morick et ses collègues (2013), *Bartonella* spp. sont probablement pas pathogène pour les puces et se sont bien adaptés à leurs vecteurs (Morick et al. 2013). Notre étude indique que les puces de chat pouvaient maintenir *B. quintana* dans leur tractus gastro-intestinal et des colonies viables pourraient être produites et excrétée. Nous suggérons un scénario similaire pour la transmission de *B. quintana* par les puces de chat pour les chats et les humains.

Nos résultats expérimentaux confirment les données rapportées par Bouhsira et ses collègues (2013a), qui a utilisé des conditions artificielles pour infecter des puces par cinq espèces de *Bartonella* y compris *B. quintana*, et n'a trouvé aucune différence dans la persistance de *B. quintana* dans les fèces et ainsi l'excrétion à partir du 3eme dpi. Dans une étude de Seki et ses collègues (2007), une analyse quantitative des taux de multiplication bactérienne de *B. quintana* a été effectuée sur les poux de corps et ils ont constaté que l'excrétion commence à partir du quatrième jour après l'ingestion. En outre, les bactéries ont été constamment excrétés dans les matières fécales pendant au moins 3 semaines (Seki et al., 2007). Cependant, dans notre étude, l'élimination de *B. quintana* viable dans les matières fèces a été observée dans les puces qui ont été nourris avec une suspension de bactéries $\geq 4.2 \times 10^9$ par ml de sang, par la suite la charge bactérienne dans les fèces diminué progressivement après 3 dpi. Nous suggérons que *B. quintana* a été complètement éliminée dans les excréments de puces

jusqu'au 13 dpi ou *B. quintana* a été diffusé dans les différentes cavités du corps des puces de chat. Nous avons observé l'absence de *B. quintana* et dans toutes les puces et dans leurs matières fécales au jour 13. L'absence du *Bartonella* après cette date a été observé dans des études antérieures (Seki et al., 2007) et aucun ADN de *B. henselae* a été détecté dans les puces de chat et leurs excréments après le 9ème jours (Bouhsira et al. 2013b). D'autres études sont nécessaires pour déterminer si *B. quintana* a été complètement éliminé après le 13 dpi.

Tableau 1: détection de *B. quintana* dans les deux essais d'infection des puces par *B. quintana*.

Essai	Groupes de puce (No)	Echantillonnage (Quantité)	jour 3 Post-Infection (P.I.)				jour 13 P.I.
			qPCR (<i>fabF3</i>)		Culture	Immunohisto- chimie	qPCR (<i>fabF3</i>)
			Bactéries(≈)	No. positive (%)			
T 1	Group 1 (80)	Repas sanguin [‡] (2ml)	3.6 x 10 ⁸		+		
		puce (10)	6 x 10 ² to 9.6 x 10 ³	10 (100%)	+ ^(B)	+ ^(*)	-
		Feces (≈50mg)	1.9 x 10 ⁶		-		-
	G 2 (80)	Repas sanguin [‡] (2ml)	3.6 x 10 ⁷		+		
		puces (10)	5.4 x 10 to 3.4 x 10 ³	10 (100%)	ND	+ ^(*)	-
		Feces (≈50mg)	1.1 x 10 ³		-		-
	G 3 (80)	Repas sanguin [‡] (2ml)	3.6 x 10 ⁶		+		
		puces(10)	3.8 x 10 to 7.6 x 10	6 (60%)	ND	+ ^(*)	-
		Feces (≈50mg)	2.1 x 10 ³		-		-
	G4 (80)	Repas sanguin [‡] (2ml)	3.6 x 10 ⁵		+		
		puces (10)	-	0 (0%)	ND	+ ^(*)	-
		Feces (≈50mg)	1.4 x 10 ²		-		-
	G5 (80)	Blood meal [‡] (2ml)	3.6 x 10 ⁴		+		
		Fleas (10)	-	0 (0%)	ND	+ ^(*)	-
		Feces (≈50mg)	-		-		-
Group Control (80)	Repas sanguin [‡] (2ml)	-	-	-			
	Puces (10)	-	0 (0%)	ND	-	-	
	Feces (≈50mg)	-	-	-		-	
T2	Group 1' (80)	Repas sanguin [‡] (2ml)	8.4 x 10 ⁹		+		
		puces (10)	1.5 x 10 ² to 7 x 10 ⁴	10 (100%)	ND	ND	-
		Feces (≈50mg)	9.7 x 10 ⁶		+ ^(B)		-
	G 2' (80)	Repas sanguin [‡] (2ml)	8.4 x 10 ⁸		+		
		puces (10)	3.8 x 10 to 9.6 x 10 ³	10 (100%)	ND	ND	-
		Feces (≈50mg)	3 x 10 ⁵		-		-
	G3' (80)	Repas sanguin [‡] (2ml)	8.4 x 10 ⁷		+		
		puces (10)	7.6 x 10 to 4.5 x 10 ³	9 (90%)	ND	ND	-
		Feces (≈50mg)	1.9 x 10 ⁴		-		-
	G4' (80)	Repas sanguin [‡] (2ml)	8.4 x 10 ⁶		+		
		puces (10)	7.6 x 10 to 4.5 x 10 ³	8 (80%)	ND	ND	-
		Feces (≈50mg)	6 x 10 ²		-		-
	G 5' (80)	Repas sanguin [‡] (2ml)	8.4 x 10 ⁵		+		

	puces (10)	3.8 x 10 to 3 x 10 ²	8 (80%)	ND	ND	-
	Feces (≈50mg)	2.4 x 10 ³		-		-
Group	Repas sanguin [‡] (2ml)	-		-		
Control'	puces (10)	0 (0%)	0 (0%)	ND	ND	-
(80)	Feces (≈50mg)	-		-		-

No: number of fleas; (+) positive ; (-) negative ; **ND** : Not Done ; (≈): approximately; **qPCR**: Quantitative real-time polymerase chain reaction ; *fabF3*: 3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase ; ^(‡) Infected or uninfected blood; ^(*) observed in gut; ⁽⁹⁾ Confirmation by qPCR;

Table 2. Detection et isolement de *B. quintana* dans les feces des puces

jours Post-infection	qPCR (<i>fabF3</i> "bacterie")		Culture	
	G1 (Trial 1)	G1' (Trial 2)	G1 (T1)	G1' (T2)
D3	1.9 x 10 ⁶	9.7 x 10 ⁶	-	+
D5	ND	2.5 x 10 ⁶	ND	ND
D7	ND	3.3 x 10 ²	ND	ND
D9	ND	1.5 x 10 ²	ND	ND
D11	3.8 x 10	7.6 x 10	-	-
D13	-	-	ND	ND
Groupes de controle	Trial 1	Trial 2	T1	T2
D3	-	-	-	-
D11	-	-	-	-

D: Day; (+) positive; (-) negative; **ND:** not done;

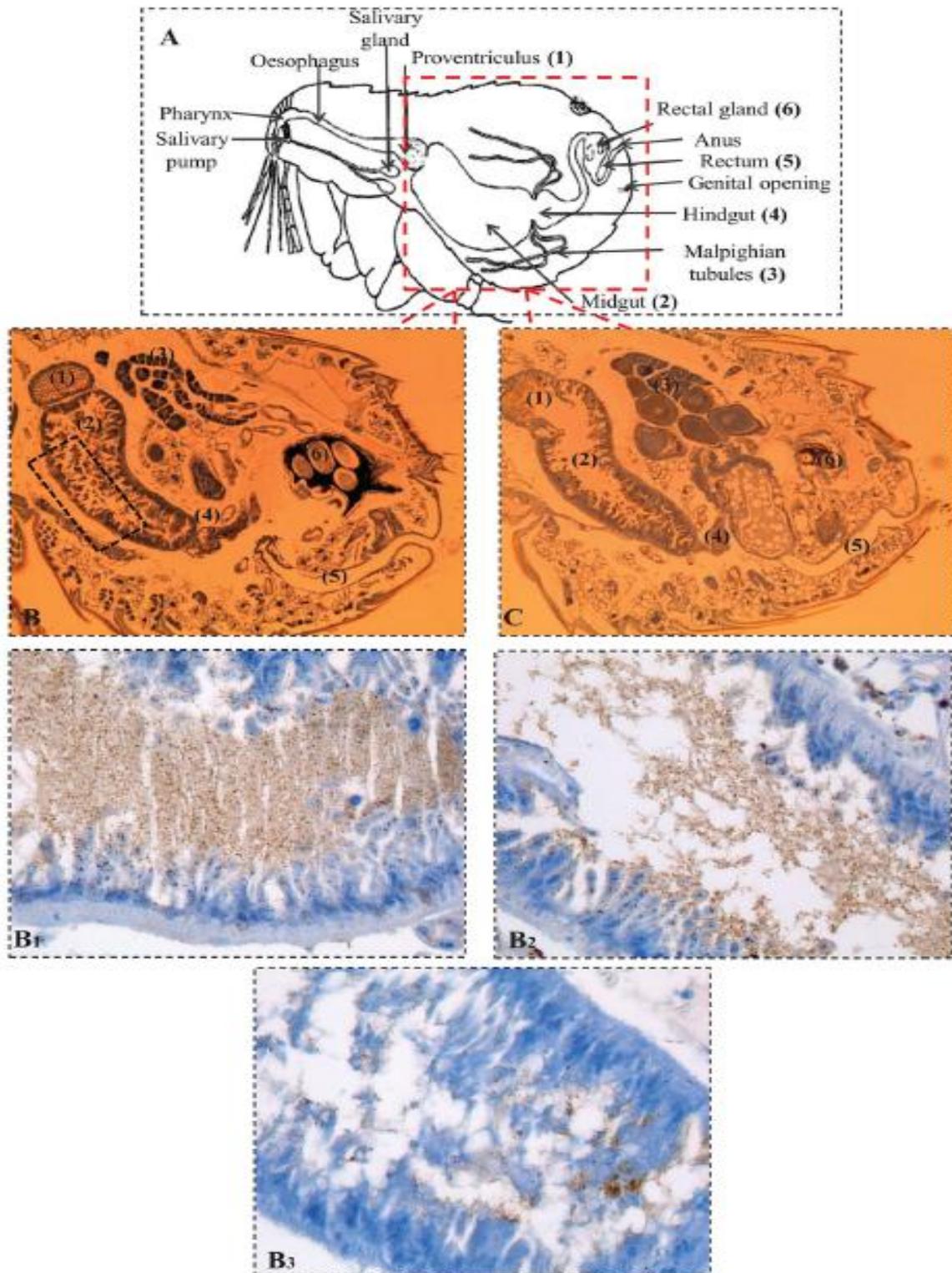


Figure 1: localisation de *B. quintana* dans le corps des puces infectées par immunohistochimie.

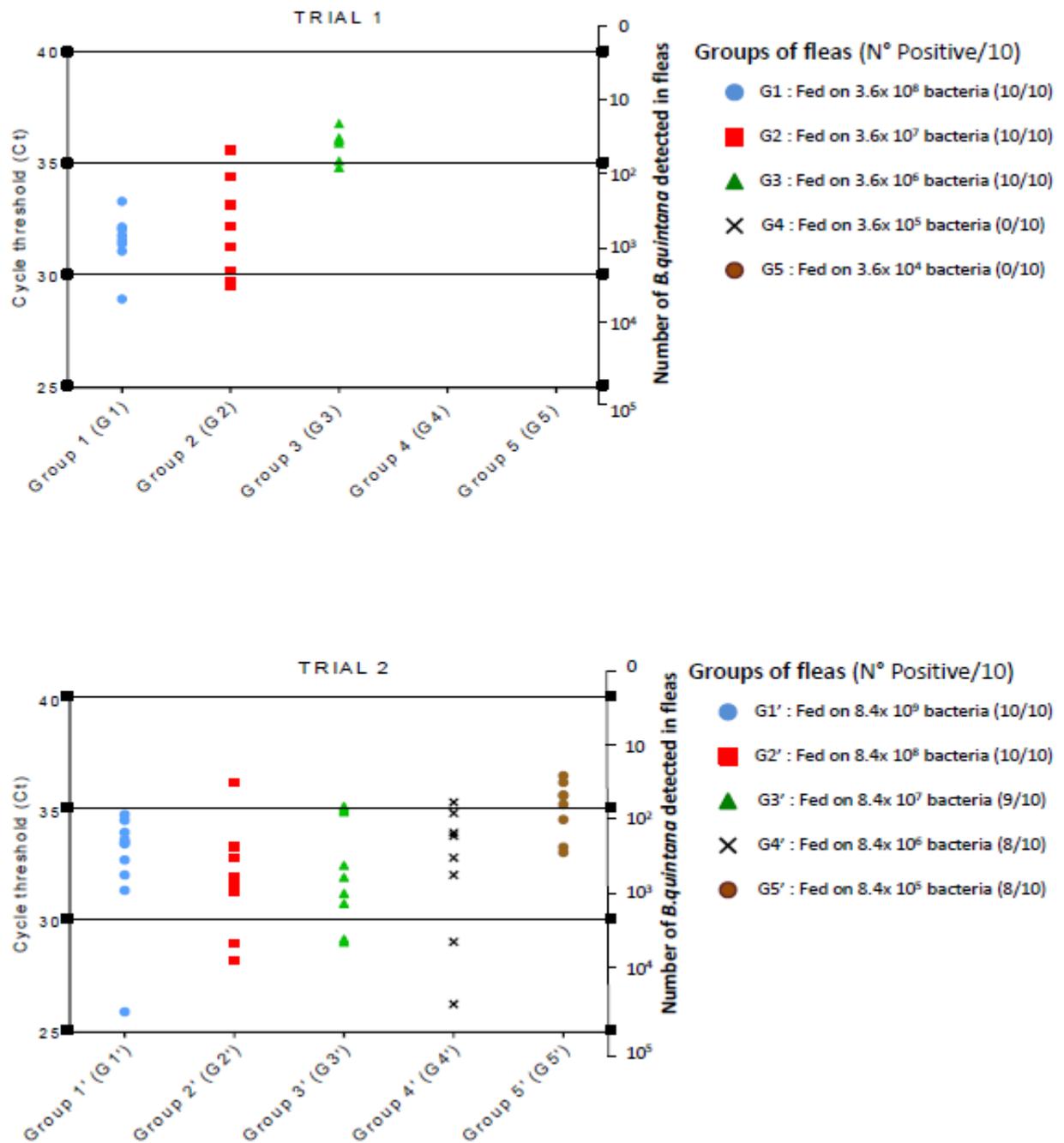


Figure 2: nombre de puces infectées par *B. quintana* dans chaque groupe.

Etude 4: Evaluation de la compétence vectorielle de *Cimex lectularius* dans la transmission de *Bartonella quintana*.

Introduction

Bartonella quintana est une bactérie Gram négative, qui est considérée comme un agent pathogène humain ré-émergentes (Rolain et al., 2002). L'ADN de *B. quintana* a été détecté dans une pulpe dentaire d'un humain y'a 4000 ans (Drancourt et al., 2005) et dans des poux trouvés dans un charnier de soldats de Napoléon en Lituanie, ce qui a suggéré que la plupart des soldats ont été touchés par la fièvre des tranchées (Raoult et al., 2006). La fièvre des tranchées était la première manifestation clinique décrite d'une infection à *B. quintana*. Elle a touché des milliers de soldats pendant la première et deuxième guerres mondiales (Raoult et al., 2006). Par la suite, *B. quintana* a été identifiée comme agent d'angiomatose bacillaire chez les patients sidéens (Relman et al., 1990), patient atteint d'endocardite (Drancourt et al., 1995; Spach et al., 1995a), détectée dans les bactériémies chroniques (Brouqui et al., 1999; Spach et al., 1995b) et dans les lymphadénopathies chroniques (Raoult et al., 1994). La gravité de l'infection à *Bartonella* est en corrélation positive avec l'état immunitaire du patient; les manifestations cliniques peuvent aller de bénigne et auto-limitée à une maladie grave et potentiellement mortelle (Angelakis and Raoult, 2014). Bien que les poux de corps sont considérées comme le principal vecteur de *B. quintana* (Chomel et al., 2003), cette bactérie a également été constatée dans d'autres arthropodes tels que les poux de tête (Angelakis et al., 2011; Bonilla et al., 2009), les tiques (Tsai et al., 2011) et les acariens (Melter et al., 2012). Récemment, après la détection de l'ADN de *B. quintana* dans des puces (Rolain et al., 2003b), il a été démontré expérimentalement que la puce du chat, *Ctenocephalides felis*, pourrait acquérir et excréter de viable *B. quintana* dans leurs fèces (Kernif et al., 2014). Ces résultats confirment le rôle de vecteur probable des puces dans la fièvre des tranchées ou d'autres manifestations cliniques causés par *B. quintana* (Kernif et al., 2014). La détection récente de

l'ADN de *B. quintana* dans des *Cimex hemipterus* (punaises de lit tropicale) recueillies à partir de deux prisons au Rwanda a indiqué que les punaises de lit pourraient être impliqués dans la transmission de *B. quintana* (Angelakis et al., 2013). Et cela soulève la question de savoir si *C. lectularius* (punaise de lit) pourrait acquérir et excréter *B. quintana* et constituer donc un potentiel vecteur compétent. À cette fin, nous avons utilisé un modèle expérimentale d'infection des punaises *C. lectularius* en utilisant trois approches différentes: la qPCR, les cultures et l'immunohistochimie.

Matériels et méthodes

La souche bactérienne

La souche de *B. quintana* Oklahoma (ATCC 49 793) (Kernif et al., 2014) a été utilisée pour infecter le sang utilisé pour nourrir les punaises. L'utilisation, la culture et toutes les procédures impliquant des infections expérimentales de *B. quintana* ont été menées dans un laboratoire de niveau de biosécurité 2.

Milieu de culture

La souche de *B. quintana* a été cultivé comme décrit précédemment (Rolain et al., 2003a) sur plaques de gélose au sang de mouton et columbia (bioMérieux®, Marcy l'Etoile, France) dans une atmosphère humidifiée à 37 ° C supplémenté avec 5% de dioxyde de carbone (CO₂) en utilisant le sachet de Gen™ système génération d'atmosphère de CO₂ (Oxoid Ltd par Mitsubishi Gas Chemical Company Inc, Japon). Après 8 à 10 jours de culture, les bactéries ont été récoltées par addition de 400 µL de solution saline de phosphate tamponnée (PBS), pH 7,2 (bioMérieux®, Craponne, France). 400 µL de la suspension bactérienne pure ont été mélangées avec 2 ml de sang entier, et cela a été utilisé comme repas de sang pour infecter les punaises des lits. Les 200 µL restante de de la suspension bactérienne ont été dilués jusqu'à 10⁻

¹⁰ et mise en culture pour estimer le nombre d'unités formant des colonies (CFU) par microlitre.

Elevage des punaises

Depuis 2012, les punaises de lit (*Cimex lectularius*) de ont été maintenues dans un insectarium par notre équipe au centre de collaboration de l'OMS pour les rickettsioses et d'autres maladies bactériennes transmises par les arthropodes à Marseille, France. Cette colonie de punaises de lit recueillies à partir d'appartement infestés à Aix-en-Provence, (France) à l'aide d'un aspirateur (système Dyson DC34 modifié). Elles ont été maintenues dans des récipients et mise dans un incubateure à 60% d'humidité et 24 ° C. Les punaises de lit ont été nourries une fois par semaine en utilisant le sang humain citraté obtenu à partir de l'Etablissement Français du Sang. L'approbation éthique pour l'utilisation du sang humain in vitro a été obtenue à partir du comité d'éthique de recherche en laboratoire d'hématologie moléculaire, Établissement français du sang. 2 ml de sang ont été placés dans une machine d'alimentation artificielle Hemotek (5W1 Hemotek; Ateliers découverte, Accrington, Royaume-Uni) couverte par une membrane artificielle de Parafilm® M (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, Missouri, Etats-Unis) qui a été étiré à la deux fois de sa longueur et de largeur (Sheele et al., 2013). Pour éviter la contamination pendant les infections, le chargeur Hemotek et les conteneurs des punaises de lit ont été introduits dans une boîte en acrylique transparent (boîte à gants).

Infection des C. lectularius

Deux essais expérimentaux distincts ont été réalisés en utilisant *C. lectularius* collectées de la même colonie au même âge. Nous avons formé quatre groupes pour chaque essai, y compris deux infectés (1 groupe pour les adultes et 1 groupe de larve) et deux groupes de contrôle (1 groupe d'adulte et 1 groupe de larve); chaque groupe était composé de 30 punaises. Dans les

flacons du groupe adultes, nous avons utilisé 10 mâles et 20 femelles. Le groupe des larves était composé de 30 Larve 1 (L1). La concentration de *B. quintana* dans la suspension infectée composée par la suspension bactérienne et le repas de sang était de 6×10^8 CFU / ml bactéries dans l'essai 1 et 8×10^5 CFU / ml dans l'essai 2. Chaque groupe de punaise de lit a été nourri 3 fois en 5 jours (tous les deux jours) avec 200 ul de la suspension bactérienne mélangée avec 2 ml du repas de sang. Les groupes témoins ont été nourris avec 2 ml de sang non infecté mélangés avec 200 ul de PBS. Par la suite, tous les groupes ont été nourris avec du sang infecté tous les autres jours à compter du 3ème jour post-infection (dpi) jusqu'à la fin de l'expérience.

En utilisant la qPCR, nous avons testé 200 ul de l'inoculum infecté (la suspension de sang infecté que les punaises de lit se nourrissent avec) pour s'assurer de la présence de *B. quintana* dans le repas de sang infecté. Nous avons aussi cultivé 150 ul de l'inoculum et les dilutions jusqu'à 10^{-10} pour s'assurer de la viabilité et de déterminer la concentration de *B. quintana* dans le inoculums infecté.

Stratégie d'échantillonnage

Au 3^{ème} dpi, cinq punaises de lit viables et environ 20 mg de matières fécales de chaque groupe ont été récupérés pour être analysés par qPCR. Les matières fécales ont été recueillies à partir d'une feuille de papier déposé dans le fond des récipients des punaises. L'analyse de la culture des matières fécales et des deux punaises de lit a également été réalisée; les deux tests ont été utilisés pour déterminer l'acquisition et la viabilité de *B. quintana* dans les punaises de lit et leurs excréments. 4 adulte *C. lectularius* dans le groupe des infectés ont été également analysés par immunohistochimie pour déterminer la localisation des bactéries dans le corps de la punaise. A partir du 5ème dpi, nous avons récupéré deux adultes et les fèces chaque 48 h pour contrôler et suivre l'excrétion de *B. quintana* jusqu'à la fin de l'expérience (21ème dpi).

Par qPCR, Nous avons analysé cinq œufs à partir du récipient des adultes infectés au troisième dpi pour déterminer si les œufs ont été infectés ou non. Simultanément, nous avons récupéré dix œufs afin d'être élevés dans des flacons séparés pour obtenir des L1 et L2 larves. Les larves ont été analysées aussi par qPCR pour déterminer si une acquisition des progenitures peut se reproduire.

Extraction D'ADN

L'ADN des punaises de lit et de leurs matières fécales ont été extraites en utilisant un robot automatique EZ1 (QIAGEN EZ1-BioRobot, Tokyo, Japon) selon les instructions du fabricant (Kit de tissus EZ1 ADN, QIAGEN, Hilden, Allemagne). Premièrement, nous avons décontaminé la surface des punaises de lit par immersion 5 min dans de l'éthanol (COOPER, Paris, France), suivie de trois immersions de 5 minutes dans du PBS stérile comme décrit précédemment (La Scola et al .2001) Chaque punaise de lit a été incubé pendant une nuit à 56° C dans 180 ul de tampon G2 et 20 ul de protéinase K pour pré-lyse suivie d'une extraction à l'aide du Robot EZ1. Pour tous les échantillons, le volume d'élution final était de 100 ul.

Amplification par qPCR

Nous avons utilisé deux qPCR ciblant deux gènes de *B. quintana*; YopP et Fabf3 comme décrit dans le travail précédent (modèle expérimentale d'infection des puces par *B. quintana*).

Echantillonnage pour la culture

Environ 500 ul de fèces (20 mg de fèces dans 500 ul de PBS) des groupes de punaise de lit infectées et non infectées homogénéisées avec 5% de sang de moutons et filtrés en utilisant un filtre de 0,8 um (Millex Ø 33 mm, Dominique Dutscher®) ont été cultivés sur des plaques de gélose au sang. Les corps des punaises de lit ont également été mis en culture en utilisant la même méthode décrite pour la culture des matières fécales.

Analyse immunohistologique

L'immunohistochimie a été effectuée sur 3 µm d'épaisseur, d'une section de paraffine de punaises de lit fixés au formol en utilisant l'indice de référence Autostainer Ventana (Ventana Medical Systems, Inc.). Quatre punaises de lit infectées (deux de chaque essai) et quatre punaises de lit non infectées ont été analysés (2 de chaque essai). Après déparaffinage, chaque section de tissu a été incubée avec l'antigène polyclonale de lapin anti-*B. quintana* anticorps, qui a été dilué à 1: 5000 comme décrit précédemment dans le modèle expérimentale d'infection des puces par *B. quintana*.

Resultats

Acquisition de *B. quintana* par des punaises

Dans les deux essais, les adultes et les larves L1 des punaises de lit ont été infectés exposés trois fois en cinq jours à *B. quintana* avec l'aide de repas de sang infecté par *B. quintana*. Au 3ème dpi, nous avons analysé individuellement cinq adultes et cinq L1 *C. lectularius* par qPCR. Les groupes contrôles (nourris avec repas de sang avec 200 µl de PBS) ont été négatifs par qPCR de la présence de la bactérie dans les deux essais. Dans les groupes des punaises de lit exposées à la bactérie, nous avons détecté *B. quintana* dans 100% (5/5) des punaises de lit adultes et 100% (5/5) des L1 dans les deux essais. Les quantités de *B. quintana* dans chaque échantillon de punaises de lit par essai tel que déterminé par qPCR des gènes *fabF3* et *yopp* sont donnés dans le tableau 1a et 1b. La concentration bactérienne se situaient entre $5,85 \times 10^7$ CFU / ml et $4,78 \times 10^2$ CFU / ml dans l'épreuve 1 et de $2,82 \times 10^6$ CFU / ml à 6×10 CFU / ml dans l'épreuve 2. Les excréments des adultes et des larves ont également été testés par qPCR pour évaluer la présence de *B. quintana* et de confirmer la voie de l'élimination. Les résultats indiquent la présence de la bactérie dans les fèces dans les deux essais avec 8×10^8

CFU / mL dans les matières fécales des adultes et $5,52 \times 10^7$ CFU / mL dans les fèces L1 dans l'essai 1 et $9,08 \times 10^3$ CFU/ml dans les fèces adultes et $2,82 \times 10^6$ UFC / ml dans les fèces L1 dans l'essai 2 (Tableau 1).

Localisation de *B. quintana* dans le corps des punaises de lit

L'analyse immunohistochimique des 4 *C. lectularius* testées (à partir du 3ème dpi) à partir de l'essai 1 et 2 ont démontré la présence de *B. quintana* sous forme de grappes denses de micro-organismes immunopositives dans la deuxième et la troisième intestin moyen des voies digestives (Figure 1, Tableau 1).

Evolution de *B. quintana* de punaises de lit et leurs excréments

Viabilité de *B. quintana* de punaises de lit et leurs excréments

Les cultures des selles homogénéisées et filtrées des adultes infectés et L1 groupes de punaise de lit étaient positifs au 3ème dpi dans les deux deux essais. La présence de *B. quintana* viable a été confirmée par une seconde culture (culture directe et indirecte) et par qPCR (tableau 1).

Persistence de *B. quintana* dans le corps des punaises de lit

Par qPCR, nous avons suivi la présence de la bactérie dans les punaises de lit adultes à partir du troisième dpi jusqu'à la fin de l'expérience. Les résultats présentés dans la figure 2 montrent que le nombre moyen de *B. quintana* dans les punaises de lit a diminué au cours des deux essais. Dans l'essai 1 (punaises de lit nourris avec 6×10^8 CFU/ ml), *B. quintana* persistent jusqu'au 19ème dpi; Toutefois, dans le 2ème essai (punaises de lit nourris avec 8×10^5 CFU / ML), *B. quintana* a été détecté jusqu'au 17ème dpi. Nous avons analysé cinq œufs (récupérées du groupe exposés à *B. quintana*), au 3ème dpi, nous avons constaté que deux œufs étaient positifs par qPCR (Ct [24,4, +/- 2,19]). L'analyse de la culture de la suspension

d'oeuf était également positive. Dix larves L1 ont été obtenues après incubation des oeufs: cinq ont été analysés par qPCR et tous étaient positifs à *B. quintana* dans les deux essais (Ct moyenne dans l'essai 1 était [24,4, +/- 2,97] et [29,4, +/- 1,12] dans l'essai 2). Nous avons maintenu les cinq autres larves L1 (ils muent à L2 après 10 jours d'incubation), et un était positif dans chacun des essais (Ct = 21,57 dans l'épreuve 1 et Ct = 31,59 dans l'épreuve 2).

Persistence de *B. quintana* et élimination dans les fèces des punaises de lit

L'utilisation de la qPCR, nous a permis de déterminer la présence de la bactérie dans les selles de punaises de lit adultes. Les résultats présentés dans la figure 3 montrent que le nombre moyen de bactéries *B. quintana* dans les punaises de lit a diminué dans l'épreuve 1 jusqu'au 19eme dpi et jusqu'au 17eme dpi dans le deuxième essai. En outre, nous avons constaté une baisse des valeurs Ct sur les 13 dpi et 15 dpi par rapport au 11 dpi, ce qui indique une multiplication bactérienne dans le corps des punaises de lit et entraînant l'élimination à une concentration élevée.

Discussions

Ici, nous rapportons dans deux essais expérimentaux pour étudier l'acquisition potentielle et la transmission de *B. quintana* (l'agent de la fièvre des tranchées et d'autres maladies) par des punaises (*C. lectularius*). Les résultats montrent que les punaises de lit (adultes et larves) exposées à *B. quintana* peuvent acquérir la bactérie et de l'éliminer dans les fèces. Les punaises de lit maintiennent et excrètent *B. quintana* jusqu'au 17eme ou 19eme dpi en fonction de la concentration de l'inoculum. Cependant, des *B. quintana* viables ont été détectées dans les fèces des punaises de lit. Par immunohistochimie, la bactérie a été localisée dans le deuxième et troisième ventricule du tube digestif des punaises. Étonnamment, *B. quintana* a été détectée dans les oeufs, les larves L1 et L2.

Dans cette étude, nous avons utilisé trois approches valides. Tout d'abord, La qPCR qui à été utilisée afin d'étudier l'acquisition et l'élimination de la bactérie par les *C. lectularius*. Cette technique est testée ainsi que fiable, en plus nous avons utilisé un ensemble de deux systèmes de qPCR ciblant yopP et fabF3, qui sont connus pour être spécifique pour la détection de l'ADN de *B. quintana*, et nous avons utilisé des contrôles négatifs et positives. Deuxièmement, nous avons cultivé des bactéries à partir des échantillons pour déterminer si les bactéries ont été éliminées vivantes ou pas. Cette approche est aussi une technique validée contenant un contrôle négatif et positif. La troisième method qui est l'immunohistochimie, a été utilisé pour localiser la bactérie à l'intérieur du corps des punaises. Les expériences d'immunohistochimie ont été effectuées en aveugle par un de nous (Pr Hubert Lipidi), et les résultats étaient concordants avec les résultats de la qPCR.

Cimex lectularius et *C. hemipterus* (Cimicidae: Hemiptera), communément appelés les punaises de lit, continuent à resurgir de façon flagrante (Doggett SL et al., 2012 ; Eddy et al.,2011). Au cours de ces dernières années, ces arthropodes hématophages ont subi une résurgence majeure en fréquence et en répartition géographique conduisant à des problèmes cliniques. Un nombre croissant d'infestations ont été signalés en Europe (Levy BA et al 2011, Masetti et al., 2007), Amérique (Hwang et al.,2005), Australie (Doggett SL et al., 2012), Asie (How YF et al., 2010, Lee et al., 2008) et l'Afrique (Angelakis et al., 2013, Omu et al., 2010)

La morsure des punaises provoque des lésions et affections cutanées qui sont les conséquences cliniques les plus communes des punaises de lit sur la santé humaine. En outre, l'affection mentale peut être marquée suite à la connaissance d'une infestation par les punaises de lit dans les habitations (Doggett et al., 2012). Les punaises de lit sont soupçonnées de transmettre des agents infectieux, mais il ya peu de preuves que cette transmission peut se

produire. Alors, plus de 45 agents pathogènes associés à l'infection et les maladies humaines ont été attribués à ou soupçonnés de transmission par les punaises de lit (Delaunay et al., 2011). Un ancien rapport cité par Goddard (Goddard et al., 2009) a suggéré que les punaises de lit peuvent être des vecteurs de la fièvre jaune, la tuberculose, la fièvre récurrente, la lèpre, la filariose (Nelson et al., 1963), le kala-azar (leishmaniose), la variole et le VIH (Jupp et al., 1987, Webb et al., 1989). *Yersinia pestis* a également notée de se développer à l'intérieur du corps des punaises de lit (Bacot.,1915. Verjbitzki (1904) ont constaté, suite à l'infection des cochons d'inde par la mise de punaises de lit infectée expérimentalement par une souche hyper virulente de *Y. pestis*, que ces hotes (les cochons d'Inde) succombe rapidement. Ils ont constaté également que trois punaises de lit infectées suffisent pour transmettre l'infection (Bacot.,1915). Jordansky et Klodnitsky (1906) ont constaté que le nombre d'*Y. pestis* dans l'estomac de la punaise de lit augmente du troisième au sixième jour après le repas infectée (Bacot AW., 1915, Jordansky, Klodnitzky., 1906). Tout au long de ces modèles expérimentaux, il semblerait que les punaises de lit peuvent jouer un rôle important dans l'infection des punaises par la peste et peut être autres pathogènes. Le Virus de l'hépatite B a également été postulé comme candidat probable pour la transmission par les punaises de lit Jupp et al., 1987, Ogston et al., 1979). Blow et al 2001, ont offert des preuves pour la transmission du virus de l'hépatite B par les punaises de lit et avec une transmission transtadial (Blow et al., 2005). Récemment Salazar et al (Salazar et al., 2014) ont évalué la compétence vectorielle des *C. lectularius* pour la transmission de *Trypanosoma cruzi* et il a été confirmé que *T. cruzi* était éliminée viable dans les matières fécales de punaises de lit. Goddard et al (Goddard et al., 2012) ont infectés expérimentalement des punaises de lit avec *Rickettsia parkeri* et ont jugé par immunofluorescence que la bactérie était présente dans la glande salivaire au 15 jours après l'infection (Goddard et al., 2012). En outre, notre laboratoire a récemment détecté l'ADN de *B. quintana* dans des *C. hemipterus* recueillies à partir de deux

prisons au Rwanda (Angelakis et al., 2013). Jusqu'à présent le seul vecteur confirmé et connu de *B. quintana* est poux de corps, cependant, plusieurs études ont suggéré que d'autres arthropodes hématophages, tels que les mouches, les poux, les puces, les tiques peuvent acquérir ou transmettre *Bartonella* spp. (Tsai et al., 2011). Peu d'études ont décrit la cinétique d'élimination et les détails de la transmission de ces bactéries.

Les résultats de nos expériences sont en accord avec de nombreux modèles expérimentaux d'infection, tels que l'infection expérimentale de puces par *B. quintana* (Bouhsira et al., 2013), où ils ont constaté que *B. quintana* a été détecté dans les puces, dès le début du 3ème dpi. Nous avons constaté également que *B. quintana* était éliminée viable dans les fèces et cette élimination diminue progressivement après le 3ème dpi, ce qui a été observé de manière similaire dans le modèle d'infection expérimentale des puces de chat avec *B. quintana* (Kernif et al., 2014). En ce qui concerne la détection de *B. quintana* dans les œufs, les larves L1 et L2, la transmission verticale des espèces de *Bartonella* a été suggéré de se produire, mais les voies de transmission étaient inconnues (Salzar et al., 2014, Morick et al., 2013). L'utilisation de l'IHC nous a permis de localiser la bactérie dans le tube digestif mais pas dans les ovaires se qui explique, peut-être, une transmission non-transovarienne verticale. Dans notre contexte, la transmission s'est produite par contact externe des oeufs, larves L1 et L2 avec *B. quintana* viable éliminée dans les fèces de adultes qui pourraient être fortement considéré comme une transmission horizontale. Cependant Morick et al, ont démontré que les fèces des puces infectées par *Bartonella* sont des sources d'infection appropriées pour les larves de puces et indiquent que cette transmission est considérée comme une transmission transovarienne non verticale (Morick et al 2013).

En conclusion, nous avons montré que les punaises de lit, *C. lectularius* peuvent acquérir *B. quintana* et éliminer des organismes viables dans leurs excréments. Par conséquent, les

punaises de lit peuvent jouer un rôle en tant que vecteurs de la fièvre des tranchées et/ ou d'autres maladies. Sachant que des critères strictes existent dans la recherche biomédicale pour inculper les rôles des agents vivant en tant que réservoirs biologique et / ou vecteurs de plusieurs agents pathogènes (Merritt et al., 2010), d'autres études sont nécessaires pour mieux comprendre la persistance de *B. quintana* dans les punaises de lit et leurs excréments et de comprendre le rôle de vecteur des punaises de lit dans les infections à *B. quintana* et peut-être d'autres infections bactériennes.

Tableau 1. Détection moléculaire par culture, et par immunohistochimie de *B. quintana* dans le repas sanguin, punaises de lit et leur feces.

Trials	Group of bed bugs (n)	Sampling (Quantity)	jour 3 Post-Infection (P.I.)			jour 21 P.I.	
			qPCR		Culture	Immunohisto- chemie	qPCR (<i>fabF3</i>)
			Ct/Bacterie(≈)	No. positive (%)			
Trial 1	G 1(30)	repas [‡] (2ml)	11.36≈6 x 10 ⁸ CFU		+		
		punaises (5)	18.95	5 (100%)	+ ^(§)	+ ^(*)	-
		Feces (≈30mg)	15.35		+ ^(§)		-
	G 2 (30)	repas [‡] (2ml)	11.36≈6 x 10 ⁸ CFU		+		
		punaises (5)	24.64	5 (100%)	ND	+ ^(*)	-
		Feces (≈30mg)	18.21		ND		-
	G 3	repas [‡] (2ml)	-	-	-		
	Control (30)	punaises (5)	-	0 (0%)	-	-	-
		Feces (≈30mg)	-	-	-		-
	G 4	repas [‡] (2ml)	-	-	-		
Control (80)		punaises (5)	-	0 (0%)	ND	-	-
		Feces (≈30mg)	-	-	ND		-
Trial 2	G 1' (30)	repas [‡] (2ml)	22.92≈8 x 10 ⁵ CFU		+		
		punaises (5)	23.63	5 (100%)	+ ^(§)	+ ^(*)	-
		Feces (≈50mg)	27.25		+ ^(§)		-
	G 2' (30)	repas [‡] (2ml)	22.92≈8 x 10 ⁵ CFU		+		
		punaises (5)	25.03	5 (100%)	+ ^(§)	+ ^(*)	-
		Feces (≈50mg)	20.64		+ ^(§)		-
	G3'	repas [‡] (2ml)	-	-	-		
	Control (30)	punaises (5)	0 (0%)	0 (0%)	-	-	-
		Feces (≈50mg)	-	-	-		-
	G 4'	repas [‡] (2ml)	-	-	-		
Control (30)		punaises (5)	0 (0%)	0 (0%)	-	-	-
		Feces (≈50mg)	-	-	-		-

Group 1: 30 infected bed bugs adults; **Group 2:** 30 infected bed bugs instars L1; **Group Control 1:** 30 uninfected bed bugs adults; **Control 2:** 30 uninfected bed bugs instars L1 **No:** number of bed bugs; (+) positive ; (-) negative ; **ND :** Not Done ; (≈): approximately; **qPCR:** Quantitative real-time polymerase chain reaction ; ^(‡) Infected or uninfected blood; ^(*) observed in gut; ^(§) Confirmation by qPCR;

Tableau 1a. Cycle threshold (Ct) et nombre de copies de *Bartonella quintana* détectées par qPCR. *Essai*

Bed bugs	<i>fabF3</i> gene	G1		G2		G3		G4	
		Ct	Copy	Ct	Copy	Ct	Copy	Ct	Copy
Bed bug 1		18,70	1.5E+07	22,02	8.5E+05	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 2		20,20	4.1E+06	21,26	1.6E+06	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 3		17,15	5.8E+07	21,50	1.3E+06	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 4		17,75	3.5E+07	27,78	5.7E+03	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 5		20,95	2.2E+06	30,64	4.8E+02	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Faeces		15,35	2.8E+08	18,21	5.5E+07	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bugs	<i>yopP</i> gene	Ct	Copy	Ct	Copy	Ct	Copy	Ct	Copy
Bed bug 1		18,25	2.2E+07	22,39	6.9E+05	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 2		21,05	2.0E+06	22,75	4.5E+05	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 3		17,50	4.3E+07	20,24	4.0E+06	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 4		16,35	1.2E+08	27,68	6.2E+03	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 5		20,50	3.2E+06	30,54	5.2E+02	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Faeces		15,57	2.3E+08	18,26	2.2E+07	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00

G1: group of infected bed bugs adult, **G2:** group of infected bed bugs instar, **G3:** group of bed bugs adults control, **G4:** group of bed bugs instar control, The conversion of Ct to bacteria number was realized by the regression formula following: $y = -0.377x + 14.236$ ($R^2 = 0.996$) for *fabF3* gene and $y = -0.372x + 14.158$ ($R^2 = 0.996$) for *yopP* gene

Table 1b. Cycle threshold (Ct) et nombre de copies de *Bartonella quintana* détectées par qPCR. *Essai2*

Bed bugs	<i>fabF3</i> gene	G'1		G'2		G'3		G'4	
		Ct	Copy	Ct	Copy	Ct	Copy	Ct	Copy
Bed bug 1		21,41	1.4E+06	21,50	1.3E+06	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 2		20,65	2.8E+06	25,12	5.8E+04	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 3		27,50	7.3E+03	22,50	5.6E+05	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 4		21,63	1.2E+06	23,75	1.9E+05	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 5		26,96	1.2E+04	33,03	6.0E+01	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Feces		27,25	9.1E+03	20,64	2.8E+06	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bugs	<i>yopP</i> gene	Ct	Copy	Ct	Copy	Ct	Copy	Ct	Copy
Bed bug 1		22,46	5.8E+05	22,00	8.7E+05	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 2		20,46	3.3E+06	24,57	9.3E+04	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 3		27,50	7.3E+03	20,98	2.1E+06	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 4		21,73	1.1E+06	23,7	2.01E+05	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Bed bug 5		26,88	1.2E+04	34,15	2.3E+01	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00
Feces		27,18	5.5E+04	22,18	7.4E+05	0.00	0.0E+00	0.00	0.0E+00

G1: group of infected bed bugs adult, **G2:** group of infected bed bugs instar, **G3:** group of bed bugs adult control, **G4:** group of bed bugs instar control, The conversion of Ct to bacteria number was realized by the regression formula following: $y = -0.377x + 14.236$ ($R^2 = 0.996$) for *fabF3* gene and $y = -0.372x + 14.158$ ($R^2 = 0.996$) for *yopP* gene

Legendes des figures

Figure 1: Immunohistochemie et localisation de *B. quintana* dans le tractus digestive des punaises de lit exposées à *B. quintana*.

Figure 2: Persistance de *Bartonella quintana* dans le corps des punaises de lit

Figure 3: Persistance de *Bartonella quintana* dans les fèces.

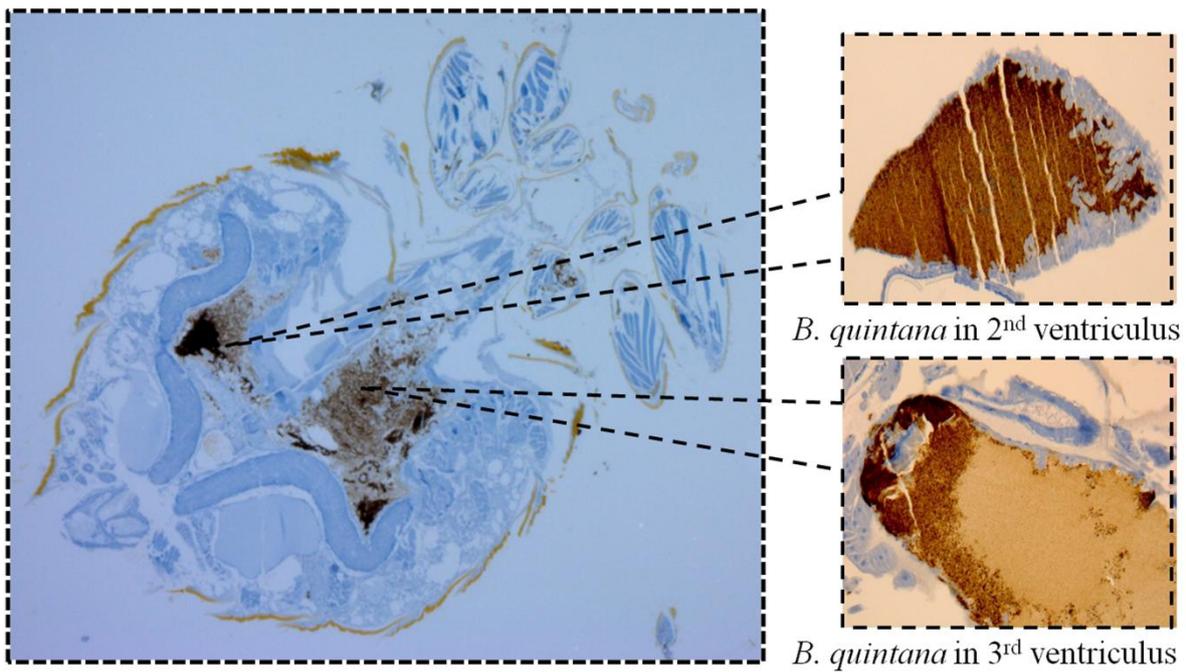


Figure 1: Immunohistochemistry localization of *B. quintana* inside the digestive tract of infected bed bugs.

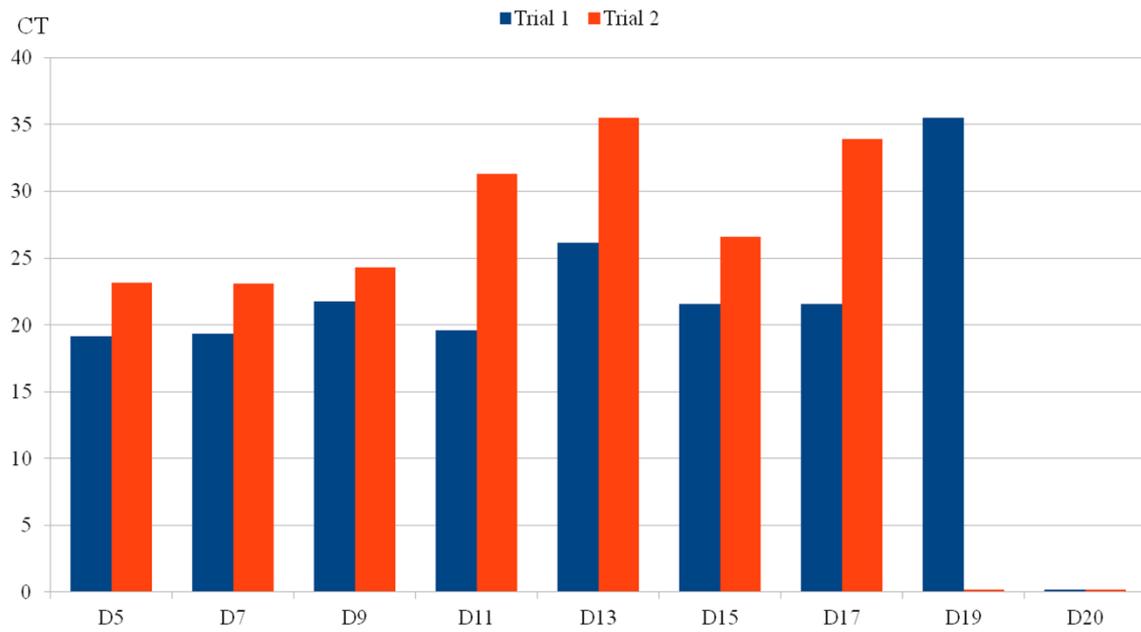


Figure 2: Kinetic persistence of *Bartonella quintana* in the bodies of bed bugs.

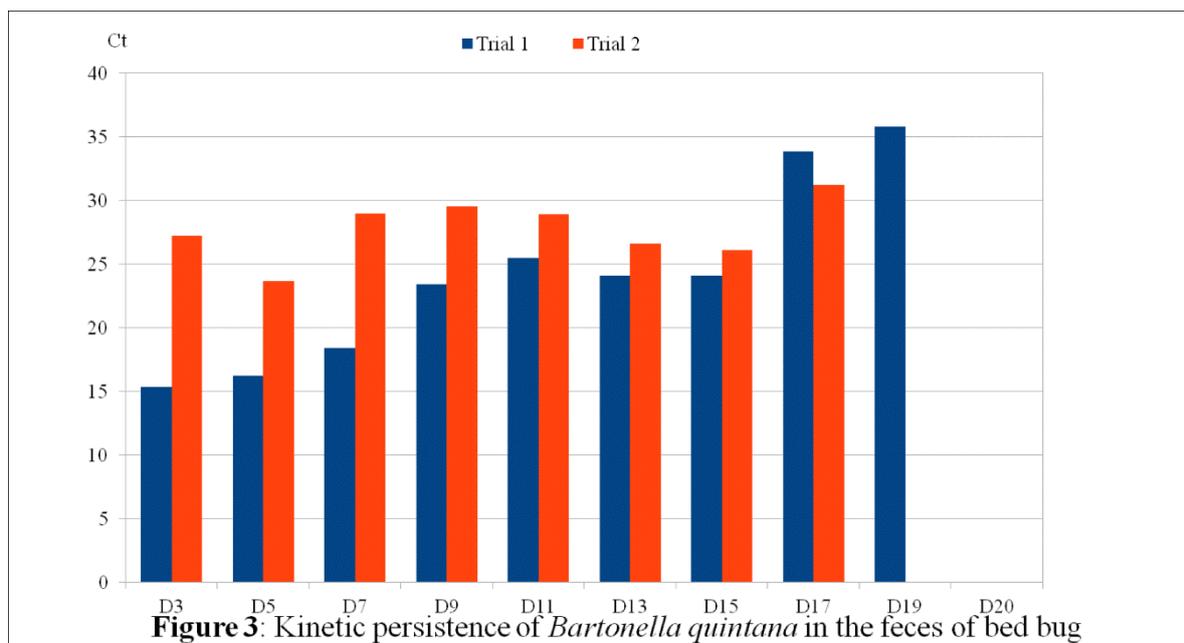


Figure 3: Kinetic persistence of *Bartonella quintana* in the feces of bed bug

III – CONCLUSIONS

Conclusions

Notre travail s'est axé sur deux sujets, le premier a porté sur la surveillance épidémiologique et moléculaire des vecteurs ectoparasites tiques et puces ainsi sur les tissus de plusieurs animaux domestiques et sauvages [Bovins, ovins, caprins, chiens, Sangliers (*Sus scrofa algira*), mangoustes (*Echinomon herpestis*), chacals (*Canis aureus*), chauves souris (*Chiropetera* spp) et porc épics (*Hysterix cristata*) de différentes sites humides d'Algérie.

Les ectoparasites sont des arthropodes qui sont le plus souvent des vecteurs de plusieurs agents pathogènes. Bartonella, Rickettsiae et *Coxiella burnetii* sont des agents pathogènes transmis par les arthropodes dont ils ont une distribution géographique étendue. Nous avons mené une enquête sur les ectoparasites hématophages des mammifères et / ou la rate des animaux sauvages à El Tarf et Souk Ahras, Algérie. Nous avons détecté par qPCR, *Bartonella tamiae* dans des *Ixodes vespertilionis* et dans des Nycteribidae ainsi que dans les rates de six chauves-souris. L'ADN de *Coxiella burnetii* a été également identifié dans des *I. vespertilionis* de chauve-souris. *Rickettsia slovaca* a été détectée dans des *Haemaphysalis punctata* et *Dermacentor marginatus* de sangliers, également *R. massiliae* a été détectée dans des *Rhipicephalus sanguineus* de bovins, d'ovins, de chiens, de sangliers et de chacals. L'ADN de *R. aeschlimanni* était présent dans des *Hyalomma excavatum anatolicum* et *Hy. detritum detritum*. Enfin *R.felis* a été également détecté dans des *Archaeopsylla erinacei* et *Ctenocephalides felis* des hérissons. Dans cette étude, nous avons élargi les connaissances du répertoire des bactéries associées aux tiques et aux puces d'animaux domestiques et sauvages en Algérie. Le deuxième travail de cette partie a intéressé la détection des bactéries sur des tiques dures et molles collectées de façon libre dans les sites d'El Ghora et Seraiidi. Nous avons définitivement confirmé dans ce travail, la présence d'un agent de borreliose de Lyme, *B. garinii* en Algérie, en le détectant dans des *Ixodes ricinus* par l'utilisation des méthodes moléculaires valides telle que la PCR en temps réel et les séquençages. Nous avons confirmé également la détection de *R. monacensis* dans des *Ixodes ricinus* dans l'extrême Est de l'Algérie.

Concernant le deuxième volet de ce travail, nous avons étudié les modèles expérimentaux d'infection des puces et des punaises par l'agent de la fièvre des tranchés, *Bartonella quintana*, et cela pour évaluer leurs compétences vectorielles.

Bartonella quintana est transmise naturellement par les fèces infectés de poux de corps. Récemment, cette bactérie a été détectée dans les puces de chat (*Ctenocephalides felis*) et on enregistré deux cas humains d'adénopathie chronique à *B. quintana* dont le seul facteur de risque identifiés était le contact avec les puces de chat. De ce fait un modèle expérimentale d'infection des puces par *B. quintana* a été mis en place afin d'évaluer leur compétence vectorielle. Dans cette étude, un total de 960 *C. felis* ont été divisés en 12 groupes (2 groupes témoins et 10 groupes infectés) contenant chacun 80 puces. Les puces ont été nourris avec un repas sanguine contenant *B. quintana* à différentes dilutions ($\approx 3.6 \times 10^4$ - 8.4×10^9 bactéries) pour 4 jours via une membrane artificielle. Par la suite, tous les groupes de puces ont été nourris avec du sang non infecté jusqu'au 13 après l'infection (dpi). Au jour 3 dpi, *B. quintana* a été détectée avec deux gènes spécifiques par PCR quantitative en 60 à 100% des puces choisies au hasard par dilution: 52% (26/50) dans les puces infectées dans l'essai 1, et de 90% (45/50) des puces de l'essai 2. *B. quintana* a également été identifiée par des analyses moléculaires et culture dans les excréments des puces. Le nombre moyen de *B. quintana*, tel que déterminé par qPCR diminue jusqu'au 11^{ème} dpi et était absent dans les deux essais au 13^{ème} dpi. Par immunohistochimie, les bactéries ont été localisées dans le tube gastro-intestinal. Nos résultats indiquent que les puces de chat peuvent acquérir *B. quintana* par voie artificielle et excréter des organismes viables dans leurs excréments. Par conséquent, les puces peuvent jouer un rôle important en tant que vecteurs de la fièvre des tranchées ou d'autres manifestations cliniques qui sont causées par *B. quintana*. Cependant, le rôle biologique de *C. felis* dans la transmission de *B. quintana* dans des conditions naturelles est encore à définir.

Une dernière partie de ce deuxième volet a intéressé l'infection des punaises de lit par *B. quintana*. Récemment, cette bactérie a été détectée dans d'autres familles d'arthropodes tels que les punaises de lit, ce qui pose la question de leur implication dans cette transmission. Bien que plusieurs agents pathogènes infectieux ont été signalés et suggérer d'être transmis par les punaises de lit, mais aucune preuve concernant cette compétence vectorielle n'est éclaircie. De ce fait, des punaises de lit (adulte et larves) ont été nourris trois fois avec un repas sanguin inoculé avec *B. quintana* bactérie, dès le premier jour (D1) à D5, par la suite elles étaient nourries avec du sang humain non infecté jusqu'à la fin de l'expérience. Les punaises de lit et les matières fécales ont été prélevés dans des séries chronologiques, afin d'évaluer leurs capacités à acquérir, multiplier et éliminer des viable *B. quintana*, et cela en utilisant la

biologie moléculaire, l'immunohistochimie et les cultures. *B. quintana* a été détectée sur 100% des punaises de lit exposées à *B. quintana* (D3). Le suivi de *B. quintana* au niveau des excréments a montré que la bactérie était détectable dès le 3ème jour (dpi) et a persisté jusqu'à 18 ± 1 dpi. Bien que des dosages immunohistochimiques localisent les bactéries dans le tractus gastro-intestinal de la punaise de lit, mais la détection de *B. quintana* dans les premiers et seconds stades larvaire a suggéré une transmission verticale non transovarienne de la bactérie.

L'ensemble de ces resultants ont fait l'objet de 4 articles, soumis ou publiés, dans des journaux internationaux, impactés et indexés (**Parasites and vector**: impact factor: **3.25**, **PLos Neglected and Tropical Diseases**: impact factor: **4.96**, **Molecular Ecology**: impact factor: 5.84, **Emerging Infectious Diseases**: impact factor **7.327**).

IV – RÉFÉRENCES

- Akardjoudje S et Cossart S A. Etude de la biologie de l'infection à Bartonella de bovins du Pas De Calais, Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, n° 61, 178P., 2003.
- Alcalay M., Debiais F. La maladie de Lyme, *Rev. Prat*, 44, 1611-1619P., 1995.
- Alem A, Hadji N. Etude clinico-serologique de la maladie de Lyme en Algérie (1996-1999) . Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie, 1999.
- Ambroise-Thomas P. Association Française des Professeurs de Parasitologie. Parasitologie-Mycologie ANNO'FEL : Maladies parasitaires et fongiques. 4^{ème} Édition C et R.: 369-373P., 1990.
- Anderson BE, Neuman MA (1997) *Bartonella* spp. As emerging human pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, **10**, 203-219.
- Andre-Fontaine G., Ruveon-Clouet N et Ganiere JP. : La borréliose de Lyme, *Point Vét.* 27, 319-323P., 1995.
- Angelakis E, Rolain JM, Raoult D, Brouqui P (2011) *Bartonella quintana* in head louse nits. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, **62**, 244-246.
- Angelakis, E., Mediannikov, O., Socolovschi, C., Mouffok, N., Bassene, H., Tall, A., Niangaly, H., Doumbo, O., Znazen, A., Sarih, M., Sokhna, C., Raoult, D., 2014. Coxiella burnetii-positive PCR in febrile patients in rural and urban Africa. *Int. J. Infect. Dis.* 28, 107-110.
- Angelakis, E., Raoult, D., 2014. Pathogenicity and treatment of Bartonella infections. *Int. J. Antimicrob. Agents* 44, 16-25.
- Angelakis, E., Rolain, J.M., Raoult, D., Brouqui, P., 2011. *Bartonella quintana* in head louse nits. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 62, 244-246.
- Angelakis, E., Socolovschi, C., Raoult, D., 2013. Bartonella quintana in Cimex hemipterus, Rwanda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 89, 986-987.
- Assous., Parola P et Rolain JM. Microbiologie et pathologie infectieuse ; Edition ©De Boeck Université, Paris, Bruxelles. 345-348-360-361P., 1999.
- Azad AF et Beard CB. Les agents pathogènes rickettsies et leurs vecteurs arthropodes. *Emerg Infect Dis* 4: 179-86P., 1998.

- Azad AF et Radulovic S. Les rickettsies pathogènes comme agents de bioterrorisme. *Ann NY Acad Sci* 990 ; 734-738P., 2003.
- Bacot, A.W., 1915. LXXXII. Notes on the development of *Bacillus pestis* in bugs (*Cimex lectularius*) and their power to convey infection. *J. Hyg. (Lond)* 14, 777-792.
- Bai, Y., Kosoy, M., Recuenco, S., Alvarez, D., Moran, D., Turmelle, A., Ellison, J., Garcia, D.L., Estevez, A., Lindblade, K., Rupprecht, C., 2011. *Bartonella* spp. in Bats, Guatemala. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1269-1272.
- Baneth, G., 2014. Tick-borne infections of animals and humans: a common ground. *Int. J. Parasitol.* 44, 591-596.
- Baranton GD., Postic D., Saint-Girons I., Boerlin P., Piffaretti JC, Assous M et Grimont P. Delineation of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* sp nov., and group VS 461 associated with Lyme borreliosis, *Intern. J. Systematic Bacteriol*, 42, 378-383P., 1992.
- Baud'hui B. Les parasites de la caille des blés (*Coturnix coturnix*). Mémoire de Magister. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 113P., 2003.
- Beaucournu JC et Launay H. Les puces (*Siphonaptera*) de France et du bassin méditerranéen occidental. Faune de France et région limitrophe. *Féd. Fr. Soc. Sc.*, Paris, n°76, 550P., 1990.
- Bedoussa A. Borréliose de lyme, cahier de formation Bioforma. 101P., 2005.
- Benakhla A., Duvallet G. Changements climatiques et maladies à transmission vectorielle: enjeux pour la société. Les 9^{ème} journée des sciences vétérinaires ENVS" les maladies vectorielles impact sur la santé humaine et animale", 2011.
- Benchikh-Elfegoun MC., Benakhla A., Bentounsi B., Bouattour A et Piarroux R. Identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de Taher (Jijel) Algérie. *Ann. Méd. Vét*, 151, 209-214P., 2007.
- Bessis D. Manifestations dermatologiques des maladies infectieuses, métaboliques et toxiques éditions Springer- Verlag Vol 2 France Paris 26.1-27P., 2008.
- Beugnet F., Boulouis HJ., Chabanne L., Clement M.-L., Davoust B., Haddad N., Marotel M et Vayssier M., Approche clinique des maladies vectorielles des carnivores domestiques, *La Dépêche Technique*, Supplément technique à la Dépêche Vétérinaire, n° 99, 42P., 2006.

- Birtles R.J., Canales J., Ventosilla P., Alvarez E., Guerra H., Llanos-Cuentas A., Raoult D., Doshi N et Harrison TG. Survey of *Bartonella* species infecting intradomicillary animals in the huayllacallan valley, ancash, Peru, a region endemic for human bartonellosis, *Am J Trop Med Hyg.*, 60, 799-805P., 1999.
- Bitam I, Dittmar, K., Raoult D., Parola, P et Witing MF. Fleas and flea-borne diseases. *International journal of infectious diseases.* 1-10P., 2010.
- Bitam I et Raoult D. Lyme borreliosis biological and clinical Aspect, current Problems in Dermatology, Vol37 series editor Pitin Basel; 130 140P., 2009.
- Bitam I., Baziz B., Parola P., Rolain J.M., Matsumoto K., De La Cruz K., Belkaid M. et Raoult D: First Molecular Detection of de *Rickettsia conorii*, *Rickettsia aeschlimannii*, and *Rickettsia massiliae* in Ticks from Algeria. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1078, 368-372P., 2006b.
- Bitam I., Baziz B., Rolain JM., Belkaid M et Raoult D. Zoonotic Focus of Plague in Algeria. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 12., 2006c.
- Bitam I., Parola P., De La Cruz K.D., Matsumoto K., Baziz B., Rolain J-M., Belkaid M. et Raoult D.: First Molecular detection of *Rickettsia felis* in fleas from Algeria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 74(4), 532-535P. 2006a.
- Bitam, I., 2012. Vectors of rickettsiae in Africa. *Ticks. Tick. Borne. Dis.* 3, 382-386.
- Bitam, I., Dittmar, K., Parola, P., Whiting, M.F., Raoult, D., 2010b. Fleas and flea-borne diseases. *Int. J. Infect. Dis.* 14, e667-e676.
- Black WC., Klompen JSH et Keirans JE. Phylogenetic relationships among tick subfamilies (Ixodida: Ixodidae: Argasidae) based on the 16S nuclear rDNA gene. *Mol Phylogenet Evol*; 7:129-144P., 1997.
- Blary A. Les maladies bovines autres que la piroplasme transmises par les tiques dures : inventaire des vecteurs en cause dans 15 exploitations laitières de l'Ouest de la France, Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes, n°110., 2004.
- Blondel J. *Biogéographie et écologie*. Ed. Masson, Paris, 173P., 1979.
- Blow, J.A., Turell, M.J., Silverman, A.L., Walker, E.D., 2001. Stercorarial shedding and transtadial transmission of hepatitis B virus by common bed bugs (Hemiptera: Cimicidae). *J. Med. Entomol.* 38, 694-700.

- Bonilla DL, Kabeya H, Henn J, Kramer VL, Kosoy MY (2009) *Bartonella quintana* In body lice and head lice from homeless persons, San Francisco, California, Usa. *Emerging Infectious Diseases*, 15, 912-915.
- Bonilla, D.L., Kabeya, H., Henn, J., Kramer, V.L., Kosoy, M.Y., 2009. *Bartonella quintana* in body lice and head lice from homeless persons, San Francisco, California, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 15, 912-915.
- Bouattour A, Ghorbel A, Chabchoub A, Postic D. [Lyme borreliosis situation in North Africa]. *Arch Inst Pasteur Tunis* 2004;81(1-4):13-20.
- Boudes A et Parola P. *Rickettsia*. *Revue francophone des laboratoires*, 391, 23-32P., 2007.
- Bougherara A. Identification et suivi des paysages et de leur biodiversité dans la wilaya d'El Tarf. *Revue Télédétection* vol. 9, n° 3-4, 225-243P., 2010.
- Bouhsira E, Ferrandez Y, Liu M *et al.* (2013a) *Ctenocephalides felis* an in vitro potential vector for five *Bartonella* species. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, **36**, 105-111.
- Bouhsira E, Franc M, Boulouis HJ, Jacquet P, Raymond-Letron I, Liénard E. (2013b) Assessment of Persistence of *Bartonella henselae* in *Ctenocephalides felis*. *Applied and Environmental Microbiology*, **79**, 7439-7444.
- Bouhsira, E., Ferrandez, Y., Liu, M., Franc, M., Boulouis, H.J., Biville, F., 2013. *Ctenocephalides felis* an in vitro potential vector for five *Bartonella* species. *Comp Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 36, 105-111.
- Boulkaboul A. Parasitismes des tiques des bovins à Tiaret Algérie. *Rev Elv.Med Vet.*65 3-4P, 2003.
- Boulouis H.J., Haddad N., Maillard R., Marignac G et Vayssier-Taussat M. Les infections à *Bartonella* chez l'homme et l'animal : aspects diagnostiques et thérapeutiques. *Revue francophone des laboratoires*, 391, 33-40P., 2007.
- Boulouis HJ et Chomel B. Actualités sur les bartonelloses, *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 183 (7), 1399-1412P., 1999.
- Boulouis HJ., Chang CC., Henn JB., Kasten RW et Chomel BB. Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections, *The Veterinary Research*, 36, 383-410P., 2005.

- Boulouis HJ., Maillard R., Halos L., Vayssier-Taussat M et Chomel B. Zoonoses, les infections à *Bartonella* chez les mammifères, *Le Nouveau Praticien Vétérinaire* n° 24, 30-34P., 2005.
- Boulouis HJ., Geneviève M., Hadad N., Renaud M et Chomel B. Les animaux réservoirs et victimes des *Bartonella*. Bull. Acad. Vét. France 2008 - Tome 161 - N°3 www.academie-veterinaire-defrance.org/, 2008.
- Bourdeau P. Les tiques d'importance vétérinaire et médicale, deuxième partie : principales espèces de tiques dures (Ixodida et Amblyommidae), *Le Point Vétérinaire*, 25 (151), 27-41P., 1993.
- Bourée P. Aide-mémoire de parasitologie et de pathologie tropicale ; 3^{ème} édition : Flammarion Médecine-sciences. Paris. 4-189-209P. 2001.
- Bowman DB. Georgi's parasitology for veterinarians. 9th Edition. Saunders Elsevier, St Louis, 451P., 2009.
- Breitschwerdt EB et Kordick DL. *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity and zoonotic potential for human infection, *Clinical Microbiology Reviews*, 13 (3), 428-438P., 2000.
- Breitschwerdt EB., Kordick DL., Malarkey DE., Keene B., Hadfield TL et Wilson K. Endocarditis in a Dog Due to Infection with a Novel *Bartonella* Subspecies. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 33, No 1, 154-160P., 1995.
- Brenner D J., O'Connor S P., Winkler HH et Steigerwalt AG. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov., and to remove the family *Bartonellaceae* from the order *Rickettsiales*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 43, 777-786P., 1993.
- Brossard M. Relations immunologiques entre l'animal et la tique *Ixodes ricinus*. Laboratoire d'immunologie parasitaire de l'université de Neuchâtel - Suisse. Article., 2002.
- Brouqui P, Lascola B, Roux V, Raoult D (1999) Chronic *Bartonella quintana* bacteremia in homeless patients. *New England Journal of Medicine*, **340**, 184-189.
- Brouqui P. Ehrlichiosis in Europe, in *Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millennium*, P. Brouqui, Editor. Elsevier: Paris. 220-232P., 1998.

- Brouqui, P., La Scola, B., Roux, V., Raoult, D., 1999. Chronic *Bartonella quintana* bacteremia in homeless patients. *New Engl J Med* 340, 184-189.
- Bussiéras P., Chermette R. Abr ge de parasitologie vétérinaire (fascicule IV : Entomologie vétérinaire). Edition Maison Elford; 37-51 ; 89-96P., 1991.
- Bussiéras P., Chermette R. Parasitologie vétérinaire protozoologie. 300 P., 1992.
- Byam W, Lloyd LL (1920) Trench Fever: Its epidemiology and endemiology. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, **13**, 1-27.
- C.C.L.I.N. Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'Inter région Paris – Nord. . Lutte contre les Ectoparasites et Agents Nuisibles en milieu hospitalier : Guide de bonnes pratiques, 127P., 2001.
- Camicas JL., Hervy JP., Adam F et Morel PC. Les tiques du monde (*Acarida, Ixodidae*) ; Nomenclature des stades, hôtes et répartition. Orstom Paris; 227-233., 1998.
- Chang CC Y., Novosol V., Mcdonough SP., Chang CF., Jacobson RH., Divers T., Quimby FW., Shin S., Lein DH.: Vaccination against lyme disease with recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface protein A (rOspA) in horses, *Vaccine*, 18, 540-548P., 1999.
- Chang CC, Chomel BB, Kasten RW, Romano V, Tietze N (2001) Molecular evidence of *Bartonella* spp. in questing adult *Ixodes pacificus* ticks in California. *Journal of Clinical Microbiology*, **39**, 1221-1226.
- Chang CC., Chomel BB., KastenS RW., Heller R., Kocan KM et Ueno H. *Bartonella* spp. isolated from wild and domestic ruminants in North America, *Emerging Infectious Diseases*, 6 (3), 306-311P., 2000.
- Chanourdie E. Les tiques : Relation morsure-rôle vecteur, Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes, n 38., 2001.
- Chartier C., Itard J., Troncy PM et Morel PC. Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Editions Médicales Internationales (coll. Universités Francophones), Paris, France; 451-768P., 2000.
- Chauvet S. Etude dynamique des populations de tique dans les élevages bovins en Corrèze, Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes., 2004.
- Chauvet S. Les tiques bovines : biologie, répartition et rôle vecteur, *Le Point Vétérinaire*, 36 (255), 22-28P., 2005.

- Chomel BB, Kasten RW, Floyd-Hawkins K *et al.* (1996) Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. *Journal of Clinical Microbiology*, **34**, 1952-1956.
- Chomel BB, Boulouis HJ, Maruyama S, Breitschwerdt EB (2006) *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. *Emerging Infectious Diseases*, **12**, 389-394
- Chomel, B.B., Boulouis, H.J., Breitschwerdt, E.B., Kasten, R.W., Vayssier-Taussat, M., Birtles, R.J., Koehler, J.E., Dehio, C., 2009. Ecological fitness and strategies of adaptation of *Bartonella* species to their hosts and vectors. *Vet. Res.* 40, 29.
- Chomel, B.B., Kasten, R.W., 2010. Bartonellosis, an increasingly recognized zoonosis. *J. Appl. Microbiol.* 109, 743-750.
- Chomel, B.B., Kasten, R.W., Sykes, J.E., Boulouis, H.J., Breitschwerdt, E.B., 2003. Clinical impact of persistent *Bartonella* bacteremia in humans and animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 990, 267-278.
- Cleenewerck MB et Frimat P. Progrès en dermato-allergologie. John libbey-EUROTEXT, Lille, 415p., 2004.
- Concannon, R., Wynn-Owen, K., Simpson, V.R., Birtles, R.J., 2005. Molecular characterization of haemoparasites infecting bats (Microchiroptera) in Cornwall, UK. *Parasitology* 131, 489-496.
- Cummings GS. Host preference in African ticks (Acari: Ixodida) : a quantitative data set. *Bull. Entomol. Res*, 88, 379- 406P., 1998.
- Danis M et al. Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. Edition ELSEVIER MASSON, les Moulineaux Cedex. 193-195-200-201-202P., 2007.
- Davoust B., Mediannikov O, Marié JL, Socolovschi C, Parola P et Raoult D. Les animaux vertébrés sont-ils réservoirs de rickettsies? Cours de l'unité de recherche en maladies infectieuses et tropicales émergentes (URMITE), UMR CNRS IRD 6236, Faculté de médecine de Marseille., 2010.
- De Marval F. Les tiques. Revue Information scientifique. laboratoire Bio analytique de Riotton / Genève-Suisse. *Edition Unilabs.*, 2000.
- Dehio C. Molecular and cellular basis of *Bartonella* pathogenesis, *Annual Review of Microbiology*, 58, 365-390P., 2004.
- Dehio C., Sauder U et Hiestand R., Isolation of *Bartonella shoenbuchensis* from *Lipoptena cervi*, a blood-sucking arthropod causing deer ked dermatitis, *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (11), 5320-5323P., 2004.

- Delaunay, P., Blanc, V., Del, G.P., Levy-Bencheton, A., Chosidow, O., Marty, P., Brouqui, P., 2011. Bedbugs and infectious diseases. *Clin. Infect. Dis.* 52, 200-210.
- Delcroix T et Barbazange F., *Infection à Bartonella dans un élevage bovin laitier des Yvelines ; épidémiologie et conséquences sur la reproduction*, Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, n° 4, 137P., 2003.
- Delfore PM. Contribution à l'étude des puces du chat : enquête épidémiologique en France. Thèse de doctorat vétérinaire, Université PAUL-Sabatier, Toulouse, 72 P., 2001.
- Dib L, Bitam I, Bensouilah M, Parola P, Raoult D. First description of *Rickettsia monacensis* in *Ixodes ricinus* in Algeria. *Clin Microbiol Infect* 2009 Dec;15 Suppl 2:261-2.
- Doby JM., Betremieux C., Rolland C et Barrat J. Les grands mammifères forestiers, réservoirs de germes pour *Borrelia burgdorferi*, agent de la maladie de Lyme, *Rec. Med. Vét*, 167, 55-61P., 1991.
- Doggett, S.L., Dwyer, D.E., Penas, P.F., Russell, R.C., 2012. Bed bugs: clinical relevance and control options. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 164-192.
- Drancourt M et Raoult D. Taxonomic position of the Rickettsiae: Current knowledge. *FEMS Microbiol. Rev.*, 13, 13-24P., 1994.
- Drancourt M, Mainardi JL, Brouqui P *et al.* (1995) *Bartonella (Rochalimaea) quintana* endocarditis in three homeless men. *New England Journal of Medicine*, **332**, 419-423.
- Drancourt M, Moal V, Brunet P *et al.* (1996) *Bartonella (Rochalimaea) quintana* infection in a seronegative hemodialyzed patient. *Journal of Clinical Microbiology*, **34**, 1158-1160.
- Drancourt, M., Mainardi, J.L., Brouqui, P., Vandenesch, F., Carta, A., Lehnert, F., Etienne, J., Goldstein, F., Acar, J., Raoult, D., 1995. *Bartonella (Rochalimaea) quintana* endocarditis in three homeless men. *N. Engl. J. Med.* 332, 419-423.
- Drancourt, M., Tran-Hung, L., Courtin, J., Lumley, H., Raoult, D., 2005. *Bartonella quintana* in a 4000-year-old human tooth. *J. Infect. Dis.* 191, 607-611.
- Duchemin JB., Fournier PE et Parola P. Les puces et les maladies transmises à l'homme. *Médecine Tropicale*; 21-29P., 2006.

- Dumler JS., Asanovich KM., et Bakken JS. Analysis of genetic identity of North American *Anaplasma phagocytophilum* strains by pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol.*, 41(7), 3392-3394P., 2001.
- Dunnet GM. Siphonaptères, les insectes de l'Australie. Manuel pour étudiants et chercheurs, 2^{ème} édition Melbourne. CSIRO et Melbourn University Press; 125-40P., 1999.
- Duval X., Chosidow O et Tissot-Dupont H. Signes cutanés des rickettsies et micro-organismes apparentés. *Rev Méd Interne*, 19; 548-557P., 1998.
- Dworkin MS., Shoemaker PC et Anderson DE. Tick paralysis: 33 human cases in Washington state, 1946-1996. *Clin Infect Dis*; 29:1435-1439P., 1999.
- Eddy, C., Jones, S.C., 2011. Bed bugs, public health, and social justice: Part 1, A call to action. *J. Environ. Health* 73, 8-14.
- Eisen, R.J., Gage, K.L., 2012. Transmission of flea-borne zoonotic agents. *Annu. Rev. Entomol.* 57, 61-82.
- Estrada-Peña A et al., Ticks of domestic animals in the Mediterranean region ICTTD University of Zaragoza. 131P., 2004.
- Estrada-Pena A, Bouattour A, Camicas JL, Walker AR. Ticks of domestic animals in the Mediterranean region. 2004.
- Etienne J. Biochimie, génétique et biologie moléculaire. 6ème édition MASSON, Paris, 505P., 2000.
- EUZÉBY JP. Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. [en-ligne], créée le 29 janvier, [www.bacterio.cict.fr/bacdico/bb/chomelii.html], 2004.
- Euzéby JP. Les dermatoses parasitaires d'origine zoonotique dans les environnements de l'homme; 31- 49P., 2003.
- Euzéby JP. Parasites sanguins, diagnostic biologique. Edition ; Bioforma. Paris. 327-347 P., 2001.
- Fikrig E., Feng W., Aversa J., Schoen RT et Flavell RA. : Differential expression of *Borrelia burgdorferi* genes during erythema migrans and Lyme arthritis, *J. Inf. Dis*, 178, 1198-1201P., 1998.
- Flandrois JP., R Courcol., JP, Ramuz., Jsirot CJ et SOUSS SY. Bactériologie médicale. Collection AZAY., 1997.

- Fleury F et Zenner L. Projet de recherche; Diversité et conséquences épidémiologiques de l'infection des Arthropodes vecteurs de pathogènes par des bactéries symbiotiques cas: acariens hématophages. Université Claude Bernard Lyon1., 2007.
- Foil L, Andress E, Freeland RL *et al.* (1998) Experimental infection of domestic cats with *bartonella henselae* by inoculation of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) feces. *Journal of Medical Entomology*, **35**, 625-628.
- Foucault C, Barrau K, Brouqui P, Raoult D (2002) *Bartonella quintana* bacteremia among homeless people. *Clinical Infectious Diseases*, **35**, 684-689.
- Foucault C, Brouqui P, Raoult D (2006) *Bartonella quintana* characteristics and clinical management. *Emerging Infectious Diseases*, **12**, 217-223.
- Fournier PE, Couderc C, Buffet S, Flaudrops C, Raoult D (2009) Rapid and cost-effective identification of *Bartonella* species using mass spectrometry. *Journal of Medical Microbiology*, **58**, 1154-1159.
- Fournier PE., Dumler JS., Greub G., Zhang J et Wu Y. Critères pour l'identification de nouveaux *Rickettsia* isolats basée sur une séquence génique et la description de *heilongjiangensis Rickettsia* sp. *J Clin Microbiol* 41; 5456-5465P., 2003.
- Fournier PE., Raoult D., Abboud P et Caron F. First documented human *Rickettsia aechlimanni* infection. *Emerg infec dis.* 8: 748, 749P.extrait IFR48., 2001.
- Franc M. Les puces du chien et du chat. *Insectes*.143 : 1-3P., 2006.
- Franc M. Puces et méthodes de lutte *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 13 (4), 1019-1037P., 1994.
- François Jb. les tiques chez les bovins en France. thèse de doctorat en pharmacie Nantes ; 21-26P., 2008.
- Fraser CM et al. Genomic sequence of a Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, *Nature*, 390, 580-58P., 1997.
- Gaëlle MM. Maladie de Lyme chez les bovins, contribution au diagnostic sérologique. Thèse de doctorat vétérinaire, Créteil., 2006.
- Gary M., Jones KN et English JC., 3rd Review of common therapeutic options in the United States for the treatment of lice. *Clin Infect Dis* ; 36: 1355–61P., 2009.
- Gentlini M. Médecine tropicale. Flammarion médecine sciences, Paris, 381-382P (402)., 1993.

- Goddard, J., deShazo, R., 2009. Bed bugs (*Cimex lectularius*) and clinical consequences of their bites. *JAMA* 301, 1358-1366.
- Goddard, J., Varela-Stokes, A., Smith, W., Edwards, K.T., 2012. Artificial infection of the bed bug with *Rickettsia parkeri*. *J. Med. Entomol.* 49, 922-926.
- Golvan YJ. *Elément de parasitologie médicale*. Falammation et Cie, 390-397 1540P., 1983.
- Grassé PP et Doumenc D. *Zoologie des Invertébrés*. 6^{ème} édition ; Edition ©Dunod. Paris. 177., 2000.
- Green CE., Forsthuber, T., Tary-Lehmann, M., Etling, C., Ito K., Nagy, ZA., Field JA., Steere, AC et Huber BT. Identification of Lfa-1 as a candidate autoantigen in treatment resistant Lyme arthritis. *Science* 281, 703–706.1989.
- Grindem CB et al. Platelet-associated immunoglobulin (antiplatelet antibody) in canine Rocky Mountain spotted fever and Ehrlichiosis. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 35, 56-61P. In Shaw et al., 2001., 1999.
- Gross, L. How Charles Nicolle of the Pasteur Institute discovered that epidemic typhus is transmitted by lice: reminiscences from my years at the Pasteur Institute in Paris. *Proc Natl Acad Sci U S A*/ 93: 10539-10540P., 1996.
- Guezlane L. Mot du directeur. Les 9^{ème} journée des sciences vétérinaires ENVS" les maladies vectorielles impact sur la santé humaine et animale"., 2011
- Hackstadt T. La biologie des rickettsies. *Agents Infect & Disease* 5; 127-143 P., 1996.
- Haert T et Shaers P. *Atlas de poche de microbiologie*. Edition-Médecine Science-Flammation. Paris. 300; (284-286P)., 1997.
- Halos SL., Ja;al T., Maillard R., GirardI B., Guillot J et Chomel B. Role of Hippoboscidae flies as potential vectors of *Bartonella spp.* infecting wild and domestic ruminants, *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (10), 6302-6305P., 2004.
- Harms, A., Dehio, C., 2012. Intruders below the radar: molecular pathogenesis of *Bartonella spp.* *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 42-78.
- Harrus S et Bark H. Canine Lyme borreliosis in Israel. *Isr. J. Med. Sci.* 30, 912-914P. In Baneth et al. (1998)., 1994.
- Harvey WT et Salvato P. "Lyme disease "ancient engine of an unrecognized borreliosis pandemic, *Med. Hypoth*, 60, 742-759P., 2003.

- Hengge UR., Tannapfel A., Tying SK., Erbel R., Arendt G et Ruwicka T. : Lyme disease, *Lancet Infect. Dis*, 3, 489-500P., 2003.
- Higgins JA, Radulovic S, Jaworski DC, Azad AF (1996) Acquisition of the cat scratch disease agent *Bartonella henselae* by cat fleas (Siphonaptera:Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, **33**, 490-495.
- Hogue CL. Latin american insects and entomology; University of California, Los Angeles; 521., 1993.
- How, Y.F., Lee, C.Y., 2010. Survey of bed bugs in infested premises in Malaysia and Singapore. *J. Vector. Ecol.* 35, 89-94.
- Huang R, Liu Q, Li G, Li D, Song X, Birtles RJ (2011) *Bartonella quintana* infections in captive monkeys, China. *Emerging Infectious Diseases*, **17**, 1707-1709.
- Huber K. Tiques et maladies transmises "contrôle des maladies exotiques et émergentes" UMR 1309 INRA/CIRAD. 12 Module Entomo ; 1-104P., 2010.
- Humair PF et Gern L. The wild hidden face of Lyme borreliosis in Europe, *Microb. Inf*, 2, 915-922P., 2000.
- Hwang, S.W., Svoboda, T.J., De Jong, I.J., Kabasele, K.J., Gogosis, E., 2005. Bed bug infestations in an urban environment. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 533-538.
- IFR48. Autres bactéries du genre bartonella. Unité des Rickettsies de Marseille, France (Sur le site www.ifr48.fr), 2006.
- Jaulhac B et Monteil H.:Actualités du diagnostic microbiologique des infections à *Borrelia burgdorferi*, *La lettre de l'infectiologue*, 3, 87-93P., 1997.
- Jensen WA., Fall MZ., Rooney J., Kordick DL et Breitschwerdt EB. Rapid identification and differentiation of *Bartonella* species using a single-step PCR assay, *J Clin Microbiol.*, 38, 1717-1722P., 2000.
- Joblet C., Roux V., Drancourt M., Gouvernet J et Raoult D. Identification of *Bartonella (Rochalimaea)* species among fastidious gram negative bacteria on the basis of the partial sequence of the citrate-synthase gene, *J. Clin. Microbiol.*, 33, 1879-1883P., 1995.
- John J et Halperin MD. Lyme disease, an Evidence-based Approach. *Atlantic Neurosciences Institute, New Jersey And Mount Sinai School of Medicine, New York.*, 2011.

- Jordansky, Klodnitzky, 1906. Conservation du bacille pesteux dans le corps des punaises. *Annales de l'Institut Pasteur* XXII, P.457.
- Jupp, P.G., Lyons, S.F., 1987. Experimental assessment of bedbugs (*Cimex lectularius* and *Cimex hemipterus*) and mosquitoes (*Aedes aegypti formosus*) as vectors of human immunodeficiency virus. *AIDS* 1, 171-174.
- Jupp, P.G., McElligott, S.E., 1979. Transmission experiments with hepatitis B surface antigen and the common bedbug (*Cimex lectularius* L). *S. Afr. Med. J.* 56, 54-57.
- Jupp, P.G., Prozesky, O.W., McElligott, S.E., Van Wyk, L.A., 1978. Infection of the common bedbug (*Cimex lectularius* L) with hepatitis B virus in South Africa. *S. Afr. Med. J.* 53, 598-600.
- Kass EM., Szaniawski WK et Lewy H. Rickettsial pox in New York city hospital, 1980 to 1989. *N Engl J Med.* (331), 1612-1617P. In Duval X (2001)., 1994.
- Kaufmann P., Gourreau JM., Joncour G., Boulouis HJ. Ehrlichiose, borréliose de Lyme et staphylococcie, *Bull. GTV* (sept), 21, 72., 2003.
- Kazar, J., 2005. *Coxiella burnetii* infection. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1063, 105-114.
- Keita A. *La borréliose de Lyme en France : enquête sérologique chez le chien. Comparaison de deux méthodes : ELISA et Western blot*, Thèse Med. Vét., Toulouse, n°030., 1994.
- Keita, A.K., Socolovschi, C., Ahuka-Mundeke, S., Ratmanov, P., Butel, C., Ayouba, A., Inogwabini, B.I., Muyembe-Tamfum, J.J., Mpoudi-Ngole, E., Delaporte, E., Peeters, M., Fenollar, F., Raoult, D., 2013. Molecular evidence for the presence of *Rickettsia Felis* in the feces of wild-living African apes. *PLoS. One.* 8, e54679.
- Kelly PJ., Davoust B., Gomez J., Raoult D et La Scola B., *Bartonella bovis* in cattle in Africa, *Veterinary Microbiology*, 105 (2), 155-156P., 2005.
- Kernif T, Aissi M, Doumendji SE, Chomel BB, Raoult T D, Bitam I. Molecular evidence of *Bartonella* infection in Domestic Dogs from Algeria, North Africa, by Polymerase Chain Reaction (PCR). *Am J Trop Med & Hyg.*, 2007.
- Kernif T, Stafford K, Coles GC *et al.* (2013) The response of artificially reared cat fleas "*Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835)" to different mammalian bloods. *In revision in Medical and Veterinary Entomology*

- Kernif T., Doumandji SE et Bitam I. La dynamique des tiques (*Acari-Ixodidae*) en Algérie (2001 à 2009), XIIIème journée nationale de Parasitologie-Mycologie SAPMM., 2009.
- Kernif, T., Leulmi, H., Socolovschi, C., Berenger, J.M., Lepidi, H., Bitam, I., Rolain, J.M., Raoult, D., Parola, P., 2014. Acquisition and excretion of *Bartonella quintana* by the cat flea, *Ctenocephalides felis felis*. *Mol. Ecol.* 23, 1204-1212.
- Klompen JSH., Black WC., Keirans JE et Oliver JH. Evolution of ticks. *Annu Rev Entomol*; 41:141-161P., 1996.
- Kordick SK., Hilyard E.J., Hadfield T.L., Wilson K.H., Steigerwalt A.G., Brenner D.J. et Breitschwerdt EB. *Bartonella clarridgeiae*, a newly recognized zoonotic pathogen causing inoculation papules, fever, and lymphadenopathy (cat scratch disease). *J. Clin. Microbiol.*, 35 (7), 1813-1818P., 1997.
- Kosoy, M., Bai, Y., Lynch, T., Kuzmin, I.V., Niezgod, M., Franka, R., Agwanda, B., Breiman, R.F., Rupprecht, C.E., 2010. *Bartonella* spp. in bats, Kenya. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 1875-1881.
- Kostrzewski J (1949) The epidemiology of trench fever. *Bull Acad Pol Sci (Med)*, 7, 233–263.
- Krämer F et Mencke N. *Fleas Biology and Control, the Biology of the Cat Fleas Control and Prevention with Imidacloprid in Small Animals*. Springer; 205P., 2001.
- Kurtenbach K., De Michellis S., Etti S., Schaffer SM., Sezell HS., Brade D et Kraiczky P. Host association of *Borrelia burgdorferi sensu lato*- the key role of host complement, *Trends Microbiol.* 10, 74-79P., 2002.
- La Scola B, Fournier PE, Brouqui P, Raoult D (2001) Detection and culture of *Bartonella quintana*, *Serratia marcescens* and *Acinetobacter* spp. from decontaminated human body lice. *Journal of Clinical Microbiology*, 39, 1707-9.
- La VD, Tran-Hung L, Aboudharam G, Raoult D, Drancourt M (2005) *Bartonella quintana* In Domestic Cat. *Emerging Infectious Diseases*, 11, 1287-1289.
- La, S.B., Fournier, P.E., Brouqui, P., Raoult, D., 2001. Detection and culture of *Bartonella quintana*, *Serratia marcescens*, and *Acinetobacter* spp. from decontaminated human body lice. *J. Clin. Microbiol.* 39, 1707-1709.

- La, S.B., Meconi, S., Fenollar, F., Rolain, J.M., Roux, V., Raoult, D., 2002. Emended description of *Rickettsia felis* (Bouyer et al. 2001), a temperature-dependent cultured bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 2035-2041.
- Larpent JP. Introduction à la nouvelle classification bactérienne, les principaux groupes bactériens. Paris : TEC et DOC, 280P., 2000.
- Lee, I.Y., Ree, H.I., An, S.J., Linton, J.A., Yong, T.S., 2008. Reemergence of the bedbug *Cimex lectularius* in Seoul, Korea. *Korean J. Parasitol.* 46, 269-271.
- Léone M. Maladies rares en réanimation, édition Springer-Verlag France, Paris. 83, 86P., 2009.
- Lepidi H, Fournier PE, Raoult D (2000) Quantitative analysis of valvular lesions during *Bartonella* endocarditis. *American Journal of Clinical Pathology*, **114**, 880-889.
- Leulmi, H., Socolovschi, C., Laudisoit, A., Houemenou, G., Davoust, B., Bitam, I., Raoult, D., Parola, P., 2014. Detection of *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi*, *Bartonella* Species and *Yersinia pestis* in Fleas (Siphonaptera) from Africa. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 8, e3152.
- Levy, B.A., Berenger, J.M., Del, G.P., Delaunay, P., Pages, F., Morand, J.J., 2011. Resurgence of bedbugs in southern France: a local problem or the tip of the iceberg? *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 25, 599-602.
- Li H, Liu W, Zhang GZ, Sun ZZ, Bai JY, Jiang BG, Zhang YY, Zhao XG, Yang H, Tian G, Li YC, Zeng L, Kosoy M, Cao WC (2013) Transmission and maintenance cycle of *Bartonella quintana* among rhesus macaques, China. *Emerging Infectious Diseases*, **19**, 297-300.
- Li H, Tong Y, Huang Y, Bai J, Yang H, Liu W, Cao W. (2012) Complete genome sequence of *Bartonella quintana*, a bacterium isolated from rhesus macaques. *Journal of Bacteriology*, **194**, 6347.
- Lischer CJ., Leutenegger CM., Braun U et Lutz H. : Diagnosis of Lyme disease in two cows by the detection of *Borrelia burgdorferi* DNA, *Vet. Rec*, 146,497-499., 2000.
- Losson B. Cours d'entomologie vétérinaire de Liège Belgique., 1997.
- Lu L et Wu H. A cladistic and biogeographic analysis of Chinese *Neopsylla wagneri* (Siphonaptera: Ctenophthalmidae). *Invertebrate Systematics*; 17: 607- 615P., 2005.

- Maillard R et Trottet C., *Etude de la vectorisation des bactéries du genre Bartonella chez les bovins par les tiques*, Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, n° 39, 65P., 2003.
- Maillard R., Grimard B., Chnstant-Maillard S., Chomel B., Delcroix T., Gandoin C., Bouillin C., Halos L., Vayssier-Taussat M et Boulouis HJ., Effects of cow age and pregnancy on *Bartonella* infection in a herd of dairy cattle, *Journal of Clinical Microbiology*, 44 (1), 42-46P., 2006.
- Maillard R., Halos L et Boulouis HJ., Les bartonelloses chez le chat, le chien et les bovins, *Le Point Vétérinaire*, 36 (254), 22-27P., 2005.
- Maillard R., Riegel P., Barrat F., Bouillin C., Thibault D., Gandoin C., Halos L., De;anche C., Alliot A., Guillot J., Piemont Y., Boulouis H.-J et Vayssier-Taussat M., *Bartonella chomelii* sp. nov., isolated from French domestic cattle (*Bos taurus*), *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54 (1), 215-220P., 2004
- Malek JA., Weirzbowski JM., Tao W., Bosak SA., Saranga DJ., Doucette-Stamm L., Smith DR., Mecwan PJ et Meckernan KJ. Protein interaction mapping on a functional shotgun sequence of *Rickettsia sibirica*. *Nucleic Acids Res.*, 32, 1059-1064P., 2004.
- Marcheur D. *Rickettsiae dans la microbiologie médicale de Barron* (Barron S et autres-eds) 4^{ème} édition, Texas, 120-124(3000)P., 1996.
- Marotel M. *Tiques des carnivores domestiques en régions Rhone-alpes, Auvergne, Limosin, Midi-Pyrenées, Aquitaine*, thèse Toulouse., 2006.
- Marvy M. *Blattes, poux, puces et gales: description, moyens de protection et de destruction mise en œuvre à l'hôpital (à l'exception des traitements humains)*. *Le pharmacien hospitalier*, 97, 9-21P., 1989.
- Masetti, M., Bruschi, F., 2007. Bedbug infestations recorded in Central Italy. *Parasitol. Int.* 56, 81-83.
- Maurin M, Raoult D (1996) *Bartonella (Rochalimaea) quintana* infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 9, 273-292.
- Maurin M. *Rickettsia*. Cours de Bactériologie Médicale. Faculté de Médecine de Grenoble, France., 2003.
- Maurin, M., Raoult, D., 1999. Q fever. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 518-553.

- Mcleod MP., Qin X., Karpathy SE., Gioia J., Highlander SK., Fox GE., McNeil TZ., Jiang HY., Muzny D., Jacob LS et Hawes AC. Complete genome sequence of *Rickettsia tphi* and comparison with sequences of others rickettsiae. *J. Bacteriol.*, 186, 5842-5855P., 2004.
- Mcnee JW, Renshaw A, Brunt EH (1916) "Trench Fever" : A relapsing fever occurring with the british forces in France. *British Medical Journal*, **12**, 225-234.
- Mediannikov, O., Fenollar, F., 2014. Looking in ticks for human bacterial pathogens. *Microb. Pathog.* 77, 142-148.
- Mediannikov, O., Fenollar, F., Socolovschi, C., Diatta, G., Bassene, H., Molez, J.F., Sokhna, C., Trape, J.F., Raoult, D., 2010. *Coxiella burnetii* in humans and ticks in rural Senegal. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 4, e654.
- Mediannikov, O., Socolovschi, C., Edouard, S., Fenollar, F., Mouffok, N., Bassene, H., Diatta, G., Tall, A., Niangaly, H., Doumbo, O., Lekana-Douki, J.B., Znazen, A., Sarih, M., Ratmanov, P., Richet, H., Ndiath, M.O., Sokhna, C., Parola, P., Raoult, D., 2013. Common epidemiology of *Rickettsia felis* infection and malaria, Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 19, 1775-1783.
- Melter O, Arvand M, Votypka J, Hulinska D (2012) *Bartonella quintana* transmission from mite to family with high socioeconomic status. *Emerging Infectious Diseases*, **18**, 163-165.
- Melter, O., Arvand, M., Votypka, J., Hulinska, D., 2012. *Bartonella quintana* transmission from mite to family with high socioeconomic status. *Emerg Infect Dis.* 18, 163-165.
- Merhej, V., El, K.K., Raoult, D., 2009. Whole genome-based phylogenetic analysis of Rickettsiae. *Clin. Microbiol. Infect.* 15 Suppl 2, 336-337.
- Merritt, R.W., Walker, E.D., Small, P.L., Wallace, J.R., Johnson, P.D., Benbow, M.E., Boakye, D.A., 2010. Ecology and transmission of Buruli ulcer disease: a systematic review. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 4, e911.
- Metzger ME et Rust MK. *Effect of temperature on cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) development and overwintering.* *J. Med. Entomol.*, 34, 173-178P., 1997.
- Michaud O. Les chasse-insectes dans la maison. Montréal. Les Éditions de l'Homme 153P., 1988.

- Mogollon-Pasapera, E., Otvos, L., Jr., Giordano, A., Cassone, M., 2009. Bartonella: emerging pathogen or emerging awareness? *Int. J. Infect. Dis.* 13, 3-8.
- Morel PC. Maladies à tiques du bétail en Afrique: Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. édition *Med Inter*, Paris 452-761P., 2000.
- Morel PC., Chartier C., Itard J et Troncy P-C : Précis de parasitologie vétérinaire. Nicolas Barré s'est chargé de la révision de la partie de Pierre Morel après le décès de ce dernier. 455-574P (773 P)., 2000.
- Morick D, Krasnov BR, Khokhlova IS *et al.* (2013) Effects Of *Bartonella* spp. on flea feeding and reproductive performance. *Applied and Environmental Microbiology*, **79**, 3438-3443.
- Morick, D., Krasnov, B.R., Khokhlova, I.S., Gutierrez, R., Gottlieb, Y., Harrus, S., 2013. Vertical nontransovarial transmission of Bartonella in fleas. *Mol. Ecol.* 22, 4747-4752.
- Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerging Infectious Diseases*; 1(1):7-15., 1995.
- Moubamba D. Identification et distribution des espèces de tiques (Acari : Ixodidae) qui infestent les chiens à Libreville, *Ann. Méd. Vét.*, 150, 193-196P., 2006.
- Mouffok, N., Parola, P., Lepidi, H., Raoult, D., 2009. Mediterranean spotted fever in Algeria--new trends. *Int. J. Infect. Dis.* 13, 227-235.
- Mougeot I. *La borréliose de Lyme*, Thèse Méd. Vét., Nantes, n°039, 67P., 2000.
- Moulinier C. Parasitologie et mycologie médicale. Eléments de morphologie et de biologie. Chapitre 9 «Insectes»; 577-594 ; Chapitre 10 «Acariens» 635-674P., 2002.
- Moulinier C. Parasitologie et mycologie médicales. Ed. France : LAVOISIER, 796p. (Eléments de morphologie et de biologie). ISBN : 2-7430-0488-6.50P., 2003.
- Mumcuoglu KY et al. Ecological studies on the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari, Ixodidae) in southern Israel and its relationship to spotted-fever group rickettsiae. *J. Med. Entomol.*, 30, 114-121P., 1993.
- Needham GR et Teel PD. Off-host physiological ecology of ixodid ticks. *Annu Rev Entomol*; 36:659-681P., 1991
- Nelson, G.S., 1963. Are bed bugs vectors of filariasis? *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 57, 149-150.

- Nogueras, M.M., Pons, I., Ortuno, A., Miret, J., Pla, J., Castella, J., Segura, F., 2013. Molecular Detection of *Rickettsia typhi* in Cats and Fleas. *PLoS. One.* 8, e71386.
- Nozais JP., Detry A et Danis M. *Traité de parasitologie médicale ;* Edition paradel. Paris; (44-46). (49-51). (55-57P)., 1996.
- Ogata H., Audic S., Abergel C., Fournier PE et Claverie JM. Protein coding palindromes are a unique but recurrent feature in *Rickettsia*. *Genome Res.*, 12, 808-816P., 2002.
- Ogata H., Fournier PE et Claverie JM. Recurrent problems in *Rickettsia*. *Genome Res.*, 15, 819-826P., 2001.
- Ogston, C.W., Wittenstein, F.S., London, W.T., Millman, I., 1979. Persistence of hepatitis B surface antigen in the bedbug *Cimex hemipterus* (Fabr.). *J. Infect. Dis.* 140, 411-414.
- Okello-Onen J., Hassan SM et Essuman S. *Taxonomy of African Ticks, an identification manual.* International Centre of Insect Physiology and Ecology: Nairobi, 124P., 1999.
- Omudu, E.A., Kuse, C.N., 2010. Bedbug infestation and its control practices in Gbajimba: a rural settlement in Benue state, Nigeria. *J. Vector. Borne. Dis.* 47, 222-227.
- Pailley J. *Les Bactéries Hémitropes des Ruminants Transmises par les Arthropodes Hématophages en France.* Thèse de Doctorat Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'ALFORT: 119P., 2007.
- Pal U et Fikrig E. Adaptation of *Borrelia burgdorferi* in the vector and vertebrate host, *Microb. Inf*, 5, 659-666P., 2003.
- Panchout F. (Pages consultées le 18 juillet 2011). *Le Monde des insectes.*, <http://www.insecte.org/>, 2007.
- Parker JL et White KK. Lyme borreliosis in cattle and horses: a review of the literature, *Cornell Vet*, 82, 253-274., 1992.
- Parola P et Raoult D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis.*, 32(6), 897-928 P. Erratum in: *Clin Infect*; 33(5):749P., 2001.
- Parola P et Raoult D., *Rickettsioses éruptives.* *Encycl Méd Chir* (Elsevier Paris). Maladies infectieuses, 8-037-1-20. 24P., 1998.

- Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin Microbiol Rev* 2013 Oct;26(4):657-702.
- Parola P. Les arthropodes comme outils diagnostiques et épidémiologies des maladies infectieuses émergentes. *Med. Mal. Infect.*, 35 Suppl; 2:S41-3P., 2005.
- Parola P., Cornet J. P., Sanongo Y. O., Miller R. S., Thien H. V., Gonzalez J., P., Raoult D., Telford Iii Sr. and Wongsrichanalai C. Detection of *Ehrlichia spp.*, *Anaplasma spp.*, *Rickettsia spp.*, and other eubacteria in ticks from the Thai-Myanmar border and Vietnam. *J Clin Microbiol.*, 41(4), 1600-1608P. 2003
- Parola, P., 2011. *Rickettsia felis*: from a rare disease in the USA to a common cause of fever in sub-Saharan Africa. *Clin. Microbiol. Infect.* 17, 996-1000.
- Parola, P., Davoust, B., Raoult, D., 2005a. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. *Vet. Res.* 36, 469-492.
- Parola, P., Paddock, C.D., Raoult, D., 2005b. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clin. Microbiol. Rev.* 18, 719-756.
- Parola, P., Paddock, C.D., Socolovschi, C., Labruna, M.B., Mediannikov, O., Kernif, T., Abdad, M.Y., Stenos, J., Bitam, I., Fournier, P.E., Raoult, D., 2013. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin. Microbiol. Rev.* 26, 657-702.
- Parola, P., Raoult, D., 2001. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin. Infect. Dis.* 32, 897-928.
- Parola, P., Raoult, D., 2006. Tropical rickettsioses. *Clin. Dermatol.* 24, 191-200.
- Parola P et Raoult D. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat, *Clin. Inf. Dis*, 32, 897-928P., 2001.
- Paul, J., Bates, J., 2000. Is infestation with the common bedbug increasing? *BMJ* 320, 1141.
- Pérez-Eid C et Gilot B. Les tiques : Cycles, habitats, hôtes, rôle pathogène et lutte, *Médecine et Maladie Infectieuse*, 28, 335-343P., 1998.
- Pérez-Eid C. les tiques : identification, biologie, importance médicale et vétérinaire, Edition Lavoisier (coll. Monographies de microbiologie); 305-314P., 2007.
- Perlman SJ., Hunter M et Zchori-Fein E. La diversité émergente de *Rickettsia* . *Proc Biol Sci* 273; 2097-2106P., 2006.

- Perola P et Philippon A. Campus de microbiologie médicale, bactériologie virologie-Hygiène hospitalière, [en ligne], (mise à jour 2005), [microbes-edu.org/etudiant/spirochete.html]., 2005.
- Petrie K. Bugs lice. ABDO consulting group.15-16-17P., 2009.
- Pichard E. Cour de Maladies vectorielles (1). Faculté de Médecine d'Angers, Institut de Médecine Tropicale et de santé internationale. DESC « Maladies infectieuses ; maladies tropicale » HIA Bégin. 2004.
- Pillot J., Daguët G., Peloux Y., Dupouey P et Berche P. Spirochètes, *In: Bactériologie médicale*, 2ème édition. Paris: Flammarion Médecine-Science, 1021-1046P., 1989.
- Poitras E et Houde A. La PCR en temps réel: principes et applications. *Reviews in biology and biotechnology by the Moroccan Society of Biology in Canada Vol.2, No 2, December.2-11P.*, 2002.
- Postic D et Barranton G. Borrelia, *In : Précis de bactériologie clinique*, Paris ; Ed. ESKA, 1521-1531P., 2000.
- Purser JE et Norris SJ. : Correlation between plasmid content and infectivity in *Borrelia burgdorferi*, *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, (5 Décembre), 97, 13865 13870P., 2000.
- Radostis OM., Gay CC., Blood DC et Hinchkliff KW. Borreliosis, Lyme disease, *In : Veterinary medicine – A textbook of the diseases of Cattle, sheep, pigs, goats and horses*, 9th Ed., London : WB. SAUNDERS Compagny Ltd, 994-996P., 2000.
- Ramade FR. Elément d'écologie. Ed. Dunod, Paris, 690 P., 2003.
- Raoult D et Brouqui P., Les rickettsioses, monographie de l'encyclopédie Médico chirurgicale, édition Elsevier 11-105P., 1998.
- Raoult D et Roux V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 10, 694-719P., 1997.
- Raoult D, Drancourt M, Carta A, Gastaut JA (1994) *Bartonella (Rochalimaea) quintana* isolation in patient with chronic adenopathy, lymphopenia, And A Cat. *Lancet*, **343**, 977.
- Raoult, D., Drancourt, M., Carta, A., Gastaut, J.A., 1994. *Bartonella (Rochalimaea) quintana* isolation in patient with chronic adenopathy, lymphopenia, and a cat. *Lancet* 343, 977.

- Raoult, D., Dutour, O., Houhamdi, L., Jankauskas, R., Fournier, P.E., Ardagna, Y., Drancourt, M., Signoli, M., La, V.D., Macia, Y., Aboudharam, G., 2006. Evidence for louse-transmitted diseases in soldiers of Napoleon's Grand Army in Vilnius. *J. Infect. Dis.* 193, 112-120.
- Ratovonjato J., Duchemin JB., Duplantier JM., Chanteau S. *Xenopsylla cheopis* (*Siphonaptera* : *Xenopsyllinae*), puces des foyers ruraux de peste des Hautes Terres malgaches : niveau de sensibilité au DDT, aux pyréthriinoïdes et aux carbamates après 50 années de lutte chimique. *Arch Inst Pasteur Madagascar* ; 66 (1-2) : 9-12P. 2000.
- Reif KE, Macaluso KR (2009) Ecology of *Rickettsia felis*: A Review. *Journal of Medical Entomology*, **46**, 723-736.
- Relman DA, Loutit JS, Schmidt TM, Falkow S, Tompkins LS (1990) The agent of bacillary angiomatosis : an approach to the identification of uncultured pathogens. *New England Journal of Medicine*, **323**, 1573-1580.
- Relman, D.A., Loutit, J.S., Schmidt, T.M., Falkow, S., Tompkins, L.S., 1990. The agent of bacillary angiomatosis : an approach to the identification of uncultured pathogens. *N. Engl. J. Med.* 323, 1573-1580.
- Rikihisa Y. Ehrlichiae of veterinary importance, in *Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millenium.*, P.Brouqui, Editor., Elsevier: Paris. 393-405P. 1999.
- Rikihisa Y. The Tribe Ehrlichieae and Ehrlichial Diseases. *Clin. Microbiol. Rev.*, 4(1), 286-308P., 1991.
- Rodhain F. *Traité de parasitologie médicale. Chapitre 3 « entomologie médicale ».* Editions Paradel; 21-66 (817P)., 1996.
- Rolain JM, Arnoux D, Parzy D, Sampol J, Raoult D (2003a) Experimental infection of human erythrocytes from alcoholic patients with *Bartonella quintana*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **990**, 605-611.
- Rolain JM, Bourry O, Davoust B, Raoult D (2005) *Bartonella quintana* and *Rickettsia felis* in Gabon. *Emerging Infectious Diseases*, **11**, 1742-1744.
- Rolain JM, Franc M, Davoust B, Raoult D (2003b) Molecular detection of *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *Rickettsia felis*, and *Wolbachia pipientis* In cat fleas, France. *Emerging Infectious Diseases*, **9**, 338-342.

- Rolain, J.M., Arnoux, D., Parzy, D., Sampol, J., Raoult, D., 2003a. Experimental infection of human erythrocytes from alcoholic patients with *Bartonella quintana*. *Ann N Y Acad Sci* 990, 605-611.
- Rolain, J.M., Foucault, C., Guieu, R., La, S.B., Brouqui, P., Raoult, D., 2002. *Bartonella quintana* in human erythrocytes. *Lancet* 360, 226-228.
- Rolain, J.M., Franc, M., Davoust, B., Raoult, D., 2003b. Molecular detection of *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *Rickettsia felis*, and *Wolbachia pipientis* in cat fleas, France. *Emerg Infect Dis* 9, 338-342.
- Ronesto P., Ogata H., Audic S., Claverie J.M et Raoult D. Some lessons from *Rickettsia* genomics. *Rev. FEMS Microbiol.*, (29), 99-117P., 2005.
- Rothwell JT., Christie BM., Williams C., Walker KH. : Suspected Lyme disease in a cow, *Aust. Vet. J.*, 66, 296-298P., 1989.
- Roux V. Phylogenetic analysis and taxonomic relationships among the genus *Rickettsia*. In: Raoult D, Brouqui P, editors. *Rickettsiae and Rickettsial diseases at the turn of the third millinium*. Marseille: Elsevier. p : 52-66., 1999.
- Rozendaal JA. La lutte antivectorielle, Méthodes à usage individuel et communautaire ; Edition Organisation Mondiale de la Santé. Genève. 278-286P., 1999.
- Rust MK, Dryden MW (1997) The biology, ecology, and management of the cat flea. *Annual Review of Entomology*, 42, 451-473.
- Sadler JP. Records of ectoparasites on humans and sheep from Viking-age deposits in the former western settlement of Greenland. *J Med Entomol* 27; 628-31P., 1990.
- Salazar, R., Castillo-Neyra, R., Tustin, A.W., Borrini-Mayori, K., Naquira, C., Levy, M.Z., 2014. Bed Bugs (*Cimex lectularius*) as Vectors of *Trypanosoma cruzi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*
- Sarih M, Jouda F, Gern L, Postic D. First isolation of *Borrelia burgdorferi sensu lato* from *Ixodes ricinus* ticks in Morocco. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2003;3(3):133-9.
- Sauget B. *Maladies bactériennes transmises par les tiques en Europe et leurs particularités*, Thèse de Doctorat Vétérinaire, Nantes, n° 2, 147P., 2005.
- Scheibelhofer S., Weiss R., Durnberger H., Mostock S., Breitenbach M., Livey I. et Thalhamer J. A DNA vaccine encoding the outer surface proteinC from *Borrelia*

- Seki N, Kasai S, Saito N *et al.* (2007) Quantitative analysis of proliferation and excretion of *Bartonella quintana* In body Lice, *Pediculus humanus L.* *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **77**, 562-566.
- Sheele, J.M., Anderson, J.F., Tran, T.D., Teng, Y.A., Byers, P.A., Ravi, B.S., Sonenshine, D.E., 2013. Ivermectin causes *Cimex lectularius* (bedbug) morbidity and mortality. *J. Emerg. Med.* 45, 433-440.
- Socolovschi C, Kernif T, Raoult D, Parola P. *Borrelia, Rickettsia, and Ehrlichia species* in bat ticks, France, 2010. *Emerg Infect Dis* 2012 Dec;18(12):1966-75.
- Socolovschi C, Mediannikov O, Sokhna C, et al. *Rickettsia felis*-associated unruptive fever, Senegal. *Emerg Infect Dis* 2010 Jul;16(7):1140-2.
- Socolovschi, C., Kernif, T., Raoult, D., Parola, P., 2012a. *Borrelia, Rickettsia, and Ehrlichia species* in bat ticks, France, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 18, 1966-1975.
- Socolovschi, C., Pages, F., Raoult, D., 2012b. *Rickettsia felis* in *Aedes albopictus* mosquitoes, Libreville, Gabon. *Emerg. Infect. Dis.* 18, 1687-1689.
- Spach DH, Kanter AS, Daniels NA *et al.* (1995a) *Bartonella (Rochalimaea)* species as a cause of apparent "culture-negative" endocarditis. *Clinical Infectious Diseases*, **20**, 1044-1047.
- Spach DH, Kanter AS, Dougherty MJ *et al.* (1995b) *Bartonella (Rochalimaea) quintana* bacteremia in inner-city patients with chronic alcoholism. *New England Journal of Medicine*, **332**, 424-428.
- Spach, D.H., Kanter, A.S., Daniels, N.A., Nowowiejski, D.J., Larson, A.M., Schmidt, R.A., Swaminathan, B., Brenner, D.J., 1995a. *Bartonella (Rochalimaea)* species as a cause of apparent "culture-negative" endocarditis. *Clin Infect Dis.* 20, 1044-1047.
- Spach, D.H., Kanter, A.S., Dougherty, M.J., Larson, A.M., Coyle, M.B., Brenner, D.J., Swaminathan, B., Matar, G.M., Welch, D.F., Root, R.K., Stamm, W.E., 1995b. *Bartonella (Rochalimaea) quintana* bacteremia in inner-city patients with chronic alcoholism. *N. Engl. J. Med.* 332, 424-428.
- Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. Lyme borreliosis. *Lancet* 2012 Feb 4;379(9814):461-73.
- Suwannayod, S., Chanbang, Y., Buranapanichpan, S., 2010. The life cycle and effectiveness of insecticides against the bed bugs of Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 41, 548-554.

- Tawatsin, A., Thavara, U., Chompoonsri, J., Phusup, Y., Jonjang, N., Khumsawads, C., Bhakdeenuan, P., Sawanpanyalert, P., Asavadachanukorn, P., Mulla, M.S., Siriyasatien, P., Debboun, M., 2011. Insecticide resistance in bedbugs in Thailand and laboratory evaluation of insecticides for the control of *Cimex hemipterus* and *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae). *J. Med. Entomol.* 48, 1023-1030.
- Thepparit C, Hirunkanokpun S, Popov VL, Foil LD, Macaluso KR. (2013) Dissemination of bloodmeal acquired *Rickettsia felis* in cat fleas, *Ctenocephalides felis*. *Parasites & Vectors*, 6,149.
- Tsai YL, Chang CC, Chuang ST, Chomel BB (2011) *Bartonella* species and their ectoparasites: selective host adaptation or strain selection between the vector and the mammalian host? *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 34, 299-314.
- Tsai, Y.L., Chang, C.C., Chuang, S.T., Chomel, B.B., 2011. Bartonella species and their ectoparasites: selective host adaptation or strain selection between the vector and the mammalian host? *Comp Immunol. Microbiol. Infect Dis.* 34, 299-314.
- Varagnol, M., Parola, P., Jouan, R., Beaucournu, J.C., Rolain, J.M., Raoult, D., 2009. First detection of *Rickettsia felis* and *Bartonella clarridgeiae* in fleas from Laos. *Clin. Microbiol. Infect.* 15 Suppl 2, 334-335.
- Verjbitzki D.T, 1906. The part played by insects in the epidemiology of plague. *Journal de physiologie et pathologie générale* VIII, 162-208.
- Webb, P.A., Happ, C.M., Maupin, G.O., Johnson, B.J., Ou, C.Y., Monath, T.P., 1989. Potential for insect transmission of HIV: experimental exposure of *Cimex hemipterus* and *Toxorhynchites amboinensis* to human immunodeficiency virus. *J. Infect. Dis.* 160, 970-977.
- Younsi H, Postic D, Baranton G, Bouattour A. High prevalence of *Borrelia lusitaniae* in *Ixodes ricinus* ticks in Tunisia. *Eur J Epidemiol* 2001;17(1):53-6.
- Zangwill KM, Hamilton DH, Perkins BA *et al.* (1993) Cat Scratch Disease in connecticut - epidemiology, risk factors, and evaluation of a new diagnostic test. *New England Journal of Medicine*, 329, 8-13.

V- LISTE DES ARTICLES.

1/ Detection of *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi*, *Bartonella* species and *Yersinia pestis* in fleas (Siphonaptera) from Africa.

Hamza LEULMI, Cristina SOCOLOVSCHI, Anne LAUDISOIT, Gualbert HOUEMENO, Bernard DAVOUST, Idir BITAM, Didier RAOULT and Philippe PAROLA. **PLoS Neglected Tropical Diseases** 2014 Oct 9;8(10):e3152. doi: 10.1371/journal.pntd.0003152. eCollection 2014.

2/ Detection of *Bartonella tamiae*, *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* spp and *Borrelia* spp in arthropods and tissues from wild and domestic animals in the northern east of Algeria..

Hamza LEULMI, Atef Aouadi, Idir BITAM, Didier RAOULT and Philippe PAROLA. Soumis à **Parasites and vectors**.

3/ *Borrelia garinii* and *Rickettsia monacensis* in *Ixodes ricinus* ticks, Algeria.

Wassilla BENREDJEM*, **Hamza LEULMI***, Idir BITAM, Didier RAOULT and Philippe PAROLA. **Emerging Infectious Diseases**. 2014 Oct;20(10):1776-7. doi: 10.3201/eid2010.140265. (*: Co-authors; authors contributed equally to this article).

4/ Identification of Flea species using MALDI TOF/MS.

Yssouf A, Socolovschi C, **Leulmi H**, Kernif T, Bitam I, Audoly G, Almeras L, Raoult D, Parola P. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis**. 2014 May;37(3):153-7. doi: 10.1016/j.cimid.2014.05.002. Epub 2014 May 17.

5/ Acquisition and excretion of *Bartonella quintana* by the cat flea, *Ctenocephalides felis felis*.

Kernif T*, **Leulmi H***, Socolovschi C, Berenger JM, Lepidi H, Bitam I, Rolain JM, Raoult D, Parola P. **Molecular Ecology**. 2014 Mar;23(5):1204-12. doi: 10.1111/mec.12663. Epub 2014 Feb 20. (*: Co-authors; authors contributed equally to this article).

6/ Competence of *Cimex lectularius* bed bugs for the transmission of *Bartonella quintana*, the agent of trench fever.

Hamza LEULMI, Idir Bitam, Jean Michel BERENGER, Hubert LEPIDI, Didier RAOULT and Philippe PAROLA. Accepted in **PLOS NTD**.

7/A high-performance vacuum cleaner for bed bug sampling: a useful tool for medical entomology

Jean Michel BERENGER, Lionel Almeras, **Hamza LEULMI** and Philippe PAROLA.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jme/tjv019> First published online: 19 March 2015.

Journal of medical entomology.

8/A Molecular evidence of *Coxiella burnetii*, *Ehrlichia canis* and *Bartonella henselae* in dogs and cats from Algeria.

Amina Bessas, **Hamza Leulmi**, Idir Bitam, Sara Zaidi, Faycal Zeroual, Didier Raoult, and Philippe Parola. Sera soumis à **Vector Borne and Zoonotic Diseases** journal.

9/ Evidence of *Rickettsia massiliae* and *Rickettsia slovaca* in *Haematopinus* spp lice from wild boars in El Tarf, East Algeria.

Fayçal Zeroual, **Hamza Leulmi**, Amina Boutellis, Ahmed Benakhla, Didier Raoult, Idir Bitam and Philippe Parola. Sera soumis prochainement microbes and infection journal.

10/ Detections of *Babesia ovis* in ticks and blood of sheep in Souk Ahras, Algeria.

Atef AOUADI, **Hamza LEULMI**, BENAKHLA Ahmed, Didier RAOULT and Philippe PAROLA. Sera soumis prochainement.