



Assistance Publique
Hôpitaux de Marseille
www.mit.ap-hm.fr

*Service des Maladies
Infectieuses et Tropicales*



HOPITAL
NORD DE MARSEILLE

ASSISTANCE PUBLIQUE - HÔPITAUX DE MARSEILLE - HÔPITAL NORD Pr Philippe BROUQUI

Utilisation des arthropodes
comme outils
épidémiologiques et diagnostiques
des maladies infectieuses émergentes

Dr Philippe PAROLA

IFR 48

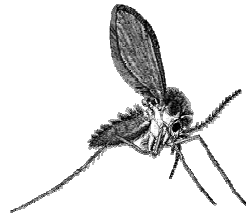
Faculté de Médecine Marseille



LES ARTHROPODES

80-85 % des espèces animales connues

3/4: insectes



Autres:

- Arachnidés (dont les acariens)
- Crustacés
-



ARTHROPODES & MALADIES EMERGENTES

- 1984 – 2004

9 nouveaux pathogènes parmi les rickettsies du groupe boutonneux à tiques à travers le monde

- 1995

réémergence du typhus épidémique à *R. prowazekii* transmis par les poux de corps au Burundi

- 1999-2005

virus West Nile aux USA, transmis par les moustiques

- 1995 – 2005

Fièvre des tranchées à *Bartonella quintana* chez les SDF des pays industrialisés parasités par les poux de corps

- 2004

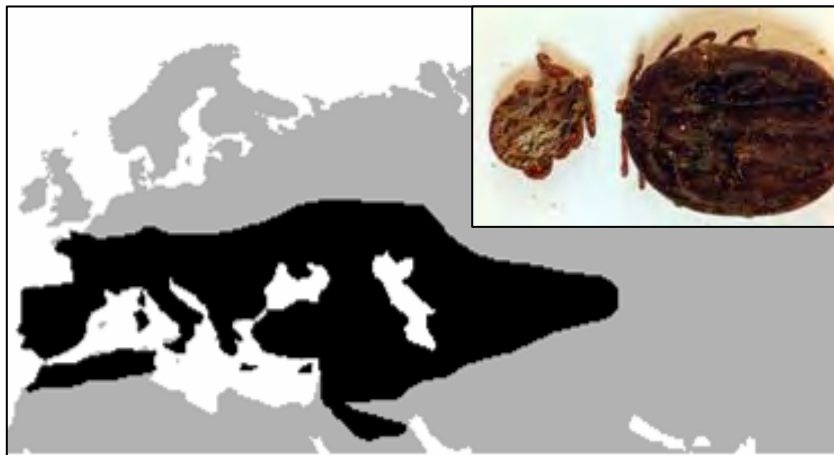
Toscana virus dans le sud de la France (Phlébotomes ?)



RICKETTSIOSES A TIQUES: *R. SLOVACA* (1)

Rickettsia slovaca:

Défectée de tiques en 1968 en Tchécoslovaquie puis a travers tout l'Europe



Dermacentor marginatus



Dermacentor reticulatus



RICKETTSIOSES A TIQUES: *R. SLOVACA* (2)

1997: Premier cas d'infection humaine documentée

- Patiente piquée en France par *D. marginatus*
- Fièvre + asthénie + arthralgies
- escarre sur le cuir chevelu + halo érythémateux (Lyme ?)

Tique conservée par la patiente:

Mise en culture: positive à *R. slovacca*

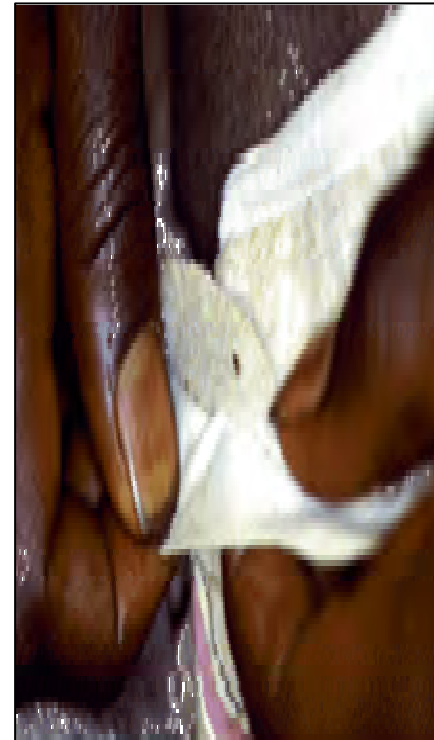
Seroconversion

+

Identification moléculaire de *R. slovacca*
dans la biopsie d'escarre



RICKETTSIOSES A TIQUES: *R. SLOVACA* (2)



RICKETTSIOSES A TIQUES: *R. AFRICAE* (1)

- 1992: premier cas documenté d'infection à *Rickettsia africae*
- 2005: Plus de 300 cas
- Vecteurs: tiques *Amblyomma*



A. hebraeum



A. variegatum



Vecteurs et réservoirs



RICKETTSIOSES A TIQUES: *R. AFRICAE* (2)

Femme de 50 ans piquée par une tique au pied droit en [Guadeloupe](#)

- Fébricule
- Lésion nodulaire érythémateuse au site de piqûre
- Rash inguinal transitoire

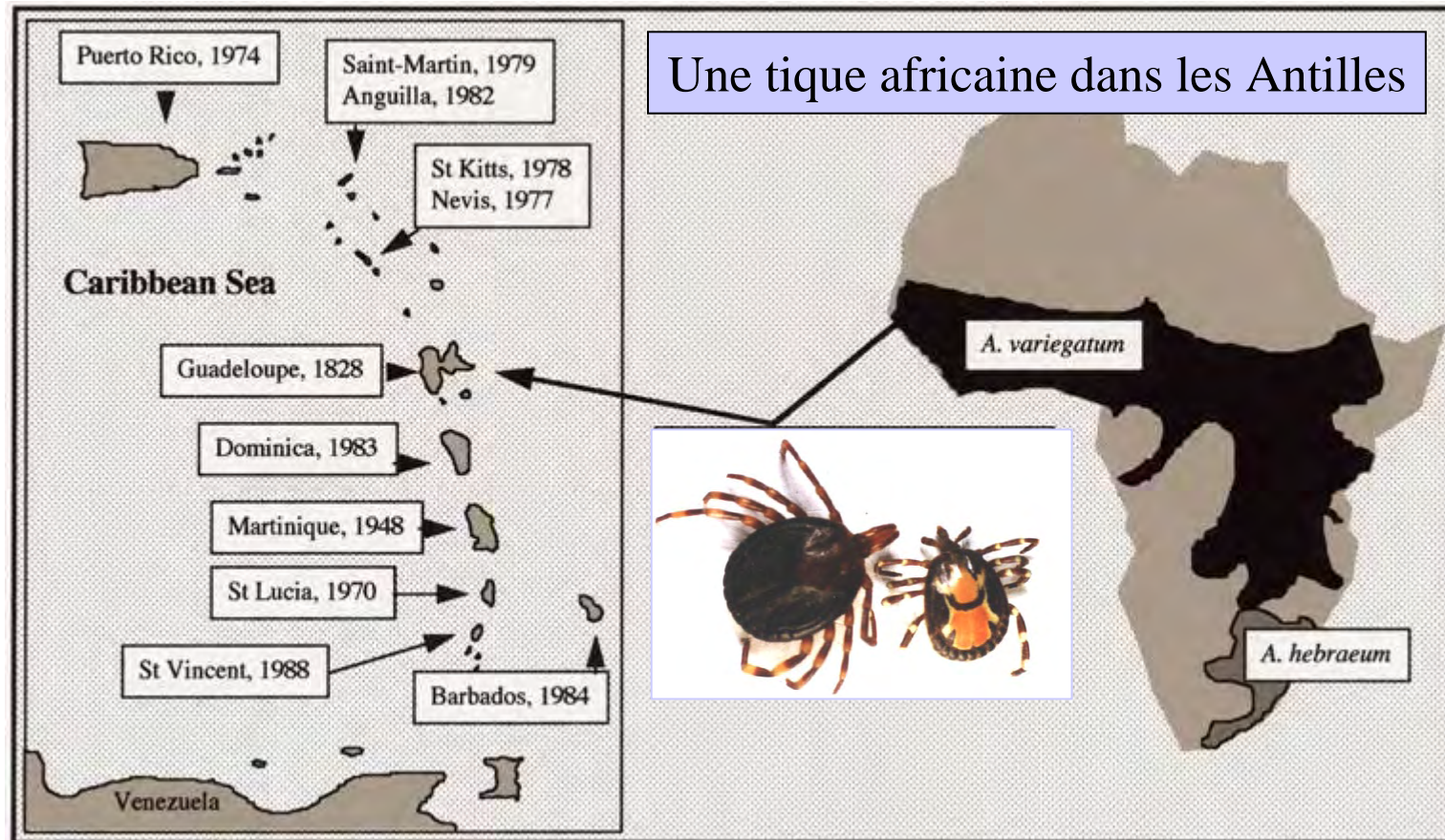
Diagnostic sérologique des Rickettsioses

IF Positive

Réaction croisées avec antigènes testés



RICKETTSIOSES A TIQUES: *R. AFRICAE* (2)



IF: 1/1024 *R. africae*. Présence d'IgM. Taux le plus élevé
Confirmation par Western Blott et Absorption croisée



RICKETTSIOSES A TIQUES: *R. AFRICAE* (3)

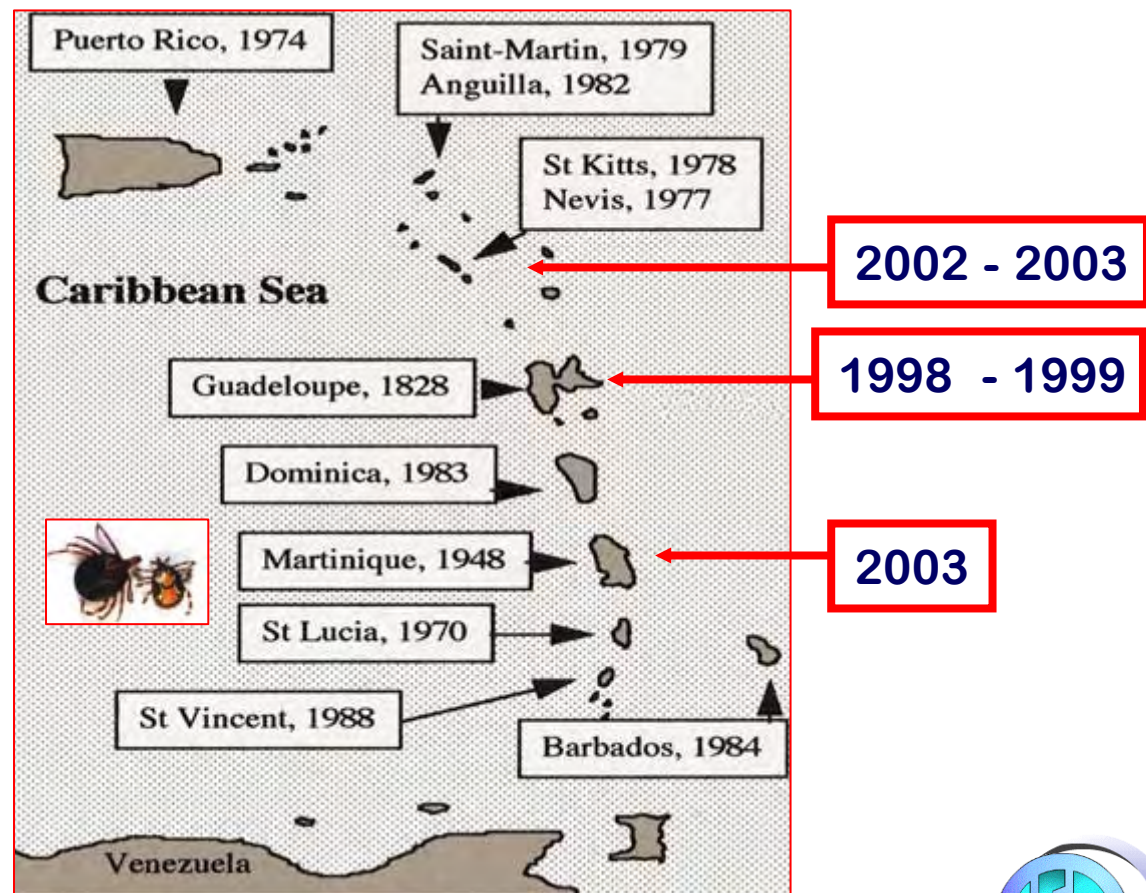
Enquête entomologique

Collecte de tiques: *A. variegatum*

Détection
moléculaire
et
isolement
de rickettsies



R. africae
27-100%
des tiques

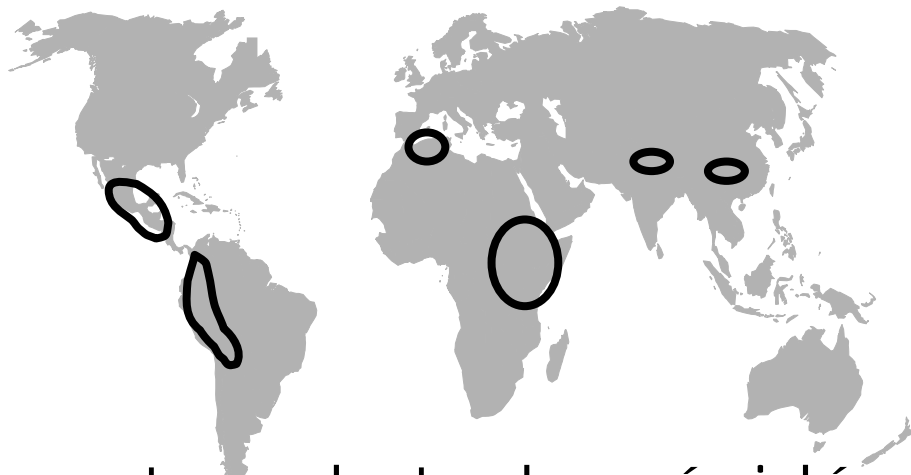


POUX & CAMPS DE REFUGIES EN AFRIQUE

Pou de corps

Pediculus humanus humanus

- Aspect identique au pou de tête
- Vit dans les replis des vêtements



vecteur du typhus épidémique: *R. prowazekii*



POUX & CAMPS DE REFUGIES EN AFRIQUE

1995:

- *R. prowazekii* détecté par PCR dans des poux prélevés sur des patients en prison au Burundi
- Envoi sans conditionnement particulier!

1997:

- Epidémie massive de typhus dans les camps de réfugiés

1998-2001:

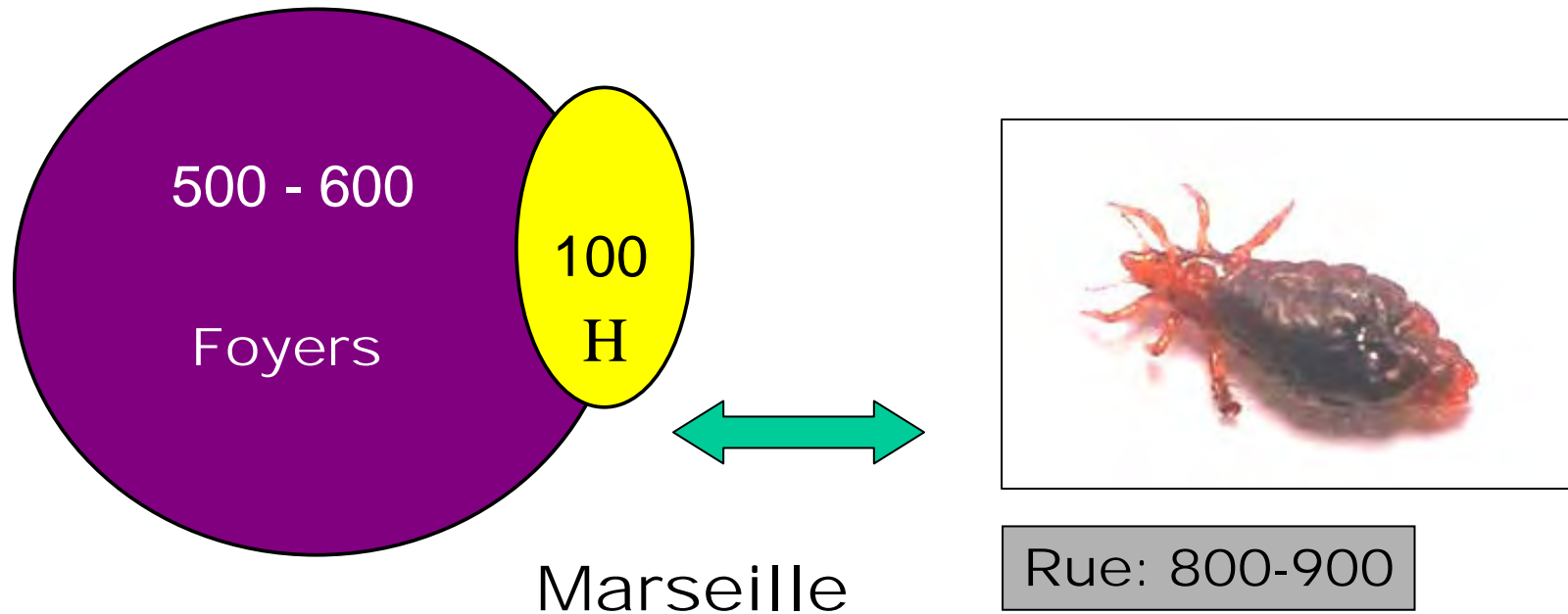
- Surveillance par détection moléculaire dans les poux
- PCR négatives entre 1998 et 2000
- 2001: 21% positifs



Reprise de l'épidémie



POUX & SDF EN FRANCE



Enquêtes 2000-2004:

- 930 patients dont 205 avec lésions de grattage
- 450 poux collectés

➡ 15% positifs en PCR :

Bartonella quintana



COMMENT ENVOYER LES ARTHROPODES AU LABORATOIRE ?

Prélevés:

- sur un patient: but diagnostique
- sur des animaux ou dans la nature: but épidémiologique

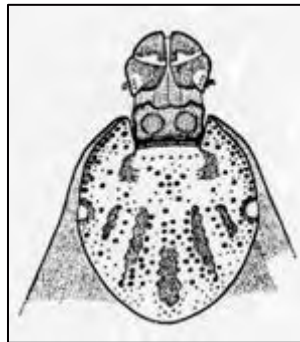
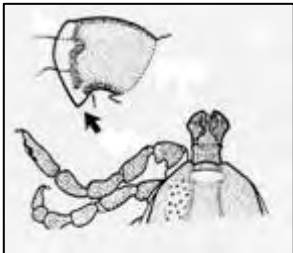
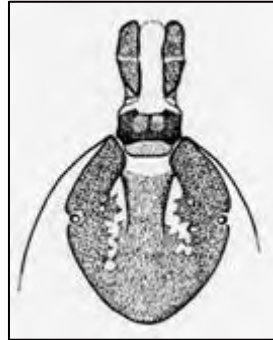
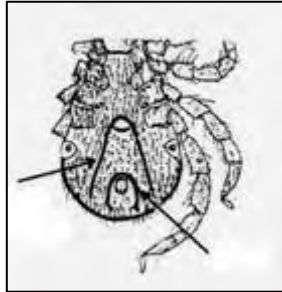
Envoi:

- Idéalement: vivants
- Congelés, réfrigérés
- en alcool: biologie moléculaire
immuno-histochimie

EVITER: formol et liquide de Bouin.

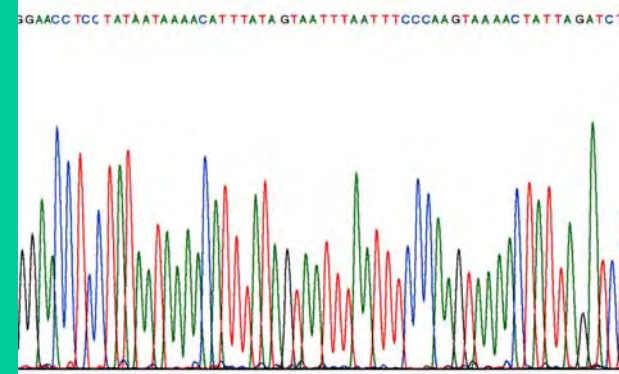


IDENTIFICATION ENTOMOLOGIQUE



Apport de la biologie moléculaire

- Tiques:
12S RNA, 18S RNA
- Puces:
18S RNA, autres gènes

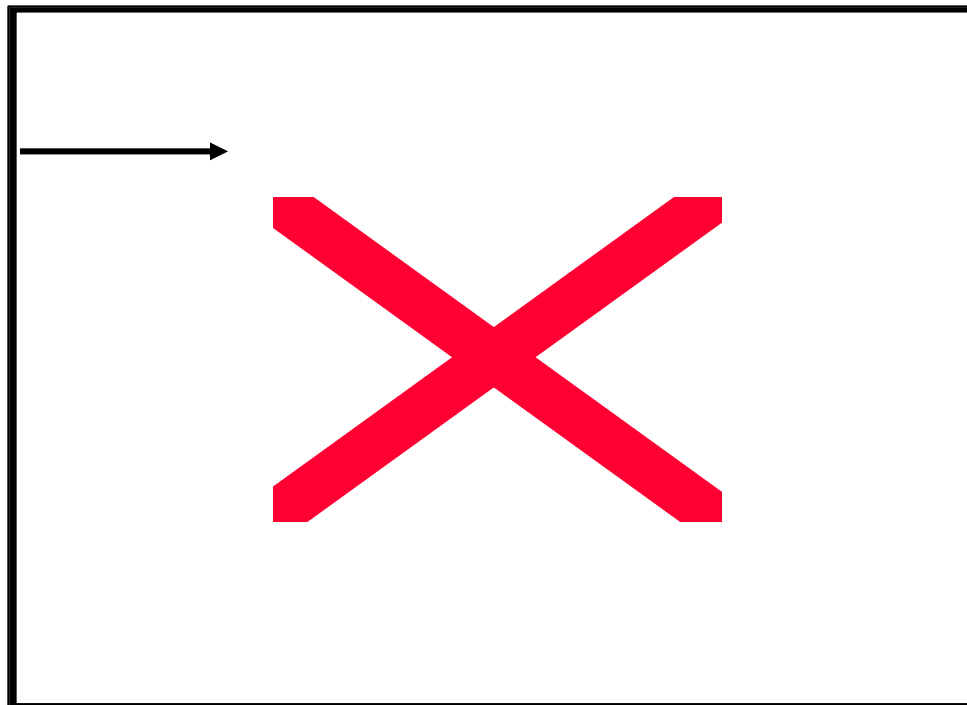


Clés d'identifications:
indispensables MAIS limites d'utilisation



DETECTION & ISOLEMENT (1)

Test d'hémolymph



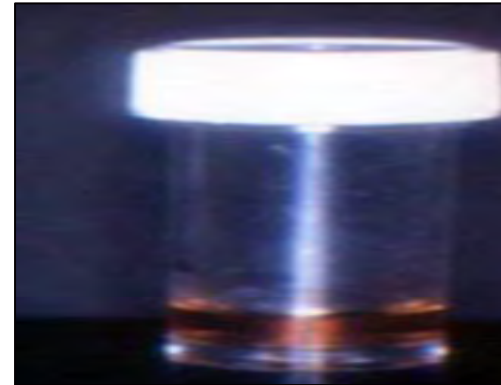
- Apposition sur une lame pour coloration spécifique ou IF
- Inoculation sur des milieux de culture spécifiques
- Biologie moléculaire



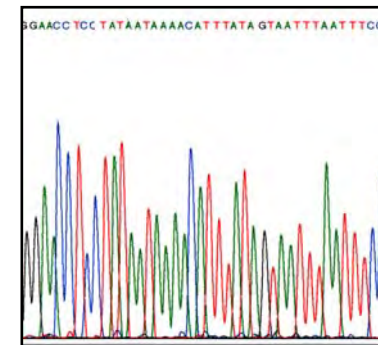
DETECTION & ISOLEMENT (2)

Biologie moléculaire: Extraction d 'ADN (1/2 tique)

Tique désinfectée en surface



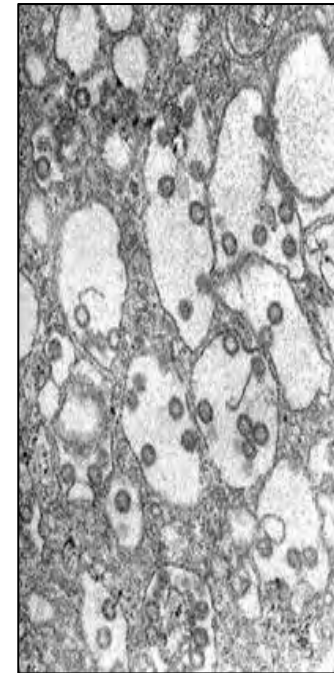
- 80°C



DETECTION & ISOLEMENT (3)

Isolement des rickettsies par culture cellulaire en tube bijoux

- Si tiques vivantes
- selon les résultats de la PCR
- 1/2 tique correspondante



Broyat
+ Cotrimoxazole + Ampho B
+ milieu de culture



PRECAUTIONS

Niveau de sécurité biologique

Ex: tiques potentiellement infectées P3 pour mise en culture

Biologie moléculaire

- Risques de contaminations
- Rôle du choix des témoins négatifs

un témoin de PCR: eau stérile remplaçant l'échantillon d'ADN

un témoin d'extraction d'acides nucléiques: arthropode non infecté (1/10)



INTERPRETATION DES RESULTATS

VECTEUR ?

Ex: seule une partie
(essentiellement des *Culex* spp.)
des moustiques qui ont été
trouvés infectés dans la nature
par le virus West Nile sont des
vecteurs compétents.



UN EXEMPLE DE PROJET DE RECHERCHE

2004:

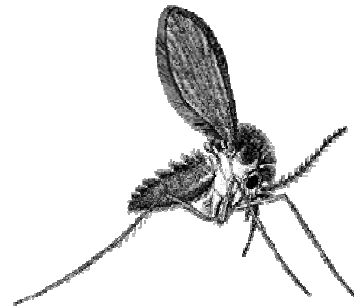
2 cas d'infection à Toscana virus dans le sud de la France

2003-2004:

Evidences

Moléculaires

Virologiques



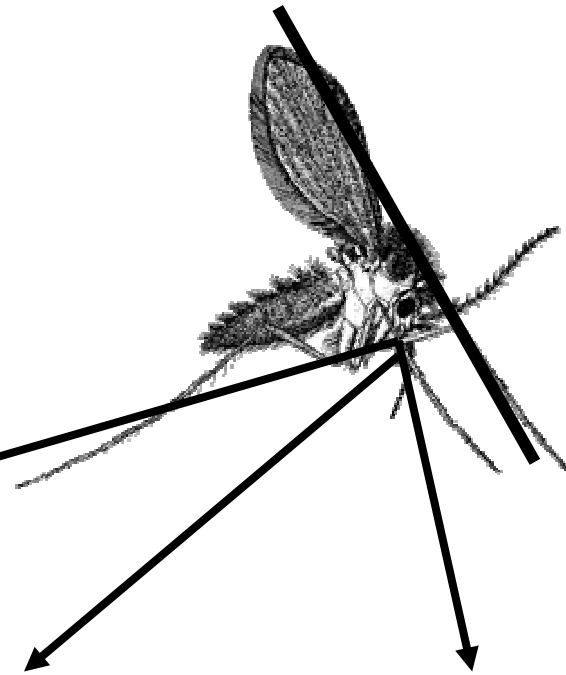
TOSCANA VIRUS DANS LE SUD DE LA FRANCE (1)

Projet 2005:
Enquête entomologique
Pièges à phlébotomes



TOSCANA VIRUS DANS LE SUD DE LA FRANCE (2)

Identification
entre lame et lamelle



P. perfiliewi

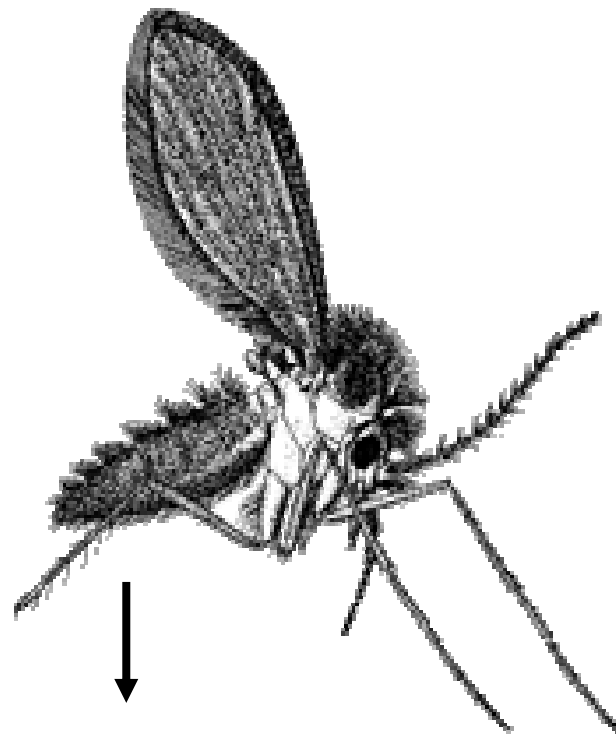


P. perniciosus



TOSCANA VIRUS DANS LE SUD DE LA FRANCE (3)

Lots monospécifiques



Identification moléculaire si besoin

Biologie
Moléculaire

- 80 °C

Culture

REMERCIEMENTS

- D Raoult & H Dumon
- JL Camicas & F Rodhain
- Ph. Brouqui & J. Delmont

CONTACTS

philippe.parola@medecine.univ-mrs.fr

<http://www.mit.ap-hm.fr>

<http://ifr48.free.fr>

