

N° Ordre...../FS/UMBB/2021

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES



Faculté des Sciences

Thèse de Doctorat 3ème cycle LMD

Domaine :SNV

Présenté par

AOUADI Nawal

Filière : Sciences biologiques

Option : Ecologie des Systèmes Vectoriels

**Détection des agents infectieux et les ectoparasites chez les
hérissons d'Algérie *Atelerix algirus***

Devant le jury :

GANNA	Salima	Professeur	UMBB	Présidente
BITAM	Idir	Professeur	ESSAIA	Directeur de thèse
CHAHBAR	Nora	Professeur	UMBB	Examinatrice
BENZINA	Farida	MCA	UMBB	Examinatrice
LAFRI	Ismail	MCA	ISVBlida	Examineur

Année Universitaire : 2021/2022

REMERCIEMENTS

Je remercie **ALLAH**, le Tout-Puissant mon créateur, mon pilier fort, ma source d'inspiration, de sagesse, de connaissance et de compréhension. Il a été la source de ma force tout au long de ce programme.

Mes remerciements et mes respects s'adressent à mes enseignants et membres du jury :

Madame le Professeur Salima GANA, merci d'avoir accepté de juger, pour la deuxième fois et de présider le jury de ma soutenance de thèse. Sans vos encouragements et vos conseils ce n'était probablement pas possible que je sois là Aujourd'hui.

Madame le Professeur Nora CHAHBAR, merci aussi d'avoir accepté de juger mon travail, vos cours de parasitologie étaient pour moi l'un des meilleurs cours de mon cursus, et qui m'ont vraiment inspiré.

Madame le Docteur Farida BENZINA d'avoir accepté d'être un membre de jury de ma soutenance de thèse.

Monsieur le Docteur Ismail LAFRI, tous mes remerciements pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Ce projet n'aurait pas été possible sans le soutien de nombreuses personnes, tout d'abord, je suis extrêmement reconnaissante à mon superviseur **Pr. Idir BITAM** qui a été un enseignant, un mentor et un directeur de thèse idéal, offrant des conseils et des encouragements avec un mélange parfait de perspicacité et de la patience. Je suis fière et extrêmement reconnaissante que vous m'avez pris comme étudiante et que vous avez continué à avoir confiance en moi au fil des ans. J'ai grandement bénéficié de votre richesse de connaissances.

Je tiens à remercier mon estimé superviseur – **Pr. Philippe PAROLA**, le président de l'unité **VITROME** pour sa supervision, son soutien et sa tutelle inestimables durant mon séjour à Marseille, son précieux soutien qui a été très influent dans l'élaboration de mes méthodes d'expérimentation et dans la critique de mes résultats.

Je reconnais avec gratitude l'aide des membres du laboratoire **VITROME –IHU** Marseille, **Dr. LAROCHE M**, **Dr. ZIARA A**, **BERENGER JM**, et **Dr. BOUCHEIKHCHOUKH M** pour

vosre immense générosité, leur soutien technique dans mon étude et pour m'avoir accueilli comme l'un des vôtres ,j'ai également eu le plaisir de travailler avec **BENKACIMI L** (phD) , qui m'a gracieusement initié et montré les premiers pas dans le labo . Je suis également redevable au Dr. **NEBBAK A**, pour ses conseils.

Ma gratitude s'étend à la faculté des sciences de l'université de **M'hamed Bougara –Boumerdes** pour l'opportunité de bénéficier d'un enseignement de qualité au sein de département de biologie et à tous son cadre éducatif (Professeurs, Docteurs) et administratif.

Je suis également redevable à plusieurs personnes **Pr Dahmoune Farid** (vice-recteur), **Dr kadri Nabil** (chef domaine) de l'université d'**Akfi Mohand Oulhadj –Bouira** pour m'avoir accordé l'accès et ouvert les portes de leurs laboratoires afin d'effectuer la dissection et l'identification des arthropodes, et aussi pour leur soutien moral et précieuse aide, j'apprécierai toujours tout ce que vous avez fait pour moi, merci pour votre générosité qu'Allah vous accorde sa bénédiction.

Tous mes collègues doctorants (es) de la formation doctorale **Ecologie des Systèmes Vectoriels**.

Enfin, mes vifs remerciements sont adressés aux membres de ma famille spécialement **Safia** et **Hakim**, pour leurs encouragements et leurs soutiens continus.

...**N.AOUADI**

DÉDICACES

Je dédie cette thèse à deux personnes bien-aimées qui ont signifié et continuent de signifier tant pour moi. Bien qu'ils ne soient plus de ce monde, leurs souvenirs continuent de réguler ma vie.

- ✓ *À mon cher père « **Hadj Amar** », au grand qui a cru en moi depuis ma première année et qui était certain que je serais une personne importante, à mon ange, à qui les qualités des vrais hommes correspondent, au premier homme de ma vie, merci d'avoir fait de moi la femme que je suis aujourd'hui, trop forte et ferme. Merci d'avoir décoré mon âme, et merci d'être ma fierté.*
- ✓ *Ma grand-mère maternelle « **Fatoum** » qui m'a élevé, m'a aimé, et m'a appris à parler l'arabe sa langue maternelle et beaucoup de choses. Je ne vous oublierai jamais.*

Je ferai en sorte que vos mémoires vivent aussi longtemps que je vivrai. Je vous aime et vous me manquez tous au-delà des mots. Qu'ALLAH vous accorde Jannah Firdaws. Amen.

*Ce travail est également dédié à ma chère mère « **Tassadit** », qui m'a toujours aimé inconditionnellement et dont tes bons exemples m'ont appris à travailler dur pour les choses que j'aspire à réaliser. Qu'Allah te protège et te béni « **YEMA 3zizen** ».*

- ✓ *Mon grand frère « **Djamel** » pour m'avoir appris à apprécier la vie avec toutes ses difficultés, pour tes sacrifices, que tu as fait pour garder notre famille réunie après le décès de notre père, ce n'était pas du tout une tâche facile, j'en témoigne ici, merci Big-Bro, mon deuxième Idole.*
- ✓ *Merci à ma chère sœur, « **Aicha** », mes très chers frères « **Hakim, Rabah** », d'avoir toujours été là pour moi et de m'avoir remonté le moral en me disant que tu ne peux pas attendre que la vie ne soit plus dure pour décider d'être heureuse à chaque fois que je fusse prête à arrêter, vous ne m'avez pas laissé faire, je vous suis vraiment reconnaissante, sans oublier mes frères « **Aziz, Smail** » et « **Zoubir** » pour être une source de soutien et d'encouragement constant durant les challenges.*

*Ma famille mérite une gratitude infinie, à vous tous les membres de famille **AOUADI**, je vous en suis éternellement reconnaissante. Cette thèse est un témoignage de votre amour et de vos encouragements inconditionnels.*

...**N.AOUADI**

« La vraie richesse d'un homme en ce monde se mesure au bien qu'il a fait autour de lui »

Prophète Mohamed 'qu'Allah prie sur lui et le salue'

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....

DEDICACES.....

TABLE DES MATIERES.....

LISTE DES ABREVIATIONS.....

LISTE DES FIGURES.....

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GÉNÉRALE 1

CHAPITRE I: Synthèse bibliographique

1 Système vectoriel & Maladies vectorielles 5

1.1 Définition d’une maladie vectorielle 5

1.2 Le système vectoriel et ses caractéristiques 5

1.3 Les mécanismes de la transmission d’une maladie vectorielle 5

1.3.1 Contamination du vecteur 5

1.3.2 Le développement et la transmission de l’agent pathogène 5

1.3.3 Quelques maladies à transmission vectorielles 6

1.3.3.1 La Bartonellose..... 6

1.3.3.2 La Rickettsiose 9

1.3.3.3 L’ehrlichiose 12

1.3.3.4 Wolbachia spp. 14

1.3.3.5 Fièvre Q 16

1.3.3.6 Leptospirose..... 18

2 Les arthropodes d’intérêt médical et vétérinaire (tiques & puces) 20

2.1 Tiques 20

2.1.1 Position systématique 20

2.1.2 Caractéristiques morphologiques des tiques 21

2.1.3 Cycle des tiques..... 23

2.1.4 Ecologie et étiologie des tiques 23

2.1.5 Rôle des tiques dans la transmission des maladies vectorielles 24

2.1.5.1 Rôle direct..... 24

2.1.5.2	Rôle indirect	25
2.2	Les puces	25
2.2.1	Position systématique des puces	25
2.2.2	Caractéristiques morphologiques des puces.....	26
2.2.3	Cycle de développement des puces	27
2.2.4	Ecologie et étiologie des puces	28
2.2.5	Rôle des puces dans la transmission des maladies	29
2.2.5.1	Rôle pathogène direct	29
2.2.5.2	Rôle pathogène indirect	29
3	Présentation de l'animal modèle <i>Atelerix algirus</i>	30
3.1	Le hérisson dans le monde.....	30
3.2	Le hérisson en Algérie	31
3.3	Le hérisson du Nord <i>Atelerix algirus</i>	32
3.3.1	Position systématique	32
3.3.1	Description	33
3.3.1	Répartition géographique	34
3.3.1	Habitat	35
3.4	Le Hérisson du Sud <i>Paraechinus aethiopicus</i>	36
3.4.1	Position systématique	36
	la taxonomie du hérisson de désert est présente ci-dessous (Tab.2):.....	36
3.4.2	Description	36
3.4.1	Répartition géographique	37
3.4.2	Habitat	37
3.5	Similarités entre <i>Atelerix</i> et <i>Paraechinus</i>	37
3.6	Les grandes menaces	37
3.6.1	Trafic routier	37
3.6.1	Prédation.....	38
3.6.2	Pesticides	38
3.6.3	Modifications d'habitats.....	38
3.6.4	La pêche	38
3.6.5	Pour l'espèce <i>Paraechinus aethiopicus</i>	38
3.7	Le hérisson et les parasites	38
3.7.1	Ectoparasites.....	39

3.7.1.1	Tiques	39
3.7.1.2	Puces	39
3.7.2	Endoparasites	40
3.8	Le rôle vectoriel des hérissons dans la transmission des agents pathogènes.....	40

CHAPITRE II:Présentation de la zone d'étude

4	Présentation de la zone d'étude.....	42
4.1	Zones d'échantillonnage.....	44

CHAPITRE III: Matériels & Méthodes

5	Investigation de la prévalence et l'abondance des ectoparasites chez <i>A. algirus</i>	47
	Introduction	47
5.1	Matériels	47
5.2	Méthodes	47
5.2.1	La collecte des ectoparasites (tiques & puces).....	47
5.2.2	Identification Morphologique des espèces des ectoparasites	49
5.2.3	Identification des arthropodes collectés par le Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization/Time-Of-Flight- Mass Spectrometry (MALDI-TOF/MS)	49
5.2.3.1	Principe	49
5.2.3.2	La préparation des ectoparasites	50
5.2.4	Extraction d'ADN des arthropodes	51
5.2.5	L'identification Moléculaire des arthropodes	51
5.2.6	Calcul des indices parasitaires.....	52
5.2.6.1	La prévalence parasitaire	52
5.2.6.2	Intensité parasitaire moyenne	52
5.2.6.3	L'abondance parasitaire moyenne	53
6	Détection des microorganismes chez <i>A. algirus</i>	53
	Introduction	53
6.1	Matériels	53
6.2	Méthodes	54
6.2.1	L'entretien des hérissons & ponction cardiaque	54
6.2.1	La dissection des hérissons	54
6.2.2	Extraction d'ADN	54
6.2.3	La détection moléculaire des microorganismes pathogènes	55
6.2.1	Analyse phylogénétique	55

CHAPITRE IV:Résultats et Discussion

7	Résultats de projet I : Investigation de la prévalence et l’abondance des ectoparasites chez <i>A. algirus</i>	57
7.1	Résultat d’identification morphologique des espèces de tiques et puces	57
7.2	Résultats d’identification des arthropodes par MALDI-TOF/ MS.....	62
7.2.1	Résultat d’identification moléculaire des arthropodes collectés	64
7.3	Méthode d’exploitation des résultats par les indices parasitaires.....	67
7.4	Discussion de projet I	68
7.5	Conclusion de Projet I	70
8	Résultats de projet II : Détection des microorganismes pathogènes chez <i>A. algirus</i>	70
8.1	Résultats de détection moléculaire et d’analyse phylogénétique	70
8.1.1	<i>Coxiella burnetii</i>	70
8.1.2	<i>Leptospira</i> spp.	71
8.1.3	<i>Rickettsia</i> spp.....	73
8.1.4	<i>Bartonella</i> spp.	75
8.1.5	<i>Anaplasmataceae</i>	77
8.2	Discussion de projet II.....	81
8.3	Conclusion de projet II	87
9	CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	89
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	82
	ANNEXE 01 : Le protocole de la préparation du MALDI-TOF/MS & Protocole de biologie Moléculaire.....	
	ANNEXE 02 : Résumé des étapes de MALDI-TOF/MS	
	ANNEXE 03 : Résumé des étapes de détection moléculaire	
	ANNEXE 04 : Photographie d’entretien des hérissons & ponction cardiaque	
	ANNEXE 05 : Photographie d’entretien des hérissons & ponction cardiaque	
	ANNEXE 06 : Liste des ectoparasites collectés des cadavres des hérissons	
	ANNEXE 07 : Résumé graphique des Co-infections	
	ANNEXE 08 : Numéro d'accès à GENBANK & Résultats de détection des microorganismes dans les organes des hérissons et ses ectoparasites associés	
	ANNEXE 9 : Amorces et sondes utilisées pour la PCR en temps réel et standard.	
	ANNEXE 10 : Résumé des étapes de construction de l’arbre phylogénétique.....	
	RRODUCTION SCIENTIFIQUE	

LISTE DES ABRÉVIATIONS

SFG	Spotted Fever Group, le groupe de la fièvre pourprée
TBE	Tick-Borne Encephalitis, l'encéphalite à tiques
DHPP	Dermatite par Hypersensibilité aux Piqûres de Puce, hypersensitivity of Fleas
MIF	Micro-ImmunoFluorescence
PCR	Polymerase chain reaction
qPCR	quantitative Polymerase Chain Reaction, real-time PCR
Ct	Cycles threshold
Csa	Classification de Köppen, Climat méditerranéen à été chaud
EDTA	Acide Éthylène Diamine Tétra-Acétique
ITS (1, 2, 4)	Internal transcribed spacer
IS1111-IS30A	Insertion Sequence
ropB	RNA polymerase beta subunit gene
ftsZ	gene codant pour protéine FtsZ, mean "Filamenting temperature-sensitive mutant Z."
ompA	Outer membrane protein A gene
23S	23S rRNA, sous-unité 23S d'ARN ribosomique
16S	16s rRNA
groEL	gène code pour chapronin groEL (protein)
MALDI-TOF/MS	Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization/Time-Of-Flight- Mass Spectrometry
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool, Outil de recherche d'alignement local de base
MEGA software	Molecular Evolutionary Genetics Analysis (logiciel)

LISTE DES FIGURES

Figure 1.Photo de bartonelle espèce <i>Bartonella quintana</i> (Image, Photo Bartonella Quintana, Infectieux et Parasitologie - Vulgaris Médical, n.d.)	7
Figure 2.Photo de <i>Rickettsia conorii subsp. conorii</i> à l'intérieur d'une cellule endothéliale humaine. Coloration de Gimenez. (Renvoisé & Raoult, 2009)	10
Figure 3. <i>Ehrlichia</i> .spp. Morula (flèche) dans un leucocyte neutrophile et des érythrocytes dans le frottis de sang. (Albay et al., 2016).....	13
Figure 4.Micrographie électronique à transmission de <i>Wolbachia</i> dans une cellule d'insecte (O'Neill, 2004)	15
Figure 5. <i>Coxiella burnetii</i> . Micrographie électronique à transmission montrant une paroi cellulaire de type Gram négatif. Grossissement d'origine, x75 000.(Fournier et al., 1998).....	17
Figure 6.Une image de microscopie électronique à balayage de <i>Leptospira interrogans</i> (Koens & Lauga, 2014).....	18
Figure 7. Morphologie générale d'une tique dure femelle : face dorsale (C) (Pérez-Eid, 2007)	21
Figure 8.Terminologie de la morphologie des Ixodidae (male)(Bouattour, 2002)	22
Figure 9. Cycle de développement des ixodides(Anonymous, n.d.).....	23
Figure 10. <i>Archaeopsylla erinacei</i> (Leroy, 2016)	27
Figure 11.Cycle de développement de la puce (Charlesworth, 1991).....	28
Figure 12 . Photo originale du hérisson du Nord d'Afrique (Hérisson Algérien) <i>Atelerix algirus</i> Lereboullet 1842	34
Figure 13. Distribution géographique du Hérisson <i>Atelerix algirus</i> (Amori et al., 2008)	35
Figure 14.Photo du hérisson du Sud <i>Paraechinus aethiopicus</i> (Alsahli, n.d.).....	36
Figure 15.Photo d'un hérisson infesté par les tiques (Hosni & El Maghrbi, 2014).....	39
Figure 16.Carte géographique de la wilaya de Bouira (Anonymous, 2013).....	43
Figure 17.Carte géographique montrant les sites d'échantillonnage au niveau de la wilaya de Bouira	44
Figure 18.Méthode de récolte des tiques (Originale).....	48
Figure 19.Méthode de collecte des puces (Originale).....	48
Figure 20.Le procédé de spectrométrie de masse MALDI-TOF (Clark et al., 2013)	50
Figure 21: Photographies de puces <i>Archaeopsylla erinacei</i> prélevées sur un hérisson <i>Atelerix algirus</i> prises avec un stéréomicroscope Zeiss Axio Zoom V16 (Zeiss, Marly le Roi, France).	57

Figure 22.Critères d'identification morphologique des puces <i>Archaeopsylla erinacei</i>	58
Figure 23.Critères d'identification morphologique des tiques <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	59
Figure 24.Critères d'identification morphologique des puces <i>Haemaphysalis erinacei</i>	61
Figure 25.Photos originales des tiques	62
Figure 26.Profils spectraux MALDI-TOF MS de chaque espèce d'arthropodes.....	64
Figure 27.Arbre phylogénétique de <i>Leptospira</i> spp.....	72
Figure 28.Arbre phylogénétique de <i>Rickettsia</i> spp.	74
Figure 29.Arbre phylogénétique de <i>Bartonella</i> spp.....	76
Figure 30.Arbre phylogénétique de <i>Wolbachia</i> spp.....	78
Figure 31.Arbre phylogénétique d' <i>Ehrlichia</i> spp.	80

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Classification du hérisson <i>Atelerix algirus</i>	33
Tableau 2. Classification du <i>Paraechinus aethiopicus</i> (Hutterer, 2014)	36
Tableau 3. Tableau récapitulatif des hérissons échantillonnés selon les régions.....	45
Tableau 4. Nombre des ectoparasites récoltés des hérissons échantillonnés par région.....	46
Tableau 5. Répartition des espèces d'ectoparasites collectés.....	61
Tableau 6. Résultat d'identification des arthropodes par le MALDI-TOF/MS.....	63
Tableau 7. Résultat d'identification moléculaire des arthropodes.....	66
Tableau 8. Indices parasitaires des puces et des tiques du hérisson.....	67

Résumé

Les hérissons sont de petits mammifères sauvages. Ce sont des réservoirs potentiels de divers agents zoonotiques. La présente étude a été menée à Bouira, une région du centre-Nord de l'Algérie, elle vise à évaluer le risque de la transmission des maladies zoonotiques vers l'homme par le biais des hérissons d'Algérie (*Atelerix algirus*).

Les hérissons étaient infestés d'ectoparasites, dont *Archaeopsylla erinacei*, *Rhipicephalus sanguineus s.l.* et *Haemaphysalis erinacei*. Des organes de hérisson et des arthropodes choisis au hasard ont été dépistés de micro-organismes à l'aide de méthodes moléculaires.

Coxiella burnetii a été détectée dans les reins, la rate, *A. erinacei*, *Hae. erinacei* et *Rh. sanguineus s.l.* *Leptospira interrogans* a été détecté dans les reins. *Rickettsia felis* et *Rickettsia massiliae* ont été détectés respectivement chez *A. erinacei* et chez *Rh. sanguineus s.l.* ADN d'une *Rickettsia spp* non cultivée a été trouvé à *Hae. erinacei*. L'ADN de *Wolbachia spp.* a été détecté dans les puces.

L'ADN de nouvelles espèces potentielles de *Bartonella* et d'*Ehrlichia* a été trouvé respectivement chez les puces et les tiques.

Cette étude met en évidence la présence d'ADN provenant d'une large gamme de micro-organismes chez les hérissons et leurs ectoparasites qui pourraient être responsables de zoonoses en Algérie.

Mots-clés : Hérissons ; tiques; puces; micro-organismes; zoonoses;Algérie

Abstract

Hedgehogs are small wild mammals. They are potential reservoirs of various zoonotic agents; hence their great importance in the medical and veterinary fields. This study was conducted in Bouira, a north-central region of Algeria, and aims to assess the risk of the transmission of zoonotic diseases to humans through Algerian hedgehogs (*Atelerix algirus*).

The hedgehogs were infested with ectoparasites, including *Archaeopsylla erinacei*, *Rhipicephalus sanguineus* s.l. and *Haemaphysalis erinacei*. Hedgehog organs and randomly selected arthropods were screened for microorganisms using molecular methods.

Coxiella burnetii was detected in kidneys, spleens, *A. erinacei*, *Hae. erinacei*, and *Rh. sanguineus* s.l. *Leptospira interrogans* was detected in kidneys. *Rickettsia felis* and *Rickettsia massiliae* were detected respectively in *A. erinacei* and in *Rh. sanguineus* s.l. DNA of an uncultivated *Rickettsia* spp. was found in *Hae. erinacei*. *Wolbachia* spp. DNA was detected in fleas.

The DNA of potential new *Bartonella* and *Ehrlichia* species were found respectively in fleas and ticks.

This study highlights the presence of DNA from a broad range of microorganisms in hedgehogs and their ectoparasites that may be responsible for zoonoses in Algeria.

Keywords: Hedgehogs; ticks; fleas; microorganisms; zoonoses; Algeria.

ملخص

القنفاذ من الثدييات البرية الصغيرة. إنها خزانات محتملة للعديد من العوامل الحيوانية المنشأ. أجريت هذه الدراسة في البويرة ، وهي منطقة وسط شمال الجزائر ، وتهدف إلى تقييم مخاطر انتقال الأمراض الحيوانية المنشأ إلى الإنسان عن طريق قنفاذ القنفاذ الجزائرية (*Atelerix algirus*).

كانت القنفاذ موبوءة بالطفيليات الخارجية ، بما في ذلك *Archaeopsylla erinacei* و *Rhipicephalus sanguineus s.l.* و *Haemaphysalis erinacei*. وتم فحص أعضاء القنفاذ ومفصليات الأرجل المختارة عشوائياً بحثاً عن كائنات دقيقة باستخدام الطرق الجزيئية.

تم اكتشاف بكتيريا *Coxiella burnetii* في الكلى والطحال و *A. erinacei* و *Hae. erinacei* و *Rh. sanguineus s.l.* تم اكتشاف *Leptospira interrogans* في الكلى. تم اكتشاف *Rickettsia felis* و *Rickettsia massiliae* على التوالي في *A. erinacei* و *Rh. sanguineus s.l.*

وكذلك العثور على الحمض النووي *Rickettsia spp.* غير المزروعة في *Hae. erinacei* و أيضاً تم الكشف عن الحمض النووي *Wolbachia spp.* في البراغيث.

تم العثور على الحمض النووي للأنواع الجديدة المحتملة من *Bartonella* و *Ehrlichia* في البراغيث والقراد.

تسلط هذه الدراسة الضوء على وجود الحمض النووي من مجموعة واسعة من الكائنات الحية الدقيقة في القنفاذ والطفيليات الخارجية التي قد تكون مسؤولة عن الأمراض الحيوانية المنشأ في الجزائر.

الكلمات الرئيسية: القنفاذ. القراد. البراغيث. الكائنات الدقيقة؛ أمراض حيوانية المصدر. الجزائر.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La plupart des maladies infectieuses émergentes sont d'origines zoonotiques; la faune constitue un réservoir de grande taille et obscur. Les zoonoses à réservoir sauvage caractérisent un enjeu sanitaire important qui influence l'ensemble des continents (Chomel et al., 2007).

Les hérissons sont de petits mammifères sauvages au pelage épineux. C'est une espèce synanthropique commune vivant dans des terriers, non seulement en milieu rural, mais aussi en milieu urbain et périurbain, ils sont des animaux solitaires, nocturnes et insectivores ; Ils sont des membres de la sous-famille des *Erinaceinae* dans l'ordre des *Erinaceomorpha*. ils ont une large aire de répartition territoriale, différentes régions habitées par différentes espèces et sous-espèce (Temple & Cuttelod, 2009 ; Khaldi et al., 2012 ; Nematollahi et al., 2014).

Sur les trois genres des hérissons existants dans l'Afrique, l'Algérie héberge deux espèces appartenant aux genres *Atelerix*, et *Paraechinus*, *Atelerix algirus* est classé comme préoccupation mineure (Least Concern : LC) dans la liste des espèces menacées d'extinction, cependant *Paraechinus aethiopicus* est classé comme Data Deficient (DD). Le Hérisson d'Algérie *Atelerix algirus* est encore très peu étudié malgré sa grande répartition en Afrique du Nord et dans tout le Nord de l'Algérie. Les travaux concernant cette espèce en Algérie portent sur l'étude de son régime alimentaire. L'étude du régime alimentaire du hérisson a fait l'objet de nombreux travaux : (Biche, 2003 ; Mimoun, 2006 ; Mderdoux, 2008 ; Guerzou, 2009). Autres travaux concernant le hérisson d'Algérie, on cite l'étude de (Bengougam, 2009) ; (Mouhoub-Sayah, 2009) et (Ouarab & Doumandji, 2010).

Les hérissons accueillent une grande variété de différents ectoparasites, endoparasites, helminthes et ils sont connus pour être très fortement infestés des ectoparasites comprenant les puces *Archaeopsylla erinacei*, *Ctenocephalides canis*, *Ctenocephalides felis* et *Leptopsylla segnis*, et les tiques *Rhipicephalus sanguineus s.l.*, *Haemaphysalis erinacei*, *Haemaphysalis parva*, *Ixodes hexagonus*, *Ixodes ricinus* et *Hyalomma excavatum* (Skuballa et al., 2010 ; Khaldi et al., 2012 ; Nematollahi et al., 2014 ; Goz et al., 2016 ; Leulmi et al., 2016).

Au cours des dernières décennies, les progrès évidents des outils de biologie moléculaire ont apporté une grande aide en termes d'identification des micro-organismes infectant les hérissons et leurs ectoparasites (Riley & Chomel, 2005). Des recherches antérieures ont

démontré la présence d'*Anaplasma phagocytophilum*, l'agent causal de l'anaplasmose granulocytaire chez les hérissons européens (*Erinaceus europaeus*), les hérissons à poitrine blanche (*Erinaceus roumanicus*) et leurs tiques (Skuballa et al., 2010; Silaghi et al., 2012 ; Szekeres et al., 2019).

En outre, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* a été détecté chez des hérissons urbains d'*E. roumanicus* à Budapest, en Hongrie, cette bactérie émergente, non cultivée est provisoirement incluse dans la famille des Anaplasmataceae, responsable d'une infection atypique sévère chez les humains ; et jusqu'à présent associée uniquement aux réservoirs de rongeurs. Par ailleurs, l'agent de la maladie de Lyme (*Borrelia burgdorferi s.l.*) avait été révélé sa présence chez les hérissons *Erinaceus roumanicus*, *E. europaeus* et leurs tiques (Skuballa et al., 2007 ; Földvári et al., 2014; Szekeres et al., 2019).

Récemment, les rickettsies du groupe de la fièvre pourprée (*Rickettsia conorii*, *R. Massiliae*, *R. Siberica* et *R. Helvetica*) ont été détectées chez les hérissons et leurs tiques, de plus et *R. felis* a été signalé dans des puces prélevées sur des hérissons dans différents pays (Chen et al., 1997 ; De Sousa et al., 2006 ; Khaldi et al., 2012 ; Marié et al., 2012 ; Szekeres et al., 2019 ; Greigert et al., 2020).

Auparavant ,autres bactéries avaient été retrouvées chez les hérissons, comme: *Coxiella burnetii*, *Salmonella* spp., *Mycobacterium marinum*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* , *Chlamydia psittaci* et *Leptospira* spp. ; des protozoaires (*Leishmania* spp. , *Toxoplasma gondii* et *Cryptosporidium*) (Riley & Chomel, 2005 ; Tomás-Pérez et al., 2014 ; Aouadi et al., 2021).

Cependant, le peu de recherches qui sont réalisées sur leur statut d'hôte réservoir de maladies zoonotiques en Algérie a rapporté la présence d'ADN et d'anticorps contre *Leishmania major*, l'agent de la leishmaniose cutanée chez *A. algirus* et *P. aethiopicus*, suggérant que ces hérissons pourraient être un réservoir naturel de cette zoonose en Algérie (Tomás-Pérez et al., 2014).

De plus, l'ADN de *Rickettsia felis* a été détecté chez *A. erinacei* et *C. felis* collectés d' *A. algirus* et chez *A. erinacei* de *P. aethiopicus* , et celui de *R. massiliae* et *R. conorii* dans *Rh. sanguineus s.l.* échantillonné sur des hérissons. Par ailleurs, *Bartonella elizabethae* et *Bartonella clarridgeiae* ont été signalés chez *A. erinacei* collectés sur des hérissons de l'Ouest

algérien (Oran et Mascara) (Bitam et al., 2006 ;Bitam et al., 2006 ; Khaldi et al., 2012 ; Bitam et al., 2012 ;Kernif et al., 2012 ;Leulmi et al., 2016).

L'Algérie étant une région endémique pour les rickettsioses du groupe des fièvres pourprées (SFG) ainsi que pour diverses autres zoonoses (Khaldi et al., 2012) (Kernif et al., 2012), l'identification de réservoirs potentiels et d'arthropodes vecteurs représente donc une étape importante dans la prévention de ces maladies.

Le présent travail vise à étudier la population d'ectoparasites chez les hérissons *Atelerix algirus*, puis dans un second temps étudier la présence de divers micro-organismes zoonotiques dans les organes de hérisson et dans leurs arthropodes hématophages associés dans une région du centre-Nord de l'Algérie (wilaya de Bouira), cette étude a pour finalité de répondre à la question clé suivante : Peut *Atelerix algirus* avec ses ectoparasites jouer un rôle épidémiologique dans la transmission des maladies vectorielles à son environnement y compris l'homme en Algérie ?

Pour tenter de répondre à cette question, le présent manuscrit est structuré en quatre chapitres :

- **Le chapitre I** présente une synthèse bibliographique, qui est divisée en trois parties ,la première est consacrée aux maladies vectorielles, où nous nous intéressons, en première section, au système vectoriel, ses caractéristiques et mécanismes puis en seconde section nous proposons une petite revue bibliographique de quelques maladies bactériennes à transmission vectorielles (Bartonellose, Rickettsiose, Ehrlichiose, Fièvre Q) et la Leptospirose, dont nous abordons leurs étiologies, épidémiologies, diagnostics et traitements.

La deuxième partie permet d'évoquer l'entomologie médicale, dans sa première section, nous nous focalisons sur les tiques où leurs biologiques, ecologies, leurs rôles dans la transmission des maladies vectorielles est détaillée.La deuxième section présente les puces avec la même approche des tiques, cette synthèse permet bien de comprendre le rôle majeur de ces insectes suceuses du sang dans l'émergence et ré-émergence des maladies infectieuses. La dernière partie s'attache à la présentation de l'animal en question, le hérisson Algérien *Atelerix algirus*, elle est composée de trois grandes sections dont la première porte sur la biologie des hérissons,la taxonomie et leurs

répartitions géographiques ainsi qu'aux espèces des hérissons indigènes en Algérie, la deuxième section est orientée à la présentation des parasites de hérisson (endo et ectoparasites).

Enfin, la dernière section portera le rôle vectoriel des hérissons dans la transmission des maladies.

- **Le chapitre II** présente la zone d'étude et ses caractéristiques climatiques.
- **Le chapitre III** est une présentation de différents matériels et techniques utilisés dans les deux projets dont le premier a pour but d'investiguer l'abondance et la prévalence des arthropodes infestant les populations d'*Atelerix algirus* dans la wilaya de Bouira, en premier lieu nous avons collecté les ectoparasites des hérissons vivants et morts, puis en second nous avons procédé à une identification morphologique initiale au laboratoire de l'université Akli Mouhand Oulhadj, suivi d'une deuxième identification à IHU-Marseille, dans le but de confirmer l'identification initiale nous avons soumis quelques échantillons de puces et tiques à une identification moléculaire et protéomique (MALDI-TOF/ MS), en dernier lieu nous avons exploité ces résultats pour calculer quelques indices parasitaires (étude statistique).
Le deuxième projet vise à rechercher les microorganismes pathogènes dans des échantillons de sang, d'organes et d'ectoparasites d'*Atelerix algirus*, grâce à l'aide des techniques de biologie moléculaire : qPCR, PCR standard (conventionnelle), une analyse phylogénétique des séquences obtenues.
- **Le chapitre IV** présente les résultats obtenus des deux projets suivi d'une discussion conclusion des ces deux projets pour clôturer.

Évidemment, ces quatre chapitres sont suivis par une conclusion générale qui dresse un bilan de nos travaux : les limites de notre étude ainsi que les perspectives envisageables.

Enfin, un complément d'informations est fourni en annexes de la présente thèse de doctorat.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Systeme vectoriel & Maladies vectorielles

1 Système vectoriel & Maladies vectorielles

1.1 Définition d'une maladie vectorielle

Une maladie vectorielle résulte de la transmission d'une infection à un homme ou un animal par l'intermédiaire d'un arthropode hématophage (moustique, tique, moucheron, mouche). Elle repose sur les interactions complexes entre un agent pathogène, un (ou des) vecteur(s) et un (ou des) hôte(s) au sein d'un écosystème. Une maladie vectorielle fait également intervenir un réservoir (populations de vertébrés ou d'invertébrés) qui assure le maintien de l'agent infectieux dans la nature (Pottier, 2008).

1.2 Le système vectoriel et ses caractéristiques

Le système vectoriel fait intervenir un vecteur dans le but de faciliter la rencontre entre un agent pathogène et son hôte et éviter les pertes d'agents infectieux liées au passage dans le milieu extérieur.

Un nombre de maladies émergentes du fait notamment des changements écologiques tels le réchauffement climatique et la modification des écosystèmes, sont des maladies à transmission vectorielle. En effet, ces maladies sont particulièrement sensibles aux changements écologiques susceptibles de modifier l'aire de répartition de certains pathogènes et/ou vecteurs et de favoriser la propagation de la maladie (Tran et al., 2005).

1.3 Les mécanismes de la transmission d'une maladie vectorielle

Trois acteurs nécessaires au cycle de transmission vectorielle : l'hôte, le vecteur et le pathogène (Cochet & Moussion, 2013).

Les mécanismes de la transmission vectorielle se déroulent en trois phases successives : la contamination du vecteur au cours d'un repas sanguin, le développement de l'agent pathogène dans l'organisme du vecteur et la transmission à un hôte vertébré réceptif (Rodhain, 1999).

1.3.1 Contamination du vecteur

Le vecteur acquiert un agent pathogène (virus, bactérie, protozoaire ou helminthe), lors d'un repas de sang sur un hôte parasité.

1.3.2 Le développement et la transmission de l'agent pathogène

Différents scénarios peuvent être envisagés en fonction du mode de transmission :

- le pathogène ne subit aucune transformation dans le vecteur. Le vecteur joue donc le rôle d'une seringue. A l'occasion d'un repas de sang interrompu sur un hôte infecté, ses pièces buccales se contaminent et vont infecter un hôte sain lors du prochain repas de sang de ce vecteur. C'est la transmission mécanique comme les taons pour la transmission aux bovins de la besnoitiose en France, mais aussi du trypanosome *T. vivax* en Guyane.
- le pathogène réalise un cycle de transformation dans l'organisme du vecteur. Il devient ensuite infectant et sera transmis à un hôte au cours du prochain repas sanguin du vecteur. Le délai entre la contamination du vecteur et le moment où l'agent est infectant est appelé incubation extrinsèque, ce mode appelé la transmission biologique, il est observé pour le paludisme avec son vecteur l'anophèle.
- le vecteur transmet l'agent pathogène à un hôte sain. La transmission vectorielle se fait par la salive, les déjections, ou par régurgitation. L'hôte devient infecté puis infectant. Un vecteur sain pourra se contaminer sur cet hôte et recommencer un cycle de transmission. C'est la transmission à un hôte vertébré.

Maladies zoonotiques à transmission vectorielle sont souvent maintenues dans des cycles de transmission complexes impliquant de multiples hôtes vertébrés et de leurs vecteurs arthropodes. Par conséquent, le risque de maladie est intrinsèquement lié à l'écologie des hôtes vertébrés, les agents pathogènes et de leurs vecteurs (Salkeld et al., 2010).

Hôtes vertébrés peuvent avoir divers rôles dans les cycles de transmission de l'agent pathogène, allant de porteurs asymptomatiques aux hôtes réservoirs, hôtes amplificateurs, des hôtes d'entraînement, et les animaux qui soutiennent les populations de vecteurs sans contribuer directement à la propagation des maladies (Fenton & Pedersen, 2005).

1.3.3 Quelques maladies à transmission vectorielles

1.3.3.1 La Bartonellose

La bartonellose est un amas de conditions cliniques affectant l'être humain et une variété des animaux, un grand nombre d'infections de *Bartonella* sont des zoonoses. Les manifestations zoonotiques les plus couramment reportées des infections sont la maladie des griffes de chat, l'angiomatose bacillaire, l'endocardite et la neurorétinite (Guptill, 2010). La première description de la bactérie par le médecin péruvien Alberto Barton était en 1909, il s'agit de l'espèce *Bartonella bacilliformis*.

Le genre *Bartonella* ne comportait qu'une seule espèce jusqu'au 1993, puis leur nombre a augmenté du fait de la découverte de nouvelles espèces et d'une reclassification de bactéries incluses jusqu'alors dans d'autres genres (Breitschwerdt & Kordick, 2000).

Le genre *Bartonella* appartient à la famille des *Bartonellaceae* issue du groupe des *Rhizobiaceae* appartenant à la sous-division alpha des Protéobactéries ; voisines des rickettsies et brucelles ; il contient plus de 30 espèces qui ont été décrites jusqu'à présent. En fait, après la mise en œuvre des outils moléculaires plus efficaces pour la détection, le nombre de nouvelles espèces augmente rapidement (Gil et al., 2010).

Les bactéries de la famille *Bartonellaceae* sont Gram négatives et non acido-alcoolorésistantes. Elles sont polymorphes : elles peuvent apparaître sous forme de coques, de bâtonnets ou en anneau et sont souvent filamenteuses. Les bartonelles sont de petites tailles qui ne dépassent pas 3 μm de longueur (Brenner et al., 1993). Les bacilles de *B. henselae* mesurent de 0.3 à 0.6 sur 0.3 à 1 μm et ceux de *B. bacilliformis* de 0.2 à 0.5 sur 1 à 2 μm (Fig.1).



Figure 1. Photo de bartonelle espèce *Bartonella quintana* (Image, Photo Bartonella Quintana, Infectieux et Parasitologie - Vulgaris Médical, n.d.)

Ce sont des bactéries aérobiques de Gram négatives, oxydase, catalase, nitrate-réductase, indole et uréase négatives, de forme bacillaire ; elles sont principalement hémotropes, des parasites intracellulaires facultatifs associés avec des érythrocytes et les cellules endothéliales de mammifères (Dehio, 2001 ; Birtles, 2005).

Leur culture sont difficile, car elles poussent lentement, entre 10 jours et 6 semaines et cela dans des conditions inhabituelles (Del Prete et al., 2000) .

La taille du génome des bartonelles est relativement petite : 1700 à 2174 kilobases. Son contenu en guanine et cytosine (GC%) est faible : 38.5 à 41 mol %, le génome de *B. henselae*

de 1,9 MB, se présente sous forme d'un ADN circulaire contenant 1665 gènes et 124 pseudogènes. Son G+C % est de 38 (Li et al., 2007).

Les bartonelles ont déjà été retrouvées sur quatre continents : L'Europe, L'Amérique du Nord et l'Amérique du Sud, L'Afrique et L'Asie (Chomel et al., 1999 ; Bermond et al., 2000;Staggemeier et al., 2010).La distribution géographique des bartonelles varie considérablement selon les espèces.

Les points communs qui relient les *Bartonella* spp. sont d'une part leur hémotropisme chez les mammifères qui leur servent de réservoir et d'autre part le fait qu'elles soient transmises par les arthropodes suceurs de sang. La transmission s'effectue lors du repas sanguin par inoculation lors de la piqûre ou morsure, mais aussi par l'intermédiaire des déjections et des lésions de grattage avec un phénomène d'amplification bactérienne réalisée dans le tube digestif de l'arthropode (Gandois, 2013).

De nombreuses espèces de *Bartonella* semblent être bien adaptées à la survie prolongée chez les hôtes réservoirs mammifères. Une bactériémie prolongée chez les hôtes réservoirs cliniquement normaux est considérée commune (Jacomio et al., 2002 ;Chomel et al., 2003). Les chats semblent être le principal réservoir mammifère pour les espèces zoonotiques importants, *B. henselae*, et aussi pour *B. clarridgeiae* et éventuellement *B. koehlerae* (B. Chomel et al., 2004). Les coyotes et les chiens peuvent être des réservoirs mammifères pour *B. vinsonii subsp. Berkhoffii* et des chiens et des renards pour *candidatus B. rochalimae* (Henn et al., 2009; Chomel et al., 2003).D'autres exemples d'hôtes réservoirs comprennent les bovins, qui semblent être le réservoir mammifère pour *B. bovis*, les écureuils terrestres de Californie pour *candidatus B. washoensis*, et les êtres humains pour *B. quintana* et *B. bacilliformis* (Bermond et al., 2000;Kosoy et al., 2003).

Plusieurs arthropodes ont été impliqués dans la transmission de bartonelles tels que les poux de corps humains, les puces de chat, les mites d'oreille du campagnol, les phlébotomes encore les tiques (Breitschwerdt et al., 2001).

Les bartonelloses humaines sont un groupe de maladies avec un spectre clinique qui augmente rapidement. Les manifestations bien connues comme la maladie de Carrion (*B. bacilliformis*), la fièvre des tranchées (*B. quintana*), maladie des griffes du chat (*Bartonella henselae*), et l'angiomatose bacillaire sont des exemples de d'infection au *Bartonella* spp (Velho et al., 2003). Parallèlement à ces maladies, la bactériémie récurrente, l'endocardite, l'érythème polymorphe, l'angiomatose bacillaire, la péliose hépatique, et d'autres syndromes ont été rapportés avoir été causés par des bactéries de ce genre (Edouard & Raoult, 2010).

En raison du manque de la sensibilité des techniques microbiologiques classiques, la bartonellose est généralement diagnostiquée par PCR amplification des séquences d'ADN spécifiques à l'organisme et / ou par des tests sérologiques (Breitschwerdt, 2014).

Le développement récent d'une approche d'isolement plus sensible en utilisant culture de cellule d'insecte à base de milieu de croissance suivie d'une amplification PCR et séquençage de l'ADN a grandement facilité la détection moléculaire et l'isolement réussi de *Bartonella* spp. depuis le sang d'animaux malades ou sains, y compris les chats, les chiens, les dauphins et les humains (Duncan et al., 2007; Lynch et al., 2011).

La sérologie du bartonelle manque de sensibilité et ne peut être utilisée pour impliquer une exposition antérieure à *Bartonella* spp., Même lorsque le sérum des patients de la MGC, qui est causé par *B. henselae*, est utilisé dans divers laboratoires de diagnostic pour le dépistage des anticorps par immunofluorescence, les sensibilités de test allaient 14-100% (Tsuruoka et al., 2012).

Les *Bartonella* ont une sensibilité *in vitro* à de nombreux antibiotiques dont les aminosides, les tétracyclines, la rifampicine, les fluoroquinolones et le cotrimoxazole (Ives et al., 1997).

Dans l'étude de Kordick et al., (1997), divers antibiotiques, dont la doxycycline et l'amoxicilline, semblaient efficaces pour réduire le nombre de bactéries dans le sang ; en outre la gentamicine en association avec la doxycycline est considérée comme la meilleure stratégie thérapeutique pour l'endocardite, et l'érythromycine est l'antibiothérapie de première intention pour le traitement des lésions angioprolifératives. La rifampicine ou la streptomycine peuvent être utilisées pour traiter la *verruca peruana* (Pathogenicity and Treatment of Bartonella Infections, 2014).

Cependant Rolain et al., (2004), suggèrent que le traitement des infections à *Bartonella* doit être adapté à chaque situation clinique, à l'espèce de *Bartonella* infectante et à la forme aiguë ou chronique de la maladie : selon ces scientifiques, Il est important que lorsque les infections à *Bartonella* les plus graves sont reconnues, diagnostiquées et traitées en temps opportun, l'issue soit généralement favorable.

1.3.3.2 La Rickettsiose

Les rickettsioses représentent des maladies infectieuses causées par des rickettsies. Elles sont associées aux arthropodes (essentiellement les tiques, mais aussi les poux, les puces, les cochenilles et les acariens). Ceux-ci sont vecteurs et/ou réservoirs et/ou sièges de

multiplication dans le cycle bactérien (Parola & Raoult, 2001). La première description évoquant le typhus des broussailles (*Scrub typhus*) date du III^e siècle en Chine.

La taxonomie des rickettsies a été modifiée par le développement des techniques de biologie moléculaire, en 1989, il a été montré que le genre *Rickettsia* appartient la classe alpha des protéobactéries (Weisburg et al., 1989), et à l'ordre des Rickettsiales qui a été historiquement divisé en 3 familles : les *Rickettsiaceae*, les *Bartonellaceae* et les *Anaplasmaeae* ; et à la famille des *Rickettsiaceae* (Renvoisé & Raoult, 2009).

Les rickettsies sont des bactéries intracellulaires strictes de 0,3–0,5×0,8–2 μm (Fig.2). Elles ne sont pas colorées par la coloration de Gram. Pour les mettre en évidence en microscopie optique, il faut avoir recours à la coloration de Gimenez utilisant la fuchsine basique et la coloration de Giemsa (Ngwamidiba et al., 2006).

La multiplication des rickettsies se fait par scissiparité, uniquement en situation intracellulaire. Leur température optimale de croissance est de 32 °C pour les rickettsies du groupe boutonneux, 35 °C pour le groupe typhus et *O. tsutsugamushi*. Le génome des rickettsies est constitué d'un chromosome circulaire (Hansmann, 2009).

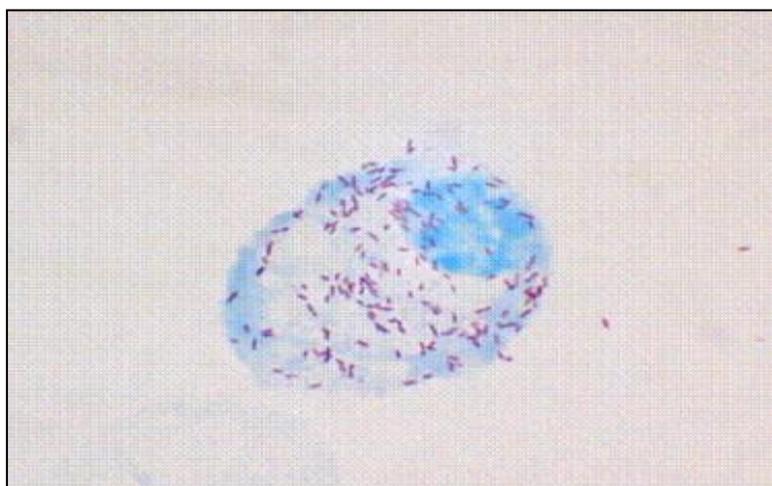


Figure 2. Photo de *Rickettsia conorii subsp. conorii* à l'intérieur d'une cellule endothéliale humaine. Coloration de Gimenez. (Renvoisé & Raoult, 2009)

Les rickettsioses sont présentes dans de nombreuses régions du monde et dans les cinq continents (Parola et al., 2013), leur présence est en fonction de la présence de leur vecteur et de la répartition des réservoirs.

L'incidence saisonnière des rickettsioses dépend du cycle de développement de l'arthropode. L'augmentation de l'incidence mondiale observée ces dernières années présente plusieurs explications. Hormis une augmentation de l'intérêt, il existe très probablement une augmentation des contacts vecteurs-humains.

Comme pour les autres maladies vectorielles, la transmission de la bactérie au vecteur peut se faire par plusieurs mécanismes qui sont l'infection du vecteur lors d'un repas de sang sur un hôte infecté, la transmission transovarienne ou la transmission trans-stadiale [transfert de la bactérie de stade en stade de développement du vecteur, de larves à nymphes et de nymphes à adultes] (Parola et al., 2005).

Dans la plupart des cas, le réservoir est représenté soit par l'homme pour *R. prowasekii* à l'origine du typhus, soit par des mammifères comme le chien dans la fièvre boutonneuse méditerranéenne. Dans certains cas, les arthropodes vecteurs peuvent aussi constituer le réservoir, ou jouer un rôle d'amplificateur du cycle bactérien tel que les tiques et les puces (Hansmann, 2009).

Les rickettsioses sont reconnues comme importantes infections émergentes à transmission vectorielle chez les humains, elles sont transmises par les différents types d'arthropodes, les tiques, les puces, les poux et les acariens (Bitam, 2012).

Les rickettsioses partagent des manifestations cliniques communes telles que la fièvre, le malaise, l'exanthème, présence et absence d'une escarrification et une lymphoadénopathie.

Les scientifiques ont distingué deux groupes au sein du genre des *Rickettsia*, dont la différence était basée initialement sur les manifestations cliniques, Le groupe « typhus » qui comporte *Rickettsia prowasekii*, agent du typhus exanthématique, *Rickettsia typhi* à l'origine du typhus murin et *Rickettsia canada*. Ces rickettsioses provoquent des fièvres éruptives, plus ou moins sévères.

Le groupe des fièvres boutonneuses qui comporte de nombreuses espèces de rickettsies, dont les mieux connues sont *Rickettsia rickettsii*, agent de la fièvre pourprée des montagnes rocheuses, *Rickettsia conorii*, agent de la fièvre boutonneuse méditerranéenne, *Rickettsia africae* à l'origine de la fièvre boutonneuse africaine, ou encore *Rickettsia australis*, agent de la fièvre du Queensland. Ce groupe est caractérisé cliniquement par l'association fréquente, mais non obligatoire, d'une fièvre éruptive à une plaie correspondant à la trace de l'inoculation de la rickettsie par l'arthropode vecteur, souvent une tique (Hansmann, 2009), et le groupe *Orientia* comprend des rickettsies proches de la bactérie *Orientia tsutsugamushi*.

Le diagnostic des rickettsioses est souvent confirmé par la sérologie qui reste le moyen le plus accessible au laboratoire de routine, la technique de la micro-immunofluorescence (MIF) constitue la méthode de référence pour le sérodiagnostic des rickettsioses. Il s'agit d'une méthode sensible et spécifique. (Eremeeva et al., 1994;Brouqui et al., 2004).

La PCR est une méthode sensible et spécifique pour la détection et des rickettsies. Différents types de prélèvements peuvent être utilisés tels que les biopsies cutanées au niveau de l'escarre ou de l'éruption cutanée, les prélèvements de sang total ou même les tiques ou les puces. Ce sont les PCR faites sur les biopsies cutanées qui sont les plus sensibles. Différents gènes peuvent être ciblés:ompA, ompB, gltA, sca1, sca4 et 17kDa (Roux et al., 1997;Ngwamidiba et al., 2006).

Devant une suspicion de rickettsiose,il faut traiter empiriquement,sans attendre la confirmation diagnostique. À l'inverse, une piqûre de tique asymptomatique ne doit pas s'accompagner d'un traitement empirique systématique. La doxycycline (200 mg/j) est l'antibiothérapie de référence des rickettsioses transmises par les tiques pour les adultes, comme pour les enfants (Chapman et al., 2006 ;Renvoisé & Raoult, 2009).

Il a été démontré que les rickettsies du groupe boutonneux sont sensibles à la doxycycline, chloramphénicol,rifampicine,télithromycine et quinolones,et sont résistantes aux bêtalactamines, cotrimoxazole, érythromycine et aux aminosides. Les rickettsies du groupe des typhus ont le même profil de sensibilité sauf qu'elles sont sensibles à l'érythromycine (Rolain et al., 2004 ;Whitman et al., 2007).

1.3.3.3 L'ehrlichiose

L'ehrlichiose est une infection transmise par des tiques responsables de fièvre, de frissons, de douleurs musculaires, de maux de tête et d'une sensation générale de malaise (Petri, 2020).

Elle est causée par des bactéries (*Ehrlichia* spp.) Gram-négatives intracellulaires obligatoires appartenant à l'ordre des rickettsiales, la famille des *Anaplasmataceae* , elles sont des agents pathogènes des cellules eucaryotes. Elles ont évolué pour survivre et se répliquer dans un large éventail de tiques et d'hôtes mammifères, y compris les humains (Dunning et al., 2006).

Décrites pour la première fois chez l'homme en 1964 au japon, les bactéries du genre *Ehrlichia* ont été découvertes en 1935 par Donatien et Lestoquard en Algérie dans le sang d'un

chien infesté par des tiques du type *Rhipicephalus sanguineus* à l'institut Pasteur d'Alger, et fut baptisée *rickettsia canis* (Brouqui, 1998).

Elles sont non mobiles et mesurent entre 0,2 et 2 μm de diamètre. Elles se localisent et se multiplient dans des vacuoles intracytoplasmiques. Elles forment ainsi des agrégats bactériens nommés morula (« mûre » en latin) appelé *Ehrlichiae*, visibles en microscopie optique par les colorations Diff Quick®, Wright ou Giemsa sous la forme d'inclusion arrondie de 1 à 7 μm de diamètre prenant une teinte pourpre violine (fig.3) (Dahmani et al., 2018).

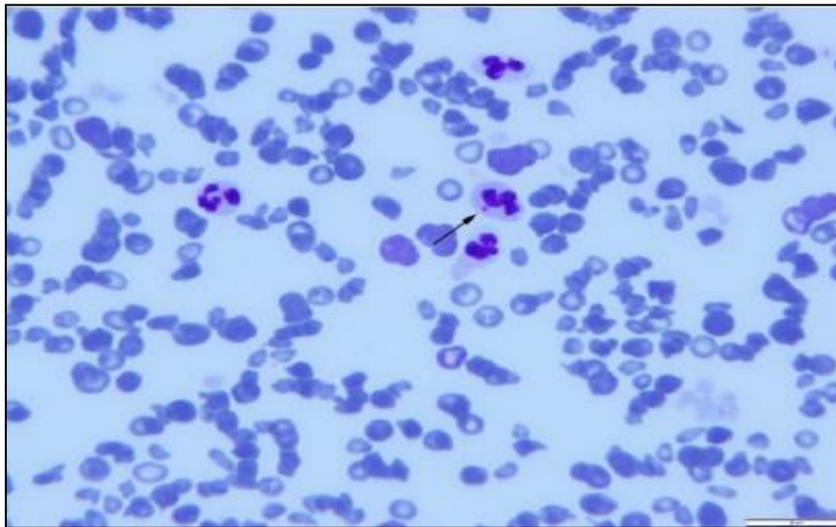


Figure 3. *Ehrlichia*. spp. Morula (flèche) dans un leucocyte neutrophile et des érythrocytes dans le frottis de sang. (Albay et al., 2016)

Ces bactéries de la famille sont transmises par piqûre de tiques dures. Ainsi, l'épidémiologie des maladies qui en découlent est intimement liée à la bioécologie de ces tiques vectrices. Les tiques vectrices d'*Ehrlichia chaffeensis*, d'*E. ewingii* et d'*E. ruminantium* sont principalement du genre *Amblyomma*, mais aussi *Ixodes ricinus* et *Hyalomma detritum* (Parola et al., 2003 ;Sarih et al., 2005).

Ces arthropodes hématophages de la classe *Arachnida* sont de distribution quasi universelle et parasitent toutes les classes de vertébrés. L'homme n'est lui qu'un hôte accidentel, qui peut lors de la piqûre être contaminé par les bactéries qui circulent habituellement entre tiques et populations animales, les réservoirs d'*Ehrlichia* spp. sont des mammifères sur lesquels se nourrissent les tiques vue l'absence de transmission transovarienne dans ces tiques vectrices (Dahmani et al., 2018).

La répartition géographique est spécifique à chaque ehrlichiose et étroitement dépendante de la répartition du vecteur intervenant dans le cycle infectieux. De même, leur prédominance au printemps et en été, est liée à l'activité saisonnière des tiques.

L'Ehrlichiose monocyttaire canine (CME) est une maladie transmise à la tique qui peut causer la mort chez les chiens et les chats par *Ehrlichia Canis*, *E.chaffeensis*, est l'agent de l'ehrlichiose monocyttaire humaine (HME), peut également provoquer des maladies chez plusieurs autres vertébrés, y compris les chiens et les cerfs. Ehrlichiose granulocytaire à *Ehrlichia ewingii*, il existe aussi une nouvelle espèce proche d'*Ehrlichia canis* semble être l'agent responsable d'une ehrlichiose humaine au Venezuela (EHV)(Perez et al., 1996).

La recherche de *morulae* sur frottis sanguin est très peu rentable en raison de la faible quantité des monocytes circulants. La recherche d'anticorps contre ces bactéries dans le sang peut être utile, mais ce type de tests ne peut généralement pas détecter les anticorps pendant plusieurs semaines après le début de la maladie. Le test le plus sensible reste la PCR, cherchant le gène codant l'ARNr 16S reste le plus utilisé (Petri, 2020).

Ehrlichia chaffeensis est sensible à la doxycycline et à la rifampicine, elle est résistante aux fluoroquinolones. Elle est également résistante aux β -lactamines, cotrimoxazole, macrolides et tétracycline, ainsi qu'aux phénicolés (thiamphénicol, chloramphénicol) (Dahmani et al., 2018).

1.3.3.4 *Wolbachia* spp.

Les endosymbiontes de *Wolbachia* englobent un grand groupe de bactéries intracellulaires d'importance biomédicale et vétérinaire, étroitement liées à *Anaplasma*, *Ehrlichia* et *Rickettsia*, elles sont découvertes par le microbiologiste américain Marshall Hertig et nommées selon son collègue et collaborateur Simeon Burt Wolbach en 1924, chez les ovaires des moustiques *Culex pipiens* (Hertig & Wolbach, 1924).

Ce genre de membres à Gram négatif des Alphaprotéobactéries n'infecte pas les vertébrés mais se limite plutôt aux espèces d'ectoparasites, y compris les arthropodes terrestres et une famille de nématodes filaires parasites, les *Onchocercidae* (Landmann, 2019).

Les différentes souches de *Wolbachia* spp. ont été classées dans des lignées phylogénétiques majeures appelées supergroupes ou clades. Des études phylogénétiques récentes mettent ainsi en évidence la présence de 21 génogroupes (de A à Q) au sein du genre *Wolbachia*. Les clades A, B, E, G, H, I, K, M, N, O, P et Q ne contaminent que les arthropodes. Les clades C,

D, J infectent les filaires. Le clade L identifié dans un nématode parasite la plante *Radopholus similis* (*Tylenchidae*), et enfin, le clade F infecte à la fois les arthropodes et les filaires (Dahmani et al., 2018).

Wolbachia spp. fait parti de la famille des *Anaplasmataceae*, elle partage les mêmes caractères morphologiques avec les autres membres de la famille tels que :*Ehrlichia*, *Anaplasma*,,,elle est Gram négatif ,non mobile ;cette bactérie de petite taille (0,5 à1 µm) peut se transmettre verticalement grâce à sa capacité d'induire une série de distorsions de la reproduction chez leurs hôtes pour augmenter le succès de reproduction des femelles infectées, améliorant ainsi la transmission maternelle de *Wolbachia* (fig.4) (Werren et al., 2008).

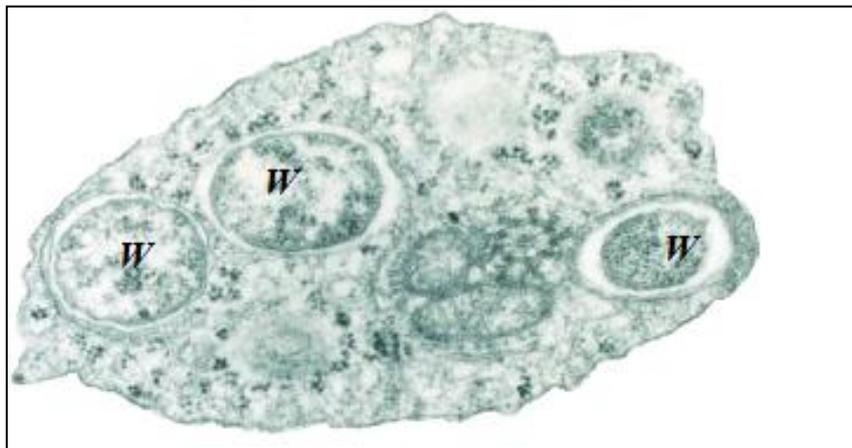


Figure 4.Micrographie électronique à transmission de *Wolbachia* dans une cellule d'insecte (O'Neill, 2004)

Il a été démontré que *Wolbachia* peut effectuer aussi un transfert horizontal naturel entre des insectes phylogénétiquement distantes , qui consiste à transmettre du microorganisme de certain hôte à leurs parasites comme le cas de *Drosophila simulans* et son parasite *Leptopilina boulardi* (Heath et al., 1999).

Les bactéries du genre *Wolbachia* ne sont pas directement responsables de pathologie chez les mammifères, l'infection des arthropodes par cette bactérie induit des altérations des fonctions reproductrices. Le succès de *wolbachia* est attribué à une transmission maternelle efficace et à des manipulations de la reproduction de l'hôte qui favorisent les femelles infectées, telles que l'incompatibilité cytoplasmique sperme-œuf (Serbus et al., 2008).

Des phénomènes similaires ont été mis en évidence chez des crustacés terrestres chez lesquels *Wolbachia* est responsable d'incompatibilité cytoplasmique, de parthénogenèse (produire une femelle à partir d'un œuf non fécondé) et de féminisation de crustacés génétiquement

mâles. De plus, la capacité des mâles à muer est réduite. Des bactéries du genre *Wolbachia* infectent également des espèces de filaires de la famille des *Onchocercidae*. Celles-ci sont des nématodes parasitant les mammifères et transmis par piqûre de moustique, dont certains sont des *Culex* eux-mêmes infectés par *Wolbachia*. Au sein des espèces filariennes infectées.

Le taux d'infection est de 100 % puisque filaire et bactérie entretiennent une relation symbiotique. *Wolbachia* joue en effet un rôle dans la fertilité et l'embryogenèse des filaires, la maturation des larves en adulte, la longévité des filaires adultes ou encore la protection du nématode infecté contre le système immunitaire du mammifère parasité. Ces caractéristiques sont à l'origine du concept de traitement des filarioses lymphatiques humaines à *Wuchereria bancrofti* mais également des filarioses vétérinaires par un antibiotique actif sur les rickettsies, la tétracycline, visant à éradiquer *Wolbachia* des filaires, et donc les filaires de l'hôte (Dahmani et al., 2018).

1.3.3.5 Fièvre Q

La fièvre Q est une zoonose causée par la bactérie intracellulaire *Coxiella burnetii*. Bien qu'il ait une gamme d'hôtes large et diversifiée, chez les animaux, cet organisme est principalement connu comme une cause des pertes de reproduction chez les ruminants domestiques.

En 1937, Edward Holbrook Derrick a proposé le nom Query fever (fièvre Q) pour décrire les maladies fébriles chez les travailleurs des abattoirs de Brisbane, Queensland, Australie (Maurin & Raoult, 1999).

Ce petit coccobacille est un pathogène intracellulaire obligatoire de la famille des *Coxiellaceae*, ordre Legionellales et subdivision gamma des *Proteobacteria* (fig.5). Selon Sandoz et al (2016), cette bactérie peut se présenter par deux formes correspondant à un cycle biphasique: La variante à grandes cellules (LCV : large cell variant) qui est la forme à réplication exponentielle, la forme stationnaire sans réplication est la variante à petites cellules (SCV : small cell variant).

C. burnetii était considéré comme le seul membre du genre *Coxiella*. Cependant, plusieurs espèces candidates ont maintenant été reconnues chez les reptiles (*C. cheraxi*), les oiseaux (*C. avium*) et les humains (*C. massiliensis*). Les bactéries de type *Coxiella* sont également courantes chez les tiques, et l'un de ces organismes a été trouvé chez le cheval (Spickler, 2007).

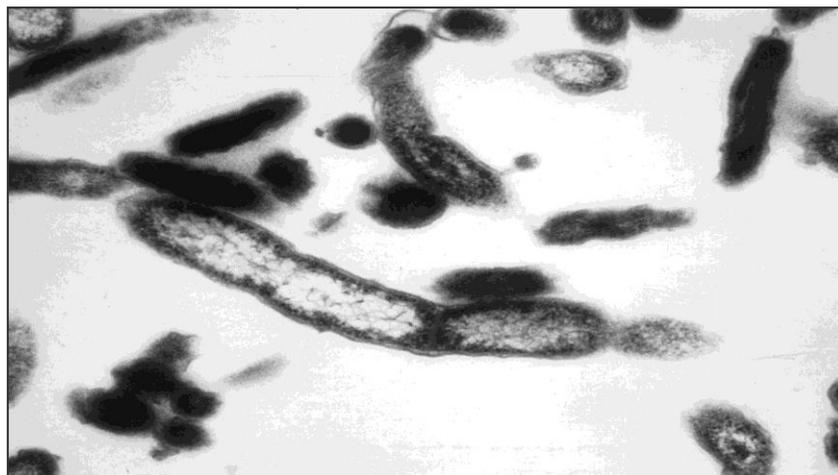


Figure 5. *Coxiella burnetii*. Micrographie électronique à transmission montrant une paroi cellulaire de type Gram négatif. Grossissement d'origine, x75 000.(Fournier et al., 1998)

La fièvre Q est observée chez les travailleurs qui sont professionnellement en contact étroit avec des animaux d'élevage (qui sont souvent asymptomatiques) ou leurs produits. La transmission se fait habituellement par inhalation d'aérosols infectés qui peuvent voyager sur de longues distances, affectant les personnes vivant sous le vent d'une ferme de moutons ou de chèvres infectée (Medkour et al., 2020), la maladie peut également être contractée par l'ingestion de lait cru infectieux (Petri, 2020).

Cette maladie est trouvée dans le monde entier, mais les caractéristiques épidémiologiques de cette maladie varient selon la zone géographique considérée, y compris les régions où elle est endémique ou hyper endémique, et la survenue de grandes épidémies (Carole Eldin et al., 2017).

Coxiella burnetii peut infecter un large éventail d'hôtes vertébrés et invertébrés, parmi les mammifères, les bovins, les moutons et les chèvres sont le réservoir le plus fréquent menant à la transmission humaine. Cependant, la faune peut aussi constituer un réservoir. Elle peut être transmise par les tiques et éventuellement par d'autres arthropodes.

La maladie se présente par deux formes : aigüe et chronique, la maladie aigüe déclenche une infection fébrile qui touche souvent le système respiratoire. Elle provoque un risque accru de fausse couche spontanée et d'accouchement prématuré chez les femmes enceintes, en revanche, elle se manifeste par une endocardite ou une hépatite ; une ostéomyélite peut survenir dans la forme chronique (Petri, 2020).

Les laboratoires de diagnostic utilisent généralement la PCR pour détecter *C. burnetii* dans les sécrétions, les excréments et les tissus mais aussi utilisent des tests sérologiques comprenant

l'immunofluorescence indirecte (IFA), les ELISA, la microagglutination et la fixation du complément (Spickler, 2007).

Différents antibiotiques sont prescrits en fonction de la gravité de l'infection. Les patients atteints de fièvre Q aiguë peuvent récupérer sans traitement ou avec un antibiotique tel que la doxycycline. Les patients atteints de fièvre Q chronique nécessitent généralement plusieurs mois de traitement avec une combinaison d'antibiotiques comme la doxycycline et l'hydroxychloroquine ou la chloroquine (Carole Eldin et al., 2017).

1.3.3.6 Leptospirose

La leptospirose est une maladie anthroponose négligée de distribution mondiale, contagieuse affectant les animaux et les humains et causée par la bactérie spirochète « *Leptospira* » (Koko et al., 2001 ; Goarant, 2016).

Les leptospires sont des bactéries minces, flexibles et filamenteuses. Elles mesurent entre 0,1 et 0,2 μ m de large et entre 6 et 12 μ m de long. Enfin, ces germes présentent deux extrémités crochétées (fig.6), la classification est basée sur des critères de pathogénicité et de reconnaissance antigénique. Ces deux paramètres permettent de distinguer une espèce pathogène, agent de la leptospirose chez l'homme et l'animal (*L.interrogans*) une espèce commensale (*L.biflexa*), retrouvée dans l'environnement (Levett, 2001).

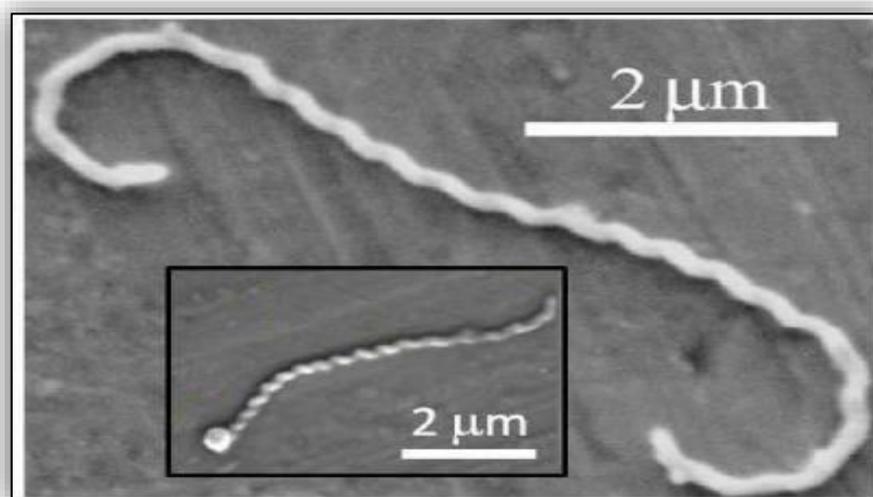


Figure 6. Une image de microscopie électronique à balayage de *Leptospira interrogans* (Koens & Lauga, 2014) *Leptospira interrogans* au sens large comprend tous les Leptospires pathogènes et ainsi subdivisé en 64 génomespèces ; plus de 300 sérovars (Philip et al., 2020; Guglielmini et al.,

2019 ;Coudert et al., 2007). Un sérotype est défini comme l'ensemble des souches portant des épitopes communs sur la membrane externe, induisant la production d'anticorps agglutinants. Ces anticorps agglutinants sont à la base du dépistage sérologique de l'infection.

Les mammifères sont les hôtes habituels de la maladie. Les rongeurs constituent dans la grande majorité des pays du monde le réservoir principal, bien que de nombreux autres animaux, domestiques ou sauvages, puissent être impliqués comme les chiens, les bovins, les porcs, les sangliers, les hérissons et les musaraignes. Cependant, l'homme représente pour ces bactéries un hôte accidentel (Abadia & Picu, 2005 ; Coudert et al., 2007).

Les réservoirs de la leptospirose sont surtout les rongeurs sauvages, un grand nombre d'animaux pourraient être une source d'infection par *leptospira* (Levett, 2001;Haraji et al., 2011) .

Le polymorphisme des symptômes et la variété des organes atteints rendent le diagnostic clinique de leptospirose très difficile (Laurent et al., 2004). Les cas épidémiologiques les plus fréquemment rapportés sont des formes aiguës, subaiguës et chroniques. Les humains peuvent être infectés par voie directe ou indirecte (Bharti et al., 2003).

Selon Levett (2001),les leptospires peuvent être visualisés dans le matériel clinique par le microscope à fond noir ou par immunofluorescence ou par un microscope photonique après une coloration appropriée.

L'examen sérologique regroupe les tests de : Macro-Agglutination (TR), Micro-Agglutination (MAT), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), et le test unitaire à lecture visuelle sur bandelette ; la recherche du génome de *Leptospira* par amplification génomique en chaîne PCR est une technique qui permet de poser avec certitude un diagnostic plus rapidement et plus précocement (dans les dix premiers jours), sans pouvoir préciser le sérovar. Elle est réalisable sur tous les milieux biologiques (82,1 % de sensibilité et 100% de spécificité (Merien et al., 2005).

La streptomycine a montré la meilleure action bactéricide contre les leptospires et qu'elle était l'antibiotique anti-leptospire le plus efficace. La gentamicine, la tobramycine et l'isépamicine sont également efficaces comme alternatives à la streptomycine.

Bien que les pénicillines, les tétracyclines et les macrolides soient également efficaces pour le traitement de la leptospirose,le traitement nécessite une hospitalisation avec une antibiothérapie pour les malades diagnostiqués précocement avant le stade hémorragique, la

convalescence est longue mais généralement sans séquelles (Kobayashi, 2001; Griffith et al., 2006).

Généralités sur les arthropodes d'intérêt médical et vétérinaire

(Tiques & Puces)

L'entomologie médicale est la discipline qui s'intéresse à l'étude des arthropodes vecteurs d'agents pathogènes responsables de maladies humaines, ces vecteurs sont hématophages et assurent la transmission biologique active d'un agent pathogène (virus, bactérie, parasite) d'un vertébré à un autre vertébré. En fait la majorité des arthropodes d'importance médicale et vétérinaire appartiennent à la classe des insectes (comme les moustiques) et des arachnides (comme les tiques) (Mathison & Pritt, 2014 ; Laroche et al., 2015).

2 Les arthropodes d'intérêt médical et vétérinaire (tiques & puces)

2.1 Tiques

Les tiques sont considérées comme le deuxième plus important vecteur d'agents pathogènes humains au monde, juste après les moustiques (Heyman et al., 2014), elles sont divisées en deux groupes : les argasides, ou tiques molles, et les ixodides, ou tiques dures. A la différence de la très grande majorité des insectes hématophages, les tiques sont parasites à tous les stades de leur développement, d'où de multiples occasions de contracter, puis de transmettre des germes pathogènes. Leurs préférences trophiques varient souvent d'un stade de développement à l'autre, d'où une dispersion des germes (virus, bactéries, protozoaires, ...) qui s'effectue à une très large échelle, aux dépens de tous les groupes de vertébrés terrestres (Infect et al., 1998).

2.1.1 Position systématique

La position systématique des tiques qui est retenue ici est celle proposée par (Camicas & Morel, 1977):

- Embranchement: Arthropoda (Siebold et Staninus, 1845),
- Sous-embranchement: Chélicerata (Heymons, 1901),
- Classe: Arachni. (Lamarck, 1801),
- Sous-classe: Acarida. (Van der Hammen, 1961),
- Super-ordre: Anactinotrichoida. (Van der Hammen, 1968),

- Ordre: Ixodida. (Van der Hammen).

Selon la classification adoptée par (Pérez-Eid, 2007), les tiques constituent l'ordre des Ixodida, est subdivisé en trois sous-ordre, quatre familles, 31 genres, 66 groupes, 12 sous groupes, et 869 espèces ou sous espèces.

Les trois familles de tiques sont : les Ixodidae ou tiques dures (694 espèces), les Argasidae ou tiques molles (177 espèces) et les Nuttalliellidae (1 seule espèce) (Hoogstraal & Aeschlimann, 1982).

La classification des tiques fait toujours l'objet de discussions parmi les écoles de systématique, mais Camicas *et al* (1998) ont publié une synthèse des différents noms et synonymes utilisés dans la littérature avec 869 espèces ou sous-espèces répertoriées au 1^{er} janvier 1996. Cette publication constitue la référence majeure francophone en taxonomie (Camicas *et al.*, 1998 ; Socolovschi *et al.*, 2008). Il existe 223 espèces de tiques en Afrique dont 180 sont des tiques dures et 43 des tiques molles.

2.1.2 Caractéristiques morphologiques des tiques

Le corps des tiques est divisé en deux parties (fig.7) (Pérez-Eid, 2007) :

- **Le capitulum** : formant la partie antérieure du corps, il est constitué d'une base, d'un rostre (organe perforateur) lui-même composé d'une paire de pédipalpes symétriques porteurs de nombreuses soies (organe sensoriel), d'un hypostome dentelé (organe d'encrage et d'alimentation) situé en position ventrale et de deux chélicères dorsales (organe de perforation).
- **L'idiostome** : formant la partie postérieure du corps, il comporte des parties tégumentaires souples d'aspect lisse et des parties sclérifiées à l'origine de la dénomination de « tiques dures ».

Les tiques dures sont dites les « géants » des acariens car leur taille oscille entre 1.5 à 15 mm lorsqu'il s'agit de femelles adultes gorgées.

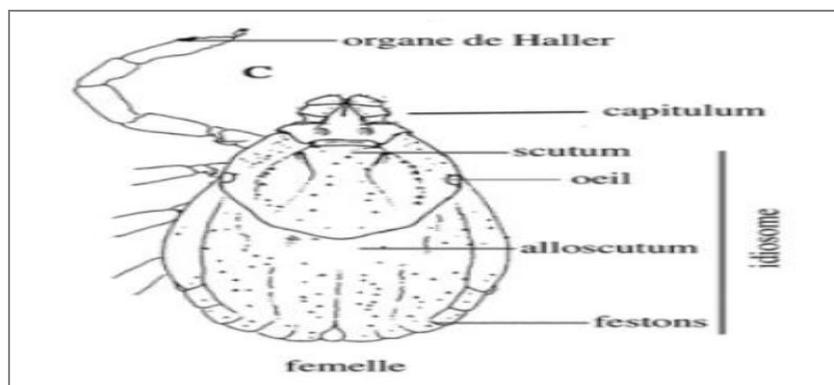


Figure 7. Morphologie générale d'une tique dure femelle : face dorsale (C) (Pérez-Eid, 2007)

Les tiques dures (*Ixodidae*) possèdent une caractéristique commune : la présence d'une plaque dorsale sclérifiée, le scutum. Celui-ci recouvre presque la totalité du corps du mâle alors que chez les larves, les nymphes et les femelles, il est réduit à la partie antérieure (fig.8) (Lommano, 2012).

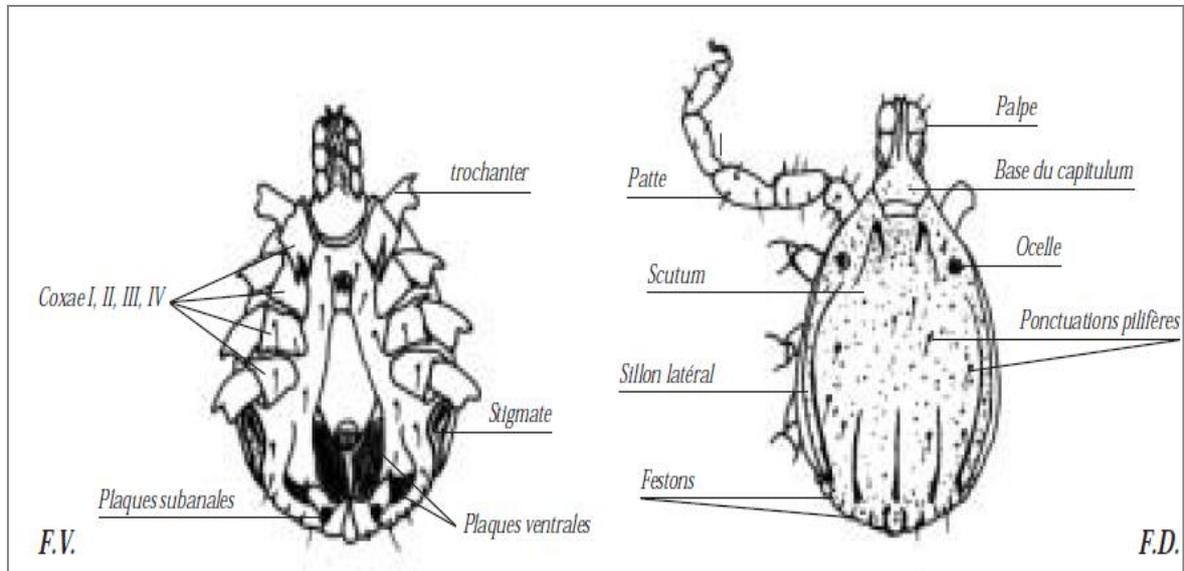


Figure 8. Terminologie de la morphologie des Ixodidae (male) (Bouattour, 2002)

Selon Fontenille et al., (2009), les différentes espèces des tiques sont caractérisées par une morphologie spécifique, des comportements variables et 4 types de cycles sont distingués selon le nombre d'individu parasités au cours de leurs vies : polyphasique, triphasique, diphasique et monophasique. Les tiques sont aussi caractérisées en fonction :

- de la nature des hôtes (trixène ou téléotrope : tropisme pour un groupe d'hôtes différent pour chaque phase comme pour les *Ixodidae* ; dixènes ou ditropes : tropisme pour 2 groupes d'hôtes ; monoxène ou monotrope : tropisme pour un unique groupe d'hôtes) ;
- de leur spécificité parasitaire (exclusivité des rapports entre tous les stades d'une espèce et un hôte ou un genre d'hôte) ;
- de leur sélectivité parasitaire (choix des tiques, à 1 ou plusieurs stades, de certains ordres ou classes de vertébrés) ;
- de l'ubiquité (aptitude des tiques à infester toutes les espèces de vertébrés d'un biotope) ;
- de leur biotope : endophile ou exophile avec de grande diversité de lieux et de type d'activité.

2.1.3 Cycle des tiques

Le cycle de vie de la tique se décompose en trois phases (cycle triphasique): larve, nymphe et adulte (Fig.9). Le dimorphisme sexuel est évident seulement à l'état adulte, seul moment où on peut distinguer la femelle du mâle. En général, le cycle de vie des tiques *Ixodidae* est uniforme pour toute la famille. A chaque phase, pour effectuer son cycle de développement, la tique se nourrit de sang, élément indispensable à la transformation vers la phase suivante ou à la production et à la ponte des œufs chez les femelles. De ces œufs sortent les larves hexapodes qui vont chercher un hôte vertébré sur lequel prendre un repas de sang. Les larves gorgées se détachent de l'hôte et se laissent tomber au sol où a lieu la mue. Les nymphes octopodes, résultat de la mue, attendent le passage d'un hôte pour se nourrir. Après avoir pris le repas de sang, elles vont muer au sol en adultes, femelles ou mâles. Une dernière fois, les adultes prennent un repas de sang: les mâles se nourrissent très peu ou pas du tout, tandis que les femelles peuvent se dilater jusqu'à atteindre 100 fois leur poids (Casati, 2005).

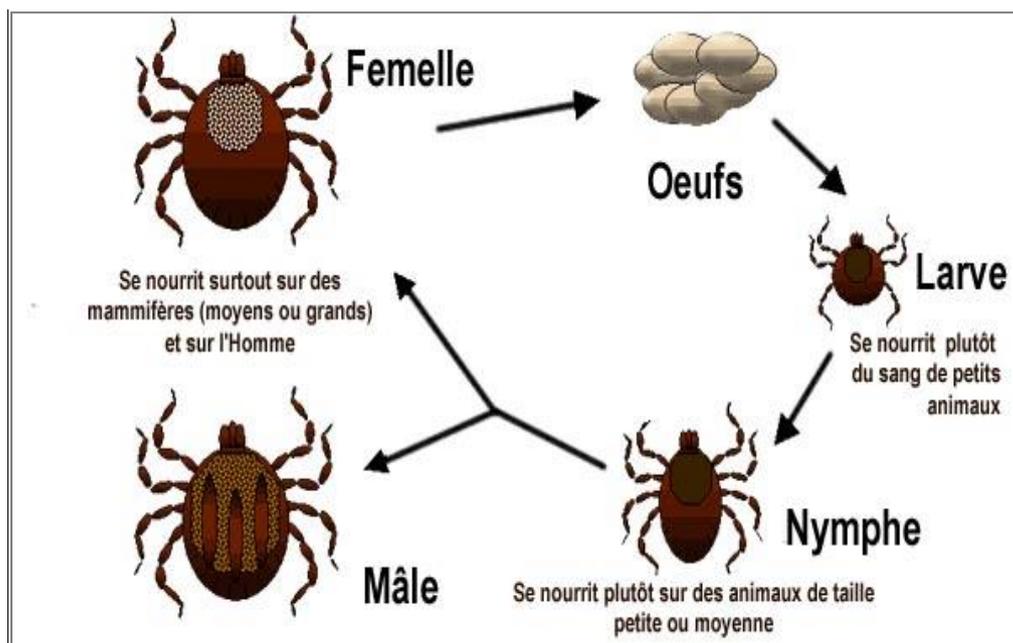


Figure 9. Cycle de développement des ixodides (Anonymous, n.d.)

2.1.4 Ecologie et étiologie des tiques

Les tiques sont des parasites temporaires, qui passent la plupart de leur temps dans le milieu extérieur (François, 2008). Elles sont adaptées à deux composants de leur habitat: l'environnement physique et leur hôte. Lorsque les tiques sont en mue dans l'habitat physique, ils sont en danger de se dessécher et affamés.

Les larves sont plus sensibles en raison de leur grande surface par rapport à leur petit volume. Elles sont également exposées à des prédateurs tels que les rongeurs, les oiseaux, les reptiles et les fourmis, et à des agents pathogènes tels que les champignons. Ces facteurs défavorables limitent le type d'habitats qu'une espèce se trouve dans la connaissance de l'habitat physique typique d'une espèce est une aide à l'identification. La composante la plus importante de l'habitat d'une tique physique est le climat qui est défini par la température et l'humidité (Latif & Walker, 2004).

Dans la nature, une tique peut acquérir un pathogène (« s'infecter ») de trois manières différentes (Lommano, 2012):

- La plus courante est l'acquisition d'un pathogène lors d'un repas de sang sur un hôte développant une infection systémique (généralement l'hôte réservoir). C'est la transmission horizontale.
- Pour une même tique, le pathogène peut survivre aux mues successives et donc lors du passage d'un stade gorgé au stade suivant non gorgé. C'est le passage trans-stadial. Ce mode de transmission est obligatoirement présent chez un arthropode dit « vecteur » et de plus, il est nécessaire à la survie à long terme du microorganisme dans la nature (Gern & Humair, 2002).
- Plus rarement, lorsque les ovaires d'une femelle sont infectés par le pathogène, celle-ci peut transmettre son infection à sa descendance. C'est la transmission trans-ovarienne ou verticale.

2.1.5 Rôle des tiques dans la transmission des maladies vectorielles

Les tiques transmettent plus d'espèces pathogènes que tout autre groupe d'arthropodes hématophages à travers le monde (Durden, 2006).

2.1.5.1 Rôle direct

On observe tout d'abord les lésions classiques lors d'infestation par des hématophages que sont les désordres dermatologiques au point de fixation et les désordres hématologiques issus de la spoliation sanguine (Merchant & Taboada, 1991).

➤ Action mécanique irritative

- Une inflammation locale avec prurit, érythème local et formation de nodule.
- Un risque de rupture du rostre pour les espèces longirostres.

➤ Action favorisant

- Des infections cutanées en particulier à Staphylocoques.

▪ Des myases : les plaies locales lors du détachement de la tique sont des sites propices au développement de larves de mouches.

➤ **Action spoliatrice**

Elle est surtout importante chez des animaux jeunes en raison d'une concentration du sang par la tique et de l'absence de résistance de cette hôte qui favorise des infestations massives.

➤ **Action toxique**

Elle est due aux substances toxiques de la salive :

- La paralysie ascendante à tiques
- Une action antigénique on peut observer des cas d'hypersensibilité I et IV entraînant une véritable immunité acquise contre l'implantation et l'égorgement de nouvelles tiques.

2.1.5.2 Rôle indirect

Le rôle pathogène indirect des tiques est un rôle vecteur dû non pas à leur action propre mais leur aptitude à transmettre les germes infectieux prélevés sur un animal lors d'un repas précédent, ou reçus d'une autre tique, elles transmettent une plus grande variété de micro-organismes, les protozoaires, bactéries (en particulier les rickettsies et spirochètes), les virus, et même des helminthes, que tout autre groupe d'arthropode vecteur, et sont parmi les plus importants vecteurs de maladies affectant le bétail, les humains et les animaux de compagnie (Jongejan & Uilenberg, 2004).

2.2 Les puces

Les puces sont des parasites obligatoires (endo ou ectoparasites) des oiseaux et mammifères. Ceux qui surviennent sur les oiseaux ne sont représentés que dans cinq familles de puces: Ceratophyllidae, Leptopsyllidae, Pulicidae, Pygiopsyllidae et Rhopalopsyllidae, tandis que les autres espèces parasitent les mammifères (Dunnet & Mardon, 1991).

2.2.1 Position systématique des puces

La systématique est établie sur des caractères morphologiques des puces adultes (Franc, 1994). Les 2574 espèces et sous-espèces sont regroupées selon Lewis, (1998), (Bitam et al., 2010) en 16 familles et 238 genres dont on ne mentionnera que celles comprenant des espèces importantes pour les animaux domestiques et pour l'homme.

- Les puces appartiennent au : Règne : Animal
- Embranchement : Arthropodes
- Classe : Insectes

- Ordre : Siphonaptères

On désigne sous ce nom des insectes hématophages, à métamorphose complète : holométaboles, dépourvus d'ailes et à corps aplati. Les pattes postérieures, très développées, sont adaptées au saut (Moulinier, 2002).

Cet ordre, qui regroupe des insectes ectoparasites à l'état adulte, à une filiation phylogénique qui fut longtemps discutée, la distinction fut établie sur l'ensemble des critères suivants (Michener, 1952) :

- Absence d'ailes.
- Antennes courtes et fortes, placées dans une dépression formant une gouttière.
- Corps aplati latéralement, progression aisée dans le pelage.
- Pattes adaptées au saut.
- Corps et pattes couverts de soies.
- Couleur de jaune à brun sombre.
- Hématophages des vertébrés, pièces buccales adaptées à la piquûre.
- Palpes labiaux et maxillaires.
- Trois segments thoraciques indépendants.
- Larves allongées, formes et apodes.
- Nymphes peu mobiles enfermées dans un cocon.

Le développement de certains organes, parallèlement à la réduction d'autres, a fait des Siphonaptères des insectes hautement spécialisés

- Famille : Pulicidae et Tungidae.

La famille des Pulicidae regroupe plusieurs genres :

- *Ctenocephalides*, espèce *felis* (Bouché, 1835) et *canis* (Curtis, 1826),
- *Pulex*, espèce *irritans* (Linné, 1758),
- *Xenopsylla*, espèce *cheopis* (Rothschild, 1903),
- *Spilopsyllus*, espèce *cuniculi* (Dale, 1878).

La famille des Tungidae : - genre *Tunga*, espèce *penetrans* (Linné, 1758) (Krämer F. et Mencke N.2001).

2.2.2 Caractéristiques morphologiques des puces

La puce, de couleur brune, est un insecte de petite taille mesurant de 1,5 à 4 mm, dépourvu d'ailes. Son corps est aplati, très chitinisé et muni de formations (peignes, cténidies, soies, épines...) favorisant l'accrochage de la puce dans la fourrure et le plumage des hôtes ainsi que son déplacement sur l'épiderme. L'adulte mesure de 2 à 6 mm de long, et peut même aller

jusqu'à 10 mm. En tant qu'insectes, les puces présentent une tête, un thorax et un abdomen segmentés en continuité, avec 3 paires de pattes (Bitam et al., 2010b) (Fig.10).

L'œil est rudimentaire et parfois absent. Les antennes sont courtes, situées dans des fossettes latérales et érectiles chez les mâles de la plupart des espèces. Ces dernières permettent le maintien de la femelle sus-jacente pendant la copulation (Beaucournu & Launay, 1990).

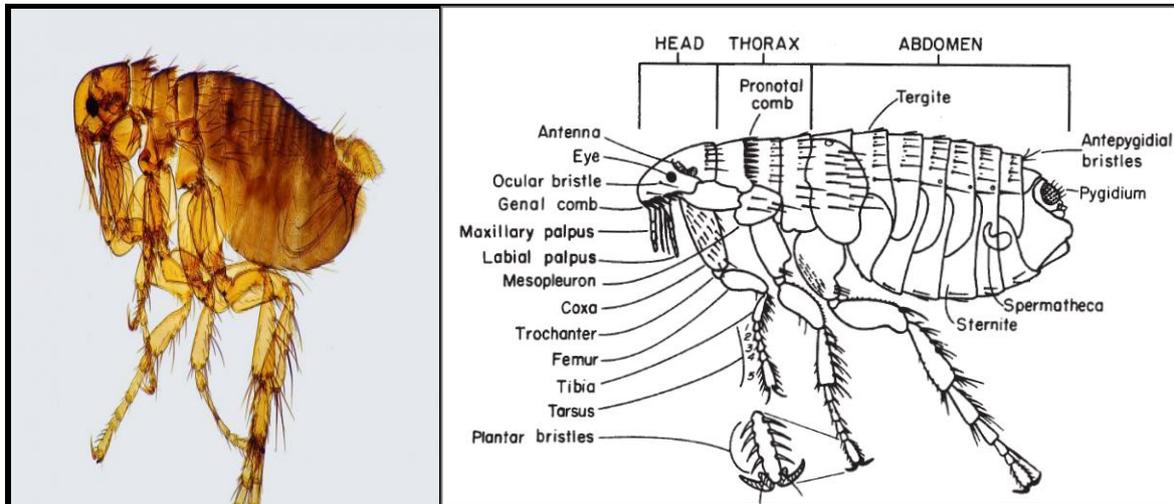


Figure 10. *Archaeopsylla erinacei* (Leroy, 2016)

Il est possible de classer les puces en fonction de trois grands types comportementaux :

- les puces qui vivent en permanence sur leur hôte et qui ne le quittent que pour contaminer un nouvel individu ; elles sont qualifiées de « puces de fourrure » et possèdent habituellement une bonne aptitude au saut ; c'est le cas de *X. cheopis*, de *Pulex irritans* et de *C. canis* et *C. felis*.
- les « **puces nidicoles** » ou « **puces de terriers** », qui passent la quasi-totalité de leur temps dans le nid ou le terrier et ne parasitent leur hôte qu'au moment des repas, c'est-à-dire tous les deux à quatre jours (*Ceratophyllus gallinae*) ; ces espèces sont moins mobiles et sautent moins haut que les précédentes.
- les « **puces sédentaires** » et les « puces pénétrantes » : après fécondation, les femelles d'*Echidnophaga gallinacea* se fixent autour des yeux des volailles et plus rarement des chiens, celles de *Tunga penetrans* s'enfoncent dans le conjonctif sous-cutané, la seule communication avec l'extérieur étant l'orifice de ponte (Franc, 1994).

2.2.3 Cycle de développement des puces

Le développement de la puce passe par plusieurs stades. La vie de ce parasite débute par un œuf qui se transforme en larve, puis en puppe pour aboutir à l'état adulte (Fig.11). Le cycle de vie correspond à une métamorphose complète, les femelles gravides de la plupart des espèces

de puces qui ont été étudiées peuvent produire des centaines d'œufs durant leurs vies. Les œufs éclosent généralement en environ 5 jours (Mullen & Durden, 2002).

Les femelles pondent des œufs de manière continue, sans rythme par rapport aux repas sanguins. Les œufs n'adhèrent pas aux poils ou plumes des hôtes (à une exception près) et tombent au sol ou dans la litière des nids ou terriers. Le nombre d'œufs est variable.

Pour *Ctenocephalides felis*, il a été évalué à environ 30 par jour et, sur la totalité de la vie active d'une femelle à plusieurs centaines (400 à 1 000 selon les auteurs) (Bitam et al., 2006).

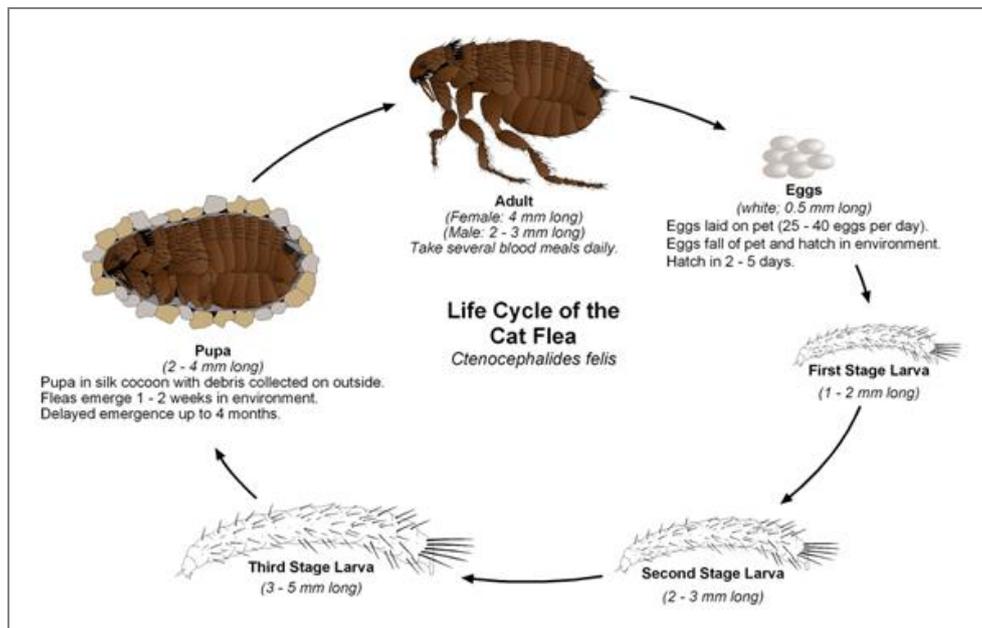


Figure 11. Cycle de développement de la puce (Charlesworth, 1991)

Le cycle de développement de la puce peut se terminer en quatorze jours ou se prolonger jusque 140 jours selon les conditions de température et d'humidité (Silverman, et al., 1981 in Simon, 2009).

2.2.4 Ecologie et étiologie des puces

Les puces sont des insectes cosmopolites. On les trouve partout où vivent leurs hôtes, sur tous les continents et les principales îles du monde. On note une plus grande diversité des espèces dans les régions tempérées du globe. Quelques puces ont une distribution mondiale mais la plupart des espèces sont limitées à la distribution de leur hôte (Moulinier, 2002).

Les facteurs environnementaux sont souvent importants dans la détermination de l'abondance des puces dans différents habitats ou régions géographiques. Ces facteurs sont souvent liés

aux conditions climatiques, météorologiques, ou du sol, tels que le pourcentage de l'humidité, la température et la teneur en humidité du sol. Les conditions environnementales favorables, comme l'abondance de l'hôte et de la disponibilité de la nourriture abondante pour les larves, une humidité élevée, et des températures douces, promeuvent de fortes populations de nombreuses espèces de puces (Mullen & Durden, 2002).

2.2.5 Rôle des puces dans la transmission des maladies

2.2.5.1 Rôle pathogène direct

Les piqûres de puces sont à l'origine d'une spoliation sanguine non négligeable lors d'infestations massives, et d'une irritation qui peut être particulièrement marquée chez les sujets sensibilisés. La dermatite par hypersensibilité aux piqûres de puces (DHPP) est bien connue chez le chien et le chat (Franc, 1994).

➤ Nuisances dues à la piqûre de puce

Ctenocephalides felis dont la spécificité est très large, peut alors piquer l'homme, et ainsi entraîner des lésions bénignes type papules localisées principalement sur les jambes provoquant des démangeaisons généralement sans conséquence (Ménier & Beaucournu, 2001).

➤ Troubles psychiques

Les puces peuvent être à l'origine d'importantes insomnies, avec parfois retentissement psychique par la seule idée de la présence des puces et de ne pouvoir s'en débarrasser. Ces troubles, relevant de la psychiatrie, constituent l'ectoparasitophobie également retrouvée avec d'autres arthropodes, notamment les poux et les sarcoptes (Marvy, 1989 in Aubry-Roces et al., 2001).

2.2.5.2 Rôle pathogène indirect

Les puces sont essentiellement connues dans leur rôle pathogène direct, mais ce sont des vecteurs d'agents pathogènes au même titre que les autres arthropodes hématophages. On connaît bien sûr le rôle joué par les puces du rat (dont *Xenopsylla cheopis*) et la puce humaine (*Pulex irritans*) dans la transmission de la peste humaine (*Yersinia pestis*), rôle découvert par PL Simond en 1898.

Plus d'une centaine d'espèces de puces sont capables de transmettre le bacille de la peste, les principales étant *Pulex irritans*, *Xenopsylla cheopis*, *X. brasiliensis*, *X. astia* et *Nosopsyllus fasciatus* (Lewis, 1993).

- ❖ *Rickettsia mooseri* est l'agent du typhus murin qui peut, par l'intermédiaire de *Xenopsylla cheopis* aussi être dangereuse pour l'homme.
- ❖ *Francisella tularensis* est l'agent de la tularémie du lapin et du lièvre; cette zoonose est notamment transmise par *Spilopsyllus cuniculi* et *Ceratophylus faciatus* (Bussieras & Chermette, 1991).
- ❖ *Le virus de Sanarelli*, agent de la *myxomatose*, est porté par la puce du lapin, *Spilopsyllus cuniculi* ; il fut très utile dans les premières campagnes de contrôle de la population lapine en Australie.

La puce du lapin (*Spilopsyllus cuniculi*) peut occasionnellement transmettre l'agent de la tularémie (*Francisella tularensis*) mais aussi le virus agent de la myxomatose. Les puces des carnivores sont susceptibles de transmettre des filaires sous-cutanées ou péritonéales telles que *Dipetalonema reconditum* mais surtout la bactérie agent de la maladie des griffes du chat, *Bartonella henselae*.

Les puces peuvent également être transmises de diverses parasitoses tels que les nématodoses *Mastophorus muris* de nombreux rongeurs, ou la filaire *Acanthocheilonema recondita* du chien, par exemple), des cestodoses *Hymenolepis fraterna* des rats *Rattus rattus* et *R. norvegicus*; *H. myoxi* du lérot *Eliomys quercinus...*), ou chez des musaraignes (*Pseudohymenolepis redonica* de la crocidure *Crocidura russula*), ou chez des canidés, dont le chien avec *Dipylidium caninum*. Certaines de ces cestodoses peuvent se rencontrer chez l'homme, et c'est par ingestion de la puce que toutes ces contaminations se font (Beaucournu & Gomez-lopez, 2015).

Présentation de l'animal modèle Aterix algirus

3 Présentation de l'animal modèle *Aterix algirus*

3.1 Le hérisson dans le monde

L'Ordre des insectivores regroupe environ 60 genres repartie en 6 familles. Pour bon nombre de systématiciens, c'est un ordre cosmopolite, où se côtoient les espèces les plus primitives parmi les mammifères (Bretagnolle & Attié, 1989). En plus des hérissons, autres insectivores incluent les taupes, les gymnures, les tenrecs et approximativement 300 espèces de musaraignes. La plus part ont de petites statures et partagent des caractères de bases généraux,

mais chaque groupe a ses propres caractéristiques qui sont façonnées à son mode de vie (Vriens & Heming-Vriens, 2000).

Les hérissons sont des membres d'ordre *Erinaceomorpha*, famille *Erinaceidae* et sous – famille *Erinaceinae*. Les 17 espèces de 5 genres sont très répandus partout à l'ancien monde (Afrique, Europe, Asie), cependant, ils ne se trouvent pas au centre de l'Asie y compris Inde, Népal, Pakistan, Tibet et en Afrique équatorial occidental (Quesenberry & Carpenter, 2012 ; Symonds, 2005).

D'après Wroot (1984), la classification des hérissons est basée sur la forme et modèle des épines, la longueur des oreilles et la morphologie du crâne. Les espèces couramment rencontrées incluant *Atelerix albiventris*, aussi connu comme le pygmée africain à ventre blanc ou à quatre orteils de l'Afrique centrale et *Erinaceus europaeus*, le hérisson européen de l'Europe occidentale. Le genre *Atelerix* a autre membres comportant le hérisson (*A. pruneri*), le hérisson Algérien (*A. algirus*), le hérisson de Somali (*A. scalter*) et le hérisson de cap (*A. frontalis*). Autres genres englobent le hérisson de désert (*Paraechinus* spp.) de Moyen Orient et de Nord Africain ; les hérissons à longues oreilles (*Hemiechinus* spp.) de l'Asie, Inde, et le Nord Africain (Mitchell & Tully, 2009).

Les hérissons sont des animaux généralement crépusculaires et nocturnes et fréquentent aussi bien les forêts que les champs et les vergers (Ouarab & Doumandji, 2010).

L'importance vétérinaire-médicale des hérissons est liée à leurs habitats urbains et aux nombreux agents pathogènes zoonotiques qu'ils pourraient héberger, en outre, les hérissons sont des animaux de compagnie dans plusieurs parties du monde, y compris aux États- -Unis, où ils sont maintenus dans environ 40 000 ménages (Riley & Chomel, 2005).

3.2 Le hérisson en Algérie

D'après Reeve (1994), les espèces présentes sur le continent Africain appartiennent surtout aux genres *Atelerix*, *Paraechinus* et *Hemiechinus*. Les études faunistiques sur les mammifères d'Algérie (Kowalski & Rzebik-Kowalska, 1991) montrent l'existence de deux espèces de hérissons : le Hérisson d'Algérie (*Atelerix algirus*) et le Hérisson du désert (*Hemiechinus aethiopicus*).

Ces deux espèces de mammifères (le hérisson d'Afrique du Nord et le hérisson du désert sont largement distribuées et ont une population apparemment stable en Afrique du Nord (Khaldi et al., 2012).

Les hérissons d'Afrique du Nord sont originaires et endémiques des régions du Nord de l'Afrique, du Maroc à la Libye. Ils ont également été introduits pour les régions voisines, y compris les régions montagneuses du sud, de l'Espagne, la France et les îles au large de la côte de l'Afrique, tels que les îles Canaries et les Baléares. Les populations introduites en France sont maintenant éteintes (Everett, 2012).

Selon Bengougam (2009), les hérissons comptent parmi les mammifères les plus primitifs, se caractérisant par leurs épines et leurs aptitudes à se rouler en boule en cas de danger. Ils ont toujours été appréciés des humains; ils figurent fréquemment dans les contes traditionnels et on les traite localement comme des animaux familiers. On les utilise également dans la médecine traditionnelle et bien d'autres domaines. Dans les régions rurales, particulièrement du sud, les hérissons sont vendus dans les souks, morts ou vivants, comme n'importe quel animal domestique.

Le régime alimentaire du hérisson d'Algérie se compose de vers de terre, de mollusques, d'araignées, de cloportes, d'insectes, d'œufs d'oiseaux nichant au sol, de baies et de fruits sucrés (Guerzou, 2009).

Les hérissons sont des animaux solitaires. Ils vivent seuls une fois adultes et se retrouvent uniquement pour les périodes de reproduction. Les hérissons sont matures sexuellement vers l'âge de 9 à 11 mois (Mennessier, 2013).

3.3 Le hérisson du Nord *Atelerix algirus*

3.3.1 Position systématique

La classification du hérisson d'Algérie selon (Wilsson & Reeder, 1993 in Corbet & Hill, 1994) est illustrée dans le (Tab.1).

Tableau 1. Classification du hérisson *Atelerix algirus*

Règne	Animalia
Embranchement	Chordata
Classe	Mammifères
Sous-classe	Theriens
Infra-classe	Eutheriens
Ordre	Insectivores
Famille	<i>Erinaceidae</i>
Sous-famille	<i>Erinaceinae</i>
Genre	<i>Atelerix</i>
Espèce	<i>Atelerix algirus</i> (Lereboullet 1842)
Nom commun	Hérisson d'Algérie, Hérisson du Nord d'Afrique

3.3.1 Description

Atelerix algirus a été longtemps considéré comme étant *Erinaceus europaeus*, car il possède beaucoup de ressemblances morphologiques avec ce dernier mais en ayant une taille un peu plus petite, un corps plus mince, une tête séparée du corps avec des oreilles longues et larges et des pieds arrières plus petits. Et ce n'est qu'à partir de 1988, suite aux travaux de (Corbet, 1978) qu'il deviendra ce qu'il est actuellement (Corbet, 1988).

C'est un hérisson assez gros. Il pèse à l'état adulte entre 1200 à 1400 g. Son corps porte des piquants dorsaux et latéraux qui le protègent face aux prédateurs. La tête est bien distincte par rapport au reste du corps montrant un museau pointu, des oreilles nettement visibles, courtes et arrondies, mais des yeux assez petits, pelage ventrale est blanc cassé avec des quantités variables de brun (Fig.12).

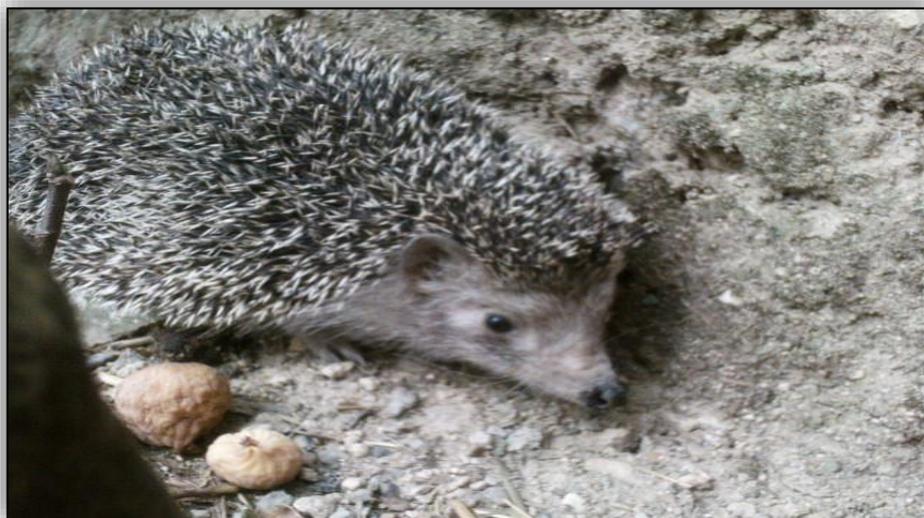


Figure 12 . Photo originale du hérisson du Nord d'Afrique (Hérisson Algérien) *Atelerix algirus* Lereboullet 1842

Selon (Biche ,2003 in Bengougam, 2009) ,il existe une sous espèce du hérisson d'Algérie qu'il a appelé *E. algirus vagans* et qui selon lui diffère de l'espèce type par une décoloration remarquable des piquants et des poils. L'animal est presque entièrement entouré d'un blanc pur. C'est à peine si sur certains piquants on peut observer une trace d'anneaux colorés en gris.

Sur le continent africain la population tunisienne des hérissons a été différenciée comme *A. a. fallax* de celle en Algérie (*A. a. algirus.*) sur la base de la forme des nasales et mandibule (Vesmanis ,1979 in Corbet ,1988) et une forme marocaine (*Aethechinus algirus lavaudeni* Cabrera 1928-Mogador) sur la base du plus pâle pelage, mais ni l'isolement ni discontinuité a été démontré dans les deux cas.

3.3.1 Répartition géographique

L'espèce *Atelerix algirus* occupe essentiellement l'Afrique du Nord, et en particulier tout le Nord de l'Algérie (Morales & Rofes, 2008).Il est présent sur la bande située entre les plateaux sahariens et les chaînes montagneuses de l'Atlas jusqu'au littoral méditerranéen plus au Sud, il peut apparaître sur les hauts plateaux où il coexiste avec le hérisson du désert (Mouhoub-Sayah, 2009) (Fig.13).

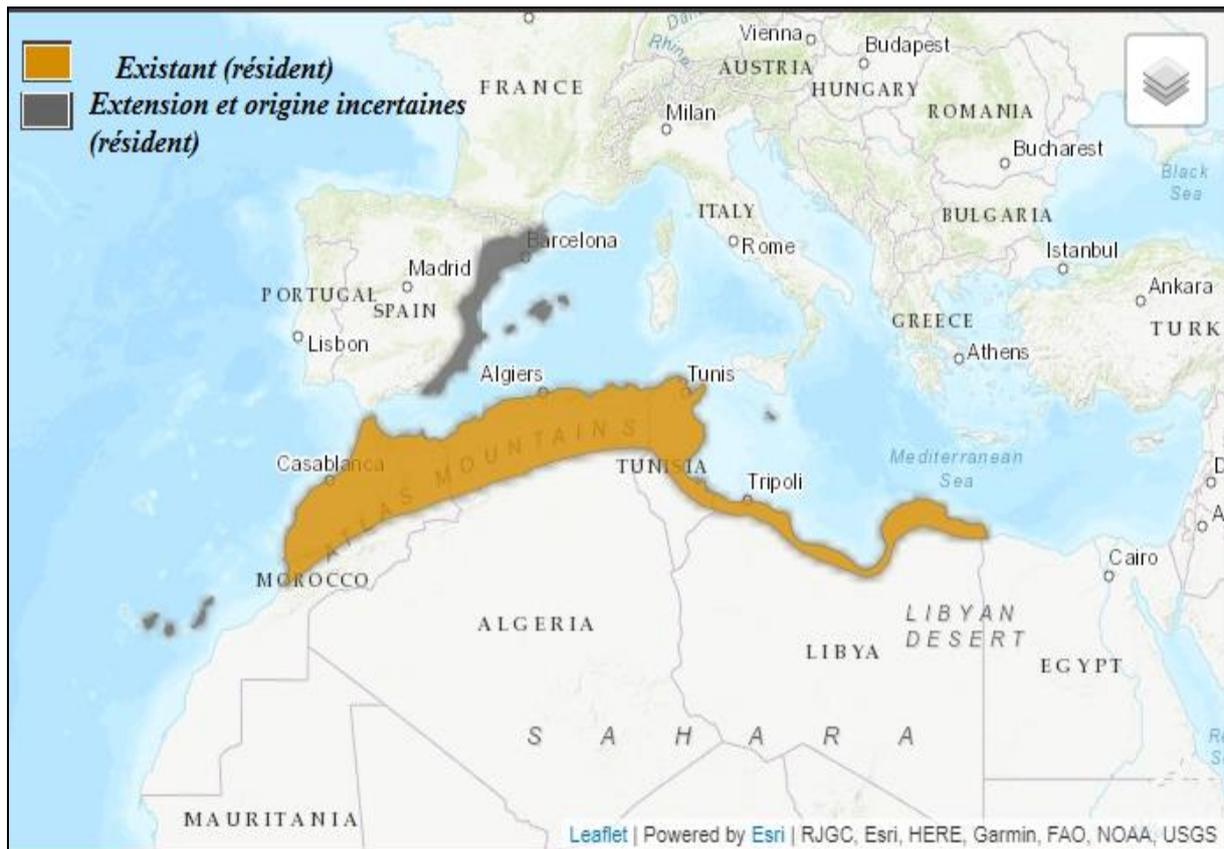


Figure 13. Distribution géographique du Hérisson *Atelerix algirus* (Amori et al., 2008)

3.3.1 Habitat

Les hérissons d'Afrique du Nord préfèrent les climats arides, mais se retrouvent dans un large éventail d'habitats, y compris broussailles sèches de la Méditerranée, les prairies, les pâturages, les champs cultivés, semi-désertiques, et les jardins. Ils sont également présents à proximité des populations humaines. Ils se trouvent généralement à des altitudes de 400 m ou moins, bien que des élévations de jusqu'à 900 m aient été observées au Maroc (Amori et al., 2008).

3.4 Le Hérisson du Sud *Paraechinus aethiopicus*

3.4.1 Position systématique

la taxonomie du hérisson de désert est présente ci-dessous (Tab.2):

Tableau 2. Classification du *Paraechinus aethiopicus* (Hutterer, 2014)

Règne	Animalia
Embranchement	<i>Chordata</i>
Classe	<i>Mammalia</i>
Ordre	<i>Insectivora</i>
Famille	<i>Erinaceidae</i>
Genre	<i>Paraechinus</i>
Espèce	<i>Paraechinus aethiopicus</i> (Ehrenberg 1833)
Nom commun	Hérissons de désert

3.4.2 Description

Ce hérisson est de taille moyenne ou petite, à grandes oreilles proéminentes. Les bulles tympaniques sont hypertrophiées provoquent un renflement des régions auditives. La couverture épineuse est partagée en deux sur le front par une raie médiane nue, parfois indistinct. Les poils abdominaux sont fins et denses (Le Berre, 1989).

L'extrémité des piquants est sombre déterminant la couleur d'ensemble de l'animal. Le ventre est blanc avec une bande transversale brune ou niveau de la poitrine. Le museau, la gorge, la face, et le front sont brun foncé, le menton et le cou sont blancs. Les extrémités (oreilles, pattes) sont brunâtres (Fig.14).



Figure 14. Photo du hérisson du Sud *Paraechinus aethiopicus* (Alsahli, n.d.)

3.4.1 Répartition géographique

L'aire de répartition de cette espèce s'étend depuis Ain Sefra (32° 44' N.; 0° 36' W.) jusqu'à Laghouat (33° 49' N.; 2° 54' E.) et Biskra (34° 51' N.; 5° 45' E.). Selon le même auteur, elle est signalée à Brezina et à El Goléa (30° 35' N.; 2° 52' E.). Sa présence est mentionnée dans le semi-aride notamment dans les environs d'Oran (35° 44' N.; 0° 39' W.). Sur les hauts plateaux, il vit dans la région de Bou-Saâda (35° 13' N., 4° 11' E.), plus précisément dans la réserve naturelle de Mergueb (35° 36' N.; 3° 57' E.) et au sud de l'Atlas saharien (Kowalski & Rzebik-Kowalska, 1991).

A. Algirus vit principalement dans le Nord du pays tandis que *P. aethiopicus* se trouve le plus souvent dans la zone des hauts plateaux. Néanmoins, les deux espèces peuvent parfois coexister dans la même zone, notamment dans le Nord du pays. En effet, dans une étude menée par Khaldi et al, 2012 les deux espèces ont été capturées à M'sila une région du Nord-Est de l'Algérie.

3.4.2 Habitat

Paraechinus aethiopicus est bien adapté aux conditions arides, sécheresse. Il vit dans les déserts chauds et secs, mais peut aussi être trouvé dans les zones de végétation d'une oasis ou de la côte (Hall, 2002).

3.5 Similarités entre *Atelerix* et *Paraechinus*

D'après Corbet (1988), *Atelerix* partage certaines caractéristiques avec vraisemblablement dérivés *Paraechinus* (cuir chevelu large nue, petite orteil, masque blanc, vaste plateau palatine) suggérant une proche relation de *Paraechinus* que de *Erinaceus*. Cependant, il manque l'auditoire spécialisé bulle et des épines papillées du *Paraechinus* et la morphologie du pénis est unique dans la famille.

3.6 Les grandes menaces

3.6.1 Trafic routier

Les menaces comprennent la mortalité accidentelle sur les routes (roadkill), les populations peuvent être limitées par la disponibilité de l'habitat convenable (Rondinini & Doncaster, 2002).

En Algérie, le nombre des hérissons victimes de la circulation routière est commun et élevé spécialement en printemps et en été (Mouhoub Sayah et al., 2009).

Un nombre croissant de routes et la perte de l'habitat sont les menaces les plus graves pour les espèces, mais il est peu probable qu'ils sont les principales menaces à l'heure actuelle.

3.6.1 Prédation

Reeve (1994), révèle que beaucoup d'espèces, allant des renards (*Vulpes vulpes*) et chiens (*Canis lupus familiaris*) à mustélidés et divers oiseaux de proie se nourrissent occasionnellement sur les hérissons.

3.6.2 Pesticides

L'utilisation des engrais, des herbicides et des pesticides par les agriculteurs et les jardiniers est l'autre grande cause de mortalité chez les hérissons. Les empoisonnements par ces produits entraîneraient une mortalité de 26 %. La mort par intoxication aiguë touche surtout les jeunes entre 6 et 12 mois (Maréchal & Libois, 1997).

3.6.3 Modifications d'habitats

Les méthodes agricoles modernes, en éliminant les haies, bosquets, talus boisés et chemins creux, ont abouti à une banalisation du milieu rural, les lieux qui fournissent abris et nourriture aux hérissons ont donc tendance à disparaître (Maréchal & Libois, 1997).

3.6.4 La pêche

Le hérisson est également pêché localement et mangé dans la région méditerranéenne. Au Maroc, il est utilisé localement à des fins médicales et apparaît dans les marchés de sorcellerie locale (Amori et al., 2008).

3.6.5 Pour l'espèce *Paraechinus aethiopicus*

Il n'y a pas de menaces majeures pour cette espèce dans son ensemble (Hutterer, 2014).

3.7 Le hérisson et les parasites

Les hérissons accueillent une grande variété de différents ectoparasites, endoparasites, helminthes et ils sont connus pour être très fortement infesté des ectoparasites (les tiques, les puces) (Gaglio et al., 2010 ; Pfäffle et al., 2014).

3.7.1 Ectoparasites

3.7.1.1 Tiques

En raison de leur comportement alimentaire actif dans le sous-bois et leur manque de toilettage efficace, les hérissons sont des hôtes idéals pour les ectoparasites (Fig.15), (Földvári et al., 2011).

Les hérissons peuvent transporter plusieurs espèces de tiques et de puces, et la charge de ces ectoparasites peut varier selon les individus. Taux de parasitisme chez les hérissons dans des environnements urbains peut être affecté par des paysages hétérogènes avec une différence claire au niveau individuel (Thamm et al., 2009). Les tiques potentiellement choisissent leur hôte basé sur l'odeur liée à l'état de santé de l'hôte (Bunnell et al., 2011).

L'habitat préféré des ectoparasites sur les hôtes est l'avant pattes, le cou, la tête, la poitrine et le ventre (Saupe, 1988). Les hérissons sont des hôtes fréquents des tiques dures *Ixodes hexagonus* (Gern et al., 1991 ; Beichel et al., 1996 ; Gern et al., 1997)



Figure 15. Photo d'un hérisson infesté par les tiques (Hosni & El Maghrbi, 2014)

3.7.1.2 Puces

Partout dans le monde, les puces, en particulier les espèces de *Ctenocephalides*, sont des ectoparasites communs de chiens domestiques, les chats et les hérissons (Mircean et al., 2010 ; Gracia et al., 2013 ; Hajipour et al., 2015).

Archaeopsylla erinacei est la puce des hérissons. Elle est également hébergée par les chats et les chiens autres que les hérissons et elle peut être transférée de hérissons par un contact direct. Les puces d'animaux adultes peuvent attaquer et mordre les humains. Les cas humains

avec éruption sont causés par morsures des puces sont signalés dans certains pays (Goz et al., 2016).

3.7.2 Endoparasites

Les hérissons sont souvent fortement infectés par des parasites : les helminthes dans les voies respiratoires (*Crenosoma striatum* et *Capillaria aerophila*), la cause de dysfonctionnement des poumons. Le tractus intestinal de ces petits mammifères est souvent infecté par *Capillaria erinacei*. En outre les hérissons peuvent être occasionnellement infectés par d'autres nématodes (*Physaloptera clausa*), trématodes (*Brachylaemus erinacei*) et cestodes (*Hymenolepis erinacei*) (Beck, 2007).

Parfois les hérissons sont infectés par des coccidies (*Isospora*) et cryptosporidies (*Cryptosporidium* spp.). Deux espèces de coccidies ont été détectées dans les deux hérissons (*Aterix algirus* & *Paraechinus aethiopicus*), *Isospora* sp. et *Eimeria* sp. (Khaldi et al., 2012).

3.8 Le rôle vectoriel des hérissons dans la transmission des agents pathogènes

Malgré la présence fréquente des hérissons, peu d'informations sont disponibles sur son statut d'hôte réservoir pour différents pathogènes. Il a été montré que les hérissons peuvent être infectés par des agents pathogènes transmis par les tiques tel que l'encéphalite à tiques (TBE), virus, *Borrelia* spp., et *Anaplasma phagocytophilum*, (Labuda & Randolph, 1999 ; Skuballa et al., 2007 ; Skuballa et al., 2010 ; Skuballa et al., 2012 ; Silaghi et al., 2012).

En plus, certaines bactéries ont été trouvées chez les hérissons, dont : *Coxiella burnetii*, *salmonella* spp., *mycobacterium marinum*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Chlamydia psittaci* et *Leptospira* spp., ce qui peuvent mettre en question leurs statuts comme hôtes réservoirs pour ces bactéries, (McCarthy & Moore, 2000 ; Chomel & Riley, 2005 ; Bierque et al., 2020 ; Marié et al., 2012).

Tomás-Pérez et al., (2014) suggèrent que les hérissons ont un potentiel rôle épidémiologique comme hôte réservoir de leishmaniose (*L.major*). Goz et al., (2014) ont affirmé que les hérissons partageant les mêmes habitats avec les humains dans les régions urbaines et suburbaines en particulier peuvent être à l'origine de la transmission de certaines maladies à puces et à tiques des hérissons aux humains.

Les hérissons modulent l'épidémiologie de certaines espèces de *B. burgdorferi s.l.*, ce qui affecte la distribution et l'abondance des génotypes de *B. burgdorferi s.l.* dans divers habitats. Les jeunes individus en particulier ceux qui ont une compétence immunitaire faible ont un haut potentiel de réservoir pour les génotypes (*B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. speilmanii*) (Skuballa et al., 2012).

Candidatus Neoehrlichia mikurensis a été détecté chez les hérissons urbains (Szekeres et al., 2019), *Rickettsia conorii*, *R. Massiliae*, *R. Siberica* et *R. Helvetica*) ont été détectés chez les hérissons et leurs tiques, de plus et *R. felis* a été signalé dans des puces prélevées sur des hérissons dans différents pays (Chen et al., 1997 ; De Sousa et al., 2006 ; Khaldi et al., 2012 ; Marié et al., 2012 ; Szekeres et al., 2019 ; Greigert et al., 2020).

Cette double fonction épidémiologique (maintenance des tiques et le hôte réservoir), qui fait d'eux des acteurs clés dans les cycles urbains d'agents pathogènes transmis par les tiques est unique pour les hérissons (Rizzoli et al., 2014).

Chapitre II

Présentation de la zone d'étude

Afin de détecter les agents pathogènes et les ectoparasites chez les populations d'*Atelerix algirus* dans le Nord d'Algérie, cette thèse est scindée en 2 grandes projets : le premier est l'investigation de la prévalence et l'abondance des ectoparasites infestant *Atelerix algirus* dans la wilaya de Bouira et le second est la détection des agents infectieux chez les ectoparasites et échantillons de sang et d'organes des hérissons.

4 Présentation de la zone d'étude

L'étude a été menée dans différentes régions de la wilaya de Bouira, elle est considérée comme un lien entre les wilayas centrales du Nord de l'Algérie en raison de son emplacement géographique stratégique important. La région est également l'une des zones touristiques les plus belles et les plus pittoresques d'Algérie, avec ses attractions naturelles ouvertes telles que le " Parc naturel de Tikjda" qui est situé sur les montagnes de Jurjura et le sommet montagneux de Lalla Khadija, qui est fréquenté par des touristes du monde entier. Bouira est également connue pour ses capacités agricoles en tant que région agricole d'excellence connue pour sa production abondante de blé, de pommes de terre, de figues, d'olives et de miel.

Elle est située dans la région Nord-Centre du pays, à 120 km au Sud Est de la capitale (Alger), elle s'étend sur une superficie de 4456,26 km² représentant 0,19% du territoire national.

La wilaya de Bouira est limitée géographiquement au Nord par la wilaya de Boumerdès et Tizi-Ouzou, au Sud et Sud Ouest par la wilaya de M'sila et de Médéa et à l'Est et Sud Est par la wilaya de Béjaïa et Bordj-Bou-Arréridj et à l'Ouest par la Blida et Médéa (Fig.16).

Caractérisée par un relief fortement accidenté, son chef lieu est situé à une altitude de 525m, au bas du piémont Sud Ouest du Djurdjura dont le sommet le plus élevé est lala-Khadija (2308m) (Anonymous, 2013).

Le relief est contrasté et comporte cinq grands ensembles physiques :

- La dépression centrale (plaines des Aribes, plateau d'El Asnam, la vallée d'Ouadhous et Oued Sahel).
- La terminaison orientale de l'Atlas blidéen.
- Le versant sud du Djurdjura (Nord de la wilaya).
- La chaîne des Bibans et les hauts reliefs du sud.

- La dépression sud des Bibans.



Figure 16. Carte géographique de la wilaya de Bouira (Anonymous, 2013).

La zone boisée représente 25 % du territoire avec 111 490 ha de massif forestier. On trouve le pin d'Alep, le chêne vert ainsi que le chêne-liège. Le climat est chaud et sec en été, froid et pluvieux en hiver. Selon la classification de Köppen-Geiger, le climat est de type Csa. La pluviométrie moyenne est de 700 mm/an au nord et de 250 mm/an dans la partie sud. Les températures varient entre 20 et 40 °C de mai à septembre et de 2 à 12 °C de janvier à mars.

Issue du découpage administratif institué par ordonnance n° 74/69 du 02 juillet 1974, relative à la refonte de l'organisation territoriale des Wilayas. Elle est organisée administrativement en 45 communes et 12 daïras (sous préfectures), elle compte une population de 728 290 habitants (recensement 2011) avec une superficie totale de 4454 km².

Pour l'agriculture, la Superficie d'agriculture de la wilaya est estimée à 190 060 ha (42,67% de la superficie de la wilaya), dont 11 411 ha (6%) de superficie irriguée. Les zones boisées tiennent une place importante dans la wilaya, elles occupent 112 250 ha (25,20% de la

superficie totale de la wilaya. Les principales essences forestières sont le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (Anonymous, 2013).

4.1 Zones d'échantillonnage

L'échantillonnage a duré 3 ans, d'Aout 2014 jusqu'au Juin 2017 (après le réveil des hérissons de leur hibernation : début de printemps jusqu'à l'automne), un total de 27 hérissons (13 femelles ,14 mâles) ont été échantillonnés, ils sont tous identifiés comme étant *Atelerix algirus*, le hérisson du Nord Algérien,l'espèce endémique de la région (Tab.3).

21 sur 27 hérissons morts, principalement étaient victimes de la route suite à des accidents du trafic routier ou tués par les paysans dans les forêts, champs et les jardins. 6 sur 27 hérissons (2 mâles, 4 femelles) ont été capturés vivant et on a procédé à un déparasitage puis l'animal a été relâché dans son environnement naturel.

Tous les échantillons ont été conservés dans de l'alcool 70° ensuite traités au laboratoire VITROME de IHU- infection méditerranée Marseille-France.

L'échantillonnage a été réalisée au niveau de différentes régions de la wilaya de Bouira (fig.17) :

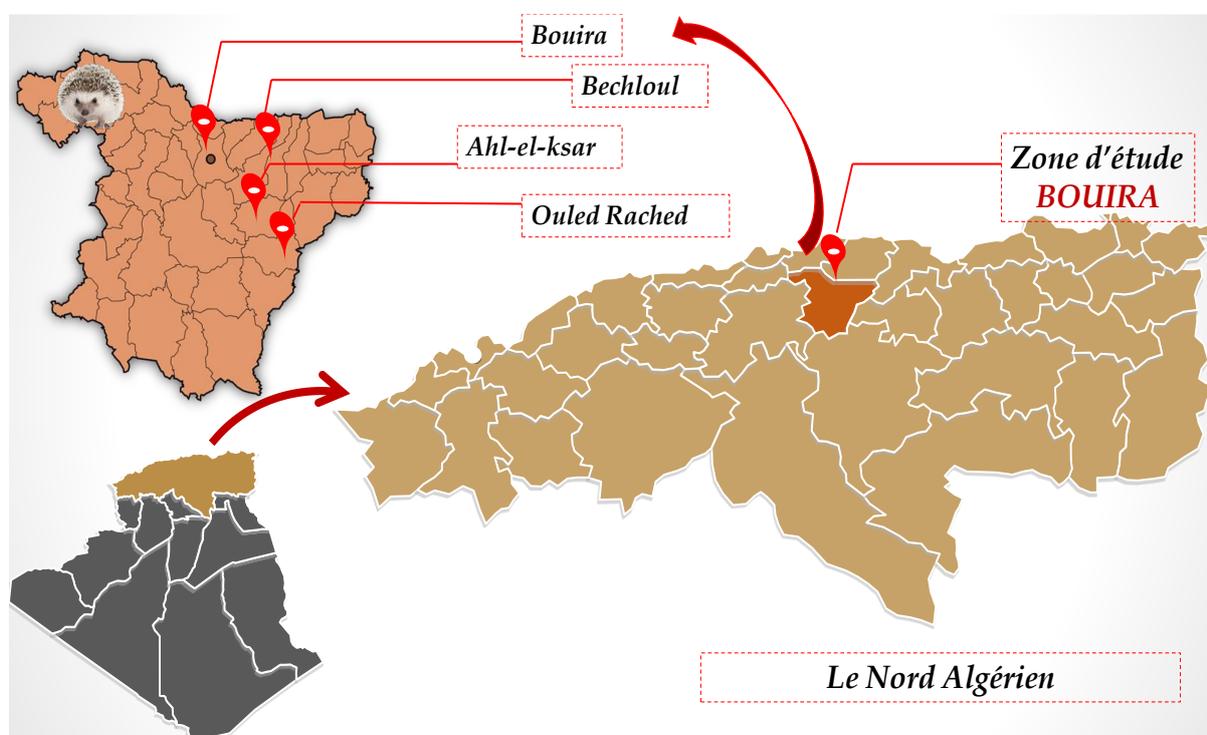


Figure 17. Carte géographique montrant les sites d'échantillonnage au niveau de la wilaya de Bouira

Tableau 3. Tableau récapitulatif des hérissons échantillonnés selon les régions

Communes	Coordonnées GPS			Altitudes	Région	Nombre de hérisson échantillonné
	Latitudes	Longitu des	DMS (degrés, minutes, secondes)			
Ahl-el-ksar	36.2531	4.03944	36° 15' 11"	612 m	Thiliwa	11
			Nord, 4° 2' 22" Est.		Thigmit	04
					Thalamine	02
					Ahl-el-ksar centre	01
					Ighil mehalah	01
Ouled Rached	36.2119	4.11046	36° 12' 43" Nord, 4° 6' 38" Est .	910 m	Halassa	04
Bechloul	36.2119	4.11046	36° 12' 43" Nord, 4° 6' 38" Est.	414 m	Bechloul	03
Bouira	36.3667	3.88333	36° 22' 0" Nord, 3° 52' 60" Est.	489 m	Oued eddhous	01

Tous les échantillons collectés ont été transportés au laboratoire de biologie de l'Université d'Akli Mohand Oulhadj de Bouira pour une première identification morphologique des ectoparasites puis à IHU –Infection Méditerranée l'unité de recherche : Vecteurs-Infections TROPicales et MEditerranéennes (VITROME) – Marseille –France.

Le déparasitage a été effectué sur 14 entre eux (12 morts, 2 vivants) étaient infestées d'arthropodes avec une moyenne de collecte de 40,25 puces (1087/27) et 8.66 tiques (234/27) par hérisson (en calculant le nombre total des arthropodes/ le nombre total des hérissons échantillonnés), l'écart type (σ) est de 312.12 chez les puces et 63.63 chez les tiques.

Le nombre des ectoparasites collectés est mentionné dans le tableau suivant : (Tab.4).

Tableau 4. Nombre des ectoparasites récoltés des hérissons échantillonnés par région

Région du hérisson	Nbre des hérissons échantillonnés	Nombre des puces	Nombre des tiques
Ahl-el-ksar (centre)	01	0	13
Thigmit (Ahl-el-ksar)	03	241	168
Thiliwa (Ahl-el-ksar)	04	790	24
Halassa (Ouled rached)	04	10	16
Bechloul (centre)	01	01	12
Oued eddhous (Bouira)	01	45	1
Total	14	1087	234

Le hérisson *Atelerix algirus* est un animal richement parasité, vu le nombre élevé des puces est de 1087 et celui des tiques 234, ce qui confirme quelques études (Reeve, 1994 ;Földvári et al., 2011).

Les régions Thiliwat et Thigmit (Ahl-el-ksar) sont plus parasitées que les régions Halassa, Bechloul et Oued eddhous car ces deux régions se caractérisent par une forte ruralité, un réseau hydrographique important et la présence des divers animaux sauvages et domestiques (Aouadi et al., 2021).

Chapitre III

Matériels & Méthodes

Afin de réaliser une étude entomo-épidémiologiques ,nous avons scindé notre travail en deux grands projets :

Projet I : Investigation de la prévalence et l'abondance des ectoparasites chez A. algirus

5 Investigation de la prévalence et l'abondance des ectoparasites chez A. algirus

Introduction

Les hérissons sont des animaux sauvages et animaux de compagnie dans plusieurs parties du monde, ils sont connus pour être très fortement infestés des tiques et des puces à cause de leur régime alimentaire et leur vie dans les forêts , *Aterix algirus* fait parti des deux espèces endémique en Algérie, dans ce projet nous essayons d'étudier la prévalence et l'abondance des ectoparasites dans cette population des hérissons.

5.1 Matériels

- **Matériel biologique :** Les hérissons (*Aterix algirus*), tiques et puces , un chien de chasse de race berger allemand pour rechercher les hérissons et leurs cadvres
- **Matériel non biologique :** des tubes coniques, des pouts, solution de conservation d'échantillon (éthanol 70°), des pinces, produits chimiques de MALDI-TOF/MS, kit d'extraction d'ADN, appareillges (Microflex-Maldi-tof, EZ1-extracteur d'ADN EZ1 ,Biorad-qPCR, séquenceur,..etc

5.2 Méthodes

5.2.1 La collecte des ectoparasites (tiques & puces)

Les cadavres de hérissons ont été récupérés à la main soit au bord des routes pour ceux qui ont été heurtés par des véhicules, dans les forêts ou les jardins pour ceux qui sont morts accidentellement empoisonnés par les agriculteurs. Après, nous avons procédé à un déparasitage de l'animal vivant aussi les cadavres des hérissons morts dont la technique est la suivante :

a. Les tiques

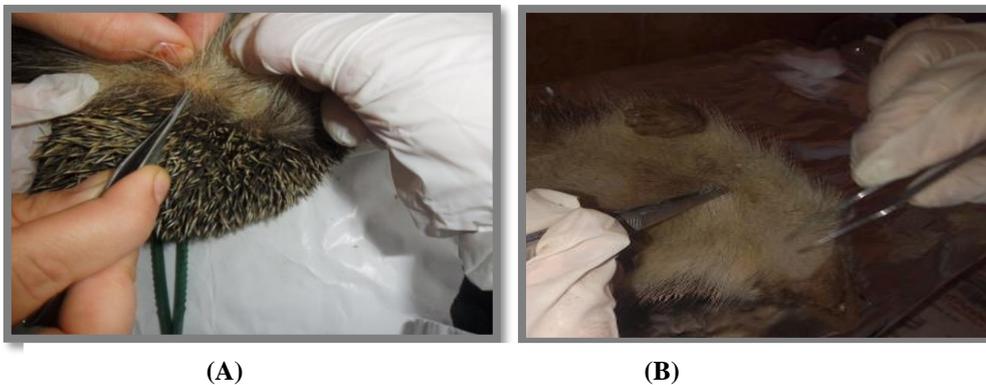
La collecte des tiques se fait à l'aide d'une pince. La technique consiste à examiner visuellement en écartant les épines pour rechercher les tiques visibles à l'œil nu et les prélever (Fig.18), le nombre total des tiques collectés 234 tiques dont 28 tiques gorgées.



Figure 18.Méthode de récolte des tiques (Originale)

b. Les puces

Les puces dont nous disposons sont récoltées par prélèvement direct à l'aide d'une pince dans une grande bassine de couleur claire, plus de 30 cm de hauteur pour éviter leur fuite (Fig. 19), le nombre total des puces collectés 1087.



(A) : déparasitage d'un hérisson vivant, (B) : déparasitage d'un cadavre)

Figure 19.Méthode de collecte des puces (Originale).

Les ectoparasites prélevés sont conservés dans des tubes contenant de l'Ethanol à 70° car le dessèchement fragilise très fortement les spécimens. Ils ont été triés par groupe, comptés, et chaque groupe d'arthropodes d'un même hérisson a été immédiatement placé dans le même tube.

5.2.2 Identification Morphologique des espèces des ectoparasites

Une loupe binoculaire (OPTIKA ST-30, FX-EU 20X (Via Rigla, Ponteranica BG, Italia) et des clés d'identifications ont été utilisées pour identifier morphologiquement les arthropodes collectés au niveau de l'espèce initialement en Algérie à l'Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira (Bouattour, 2002 ;Walker et al., 2003;Beaucournu & Launay, 1990).

L'identification morphologique a été vérifiée à l'IHU Méditerranée Infection (Marseille, France) à l'aide d'un stéréomicroscope Zeiss Axio Zoom V16 (Zeiss, Marly le Roi, France), d'un microscope numérique VHX-7000 (Kayence, Osaka, Japon) et des clés d'identification (Estrada-Peña et al., 2018 ;Beaucournu & Launay, 1990).

Certains spécimens de puces sélectionnés au hasard ont été soumis à un éclaircissement qui consiste à tremper l'ensemble de l'échantillon ou sa partie d'intérêt dans une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 10 % et un bain de lactophénol d'Amman avant d'être montés en milieu de montage Euparal afin de rendre les critères morphologiques plus visibles.

5.2.3 Identification des arthropodes collectés par le Matrix-Assisted Laser

Desorption Ionization/Time-Of-Flight- Mass Spectrometry (MALDI-TOF/MS)

L'identification morphologique des espèces d'ectoparasites reste une affaire des spécialistes, d'autre part nous avons utilisé le MALDI-TOF-MS qui a été rapporté comme une méthode encourageante pour l'identification des arthropodes, afin de soutenir l'identification morphologique des arthropodes, quatre-vingt-douze tiques (dont 28 des tiques gorgées) et vingt-six puces ont été sélectionnées au hasard et disséquées pour passer au MALDI-TOF/MS.

5.2.3.1 Principe

MALDI-TOF / MS est connu pour être une technique analytique extrêmement sensible ce qui permet la détection de grandes biomolécules plus fragiles comme les peptides, les protéines, les glycoprotéines et les oligonucléotides en raison de sa capacité à détecter rapidement de grandes biomolécules en quantités infimes, MALDI-TOF / MS est un outil idéal pour caractériser les biomarqueurs des maladies dans des échantillons biologiques, le spectromètre de masse MALDI-TOF est un spectromètre couplant une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI = *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation*) et un analyseur à temps de vol (TOF = *Time-Of-Flight*) (Cho et al., 2015).

Son principe est basé sur le bombardement de molécules d'échantillon avec une lumière laser pour provoquer l'ionisation de l'échantillon en fonction de leurs rapports masse / charge (m/z). L'échantillon est mélangé à la matrice et placé sur une lame. Le dépôt (ou spot) formé est appelé cible. La matrice transforme l'énergie laser en énergie d'excitation pour l'échantillon, ce qui conduit à la pulvérisation d'ions d'analytes et de matrice à partir de la surface du mélange. De cette manière, le transfert d'énergie est efficace et les molécules d'analytes sont également épargnées par une énergie directe excessive qui peut provoquer une décomposition. Les ions transmis par le dispositif sont détectés, comptés voire identifiés, à l'aide d'un détecteur (Fig.20).

Un ordinateur pilote l'appareil, effectue l'acquisition des données réduites sous forme de spectres de masse qu'il permet d'analyser. La matrice doit être préparée sous hotte chimique avant chaque série d'analyses et conservée à 4 °C à l'abri de la lumière.

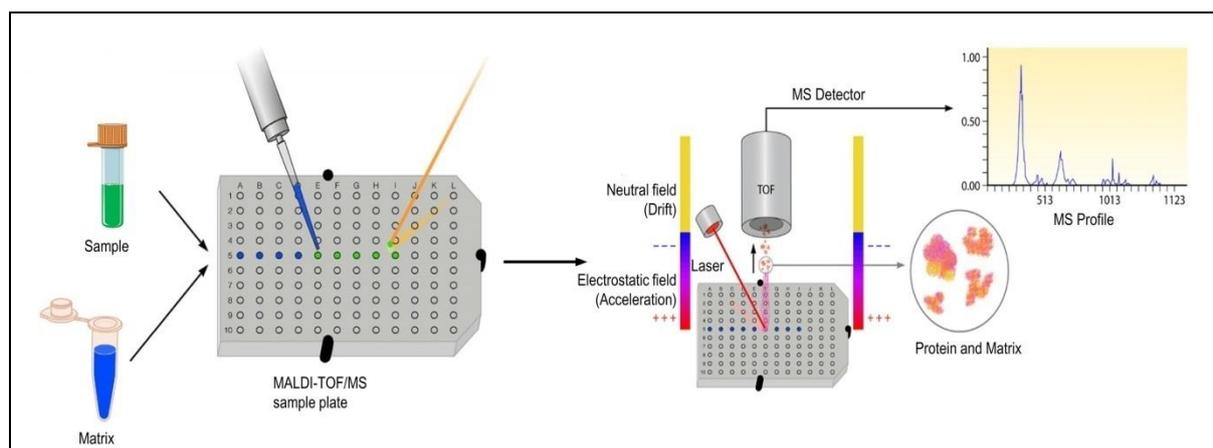


Figure 20. Le procédé de spectrométrie de masse MALDI-TOF (Clark et al., 2013)

5.2.3.2 La préparation des ectoparasites

Le MALDI-TOF/MS est une nouvelle technique qui a montré son efficacité dans le domaine d'identification des espèces des arthropodes ces dernières années. (Yssouf, Socolovschi, et al., 2013; Yssouf et al., 2013; Yssouf et al., 2014; Yssouf et al., 2016; Nebbak et al., 2017 ; Diarra et al., 2017).

Le protocole utilisé pour les tiques est appelé « Dry –MS » qui consiste à effectuer une dissection des quarts pattes sous un microscope optique (Zeiss Axio Zoom.V16, Zeiss, Marly le Roi, France), et les sécher pendant une nuit à 37°C dans le bain sec (Diarra et al.,

2017), ces pattes vont être homogénéisées avec une pincée de poudre de verre, plus 40µl de Mix (50% ACN, 70% AF) dans le TissueLyser (QIAGEN, Allemagne), pendant 60s 3/ cycles à une fréquence de 30Hz (Nebbak et al., 2017) .

Pour identifier les espèces des puces par MALDI-TOF/MS, des études ont prouvé que l'usage des échantillons céphalothorax des puces est l'échantillon le plus préférable (Yssouf et al., 2014).

Pour cela, nous avons procédé à une désalcoolisation des céphalothorax au bain sec à 37 °C pendant la nuit pour éliminer l'éthanol , ensuite une bille de tungstène stérile est ajoutée au de 20µl de mix (70% AF.50% ACN), tous vont être mélangés dans le tissueLyser ,3 cycles de 30s à une fréquence de 30Hz. (Zurita et al., 2019)

Les profils des spectres obtenus seront visualisés avec Flex analysis v.3.3 software, les spectres de haute qualité ont été testés à l'aveugle à l'aide du logiciel MALDI Biotyper v.3.0 par rapport à la base de données de laboratoire (Vitrome- Marseille) contenant les spectres de référence de plusieurs espèces d'arthropodes (Yssouf, Flaudrops, et al., 2013).

Le protocole de la préparation du MALDI-TOF/MS selon (Williams et al., 2003) (Annexes 01,02).

5.2.4 Extraction d'ADN des arthropodes

Seize tiques, vingt-huit tiques femelles gorgées (la moitié des corps des tiques non gorgées et environ ¼ des corps de tiques gorgées) ont été soumises à une identification moléculaire en plus, vingt-six puces ont été également sélectionnées au hasard et soumises à une extraction d'ADN.L'extraction a été effectuée avec un kit EZ1 DNA Tissue (Qiagen) selon les recommandations du fabricant, en commençant avec une prélyse qui consiste à ajouter 180µl de tampon de lyse G2 et 20µl protéinase K (Qiagen, Hilden, Allemagne) des arthropodes (tique avec 04 pattes, la moitié de la puce), puis suivie d'une incubation à 56°C pendant une nuit.

Le volume total d'ADN récupéré à la fin de l'extraction est d'ordre de 100µl de tampon, il sera conservé à -20°C jusqu'à l'utilisation (Diarra et al., 2017) (Annexe 02).

5.2.5 L'identification Moléculaire des arthropodes

L'ADN de vingt-six puces ,seize tiques et vingt-huit femelles gorgées ont été sélectionnées au hasard et soumis à une PCR conventionnelle, suivie d'un séquençage dans un thermocycleur

automatisé (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), amplifiant un fragment d'environ 1000 paires de bases de l'ITS1 (espaceur transcrit interne) et un fragment de 460 paires de bases du gène de l'ARN 16S de la tique respectivement pour l'identification des puces et des tiques, comme décrit précédemment (Vobis et al., 2004; Boyer et al., 2019). L'ADN de *Rh. sanguineus sl.* et *Ctenocephalides felis* spécimens identifiés et élevés dans laboratoire (Vitrome- Marseille) ont été utilisés comme témoins positifs. Un mélange PCR sans ADN a été utilisé comme contrôle négatif.

5.2.6 Calcul des indices parasitaires

Dans le but d'évaluer le parasitisme de l'espèce de hérisson étudiée, nous avons calculé trois indices parasitaires proposés par (Bush et al., 1997).

5.2.6.1 La prévalence parasitaire (Pr%)

La prévalence est le nombre d'hôtes infectés par un ou plusieurs individus d'une espèce parasitaire particulière (ou groupe taxonomique) divisé par le nombre d'hôtes examinés pour cette espèce parasitaire.

La prévalence parasitaire est le rapport du nombre des hérissons infestés (NHI) par un groupe donné de parasites sur le nombre des hérissons examinés (NHE).

Pr: Prévalence.

NHI: Nombre de Hérissons infestés d'ectoparasites

NHE: Nombre de Hérissons examinés

$$\text{Pr} = \text{NHI}/\text{NHE} \times 100$$

D'après Valtonen et al., (1997) les espèces sont qualifiées de fréquentes ou principales ($\text{Pr} > 50\%$), secondaires ou intermédiaires ($10\% \leq \text{Pr} \leq 50\%$), rares ou satellites ($\text{Pr} < 10\%$)

5.2.6.2 Intensité parasitaire moyenne

C'est le rapport entre le nombre total des individus d'une espèce parasite dans un échantillon d'une espèce hôte et le nombre d'hôtes infestés par le parasite

NP : Nombre de total d'une espèce parasite.

NHI: Nombre de Hérissons infestés

$$\text{Im} = \text{NP}/\text{NHI}$$

Pour les intensités moyennes (IM), la classification adoptée est celle de Bilong-Bilong & Njiné (1998) :

L'intensité moyenne (Im) était élevée si Im est supérieur à 100, moyenne si Im se situait entre 50 et 100, faible si Im se situait entre 10 et 50; et très faible si Im est inférieur à 10

5.2.6.3 L'abondance parasitaire moyenne (A_m)

L'abondance parasitaire est le rapport du nombre total d'individus d'un groupe de parasites dans un échantillon d'hôtes (NP) sur le nombre total d'hôtes (infestés ou non infestés) dans l'échantillon (NPE). C'est le nombre moyen d'individus d'un groupe donné de parasites par hôtes examinés.

$$A_m = NP/NHE$$

NP: Nombre de parasites.

NHE: Nombre de Hérissons examinés

*Projet II : Détection des microorganismes pathogènes chez *A. algirus**

6 Détection des microorganismes chez *A. algirus*

Introduction

Les hérissons sont des animaux de compagnie dans plusieurs parties du monde, leur valeur dans le domaine vétero-médical est liée à leurs différents habitats tels que les régions urbaines et suburbaines ainsi qu'aux innombrables agents pathogènes zoonotiques qu'ils peuvent abriter, l'objectif de cette étude est d'enquêter sur la présence de divers micro-organismes zoonotiques dans les organes du hérisson (*Atelerix algirus*) et dans leurs arthropodes hématophages associés dans une région du centre-nord de l'Algérie (Bouira).

6.1 Matériels

- **Matériel biologique :** Un chien de chasse de race berger allemand pour rechercher les hérissons et leurs cadavres, les organes des hérissons (rein, rate), échantillon du sang, tiques et puces,
- **Matériel non biologique :** des tubes coniques, des pouts, solution de conservation d'échantillon (éthanol 70°), une trousse chirurgicale. Le matériel de laboratoire (la trousse de matériel chirurgical : bistouri, pinces...) est stérilisé et désinfecté par autoclave au niveau des laboratoires de l'université de Akli Mohand Oulhadj –Bouira avant et après son utilisation, produits et appareillages de biologie moléculaire, logiciel ChromasPro pour l'assemblage des séquences d'ADN, logiciel de construction des arbres phylogénétiques (MEGA x).

6.2 Méthodes

6.2.1 L'entretien des hérissons & ponction cardiaque

Les hérissons vivants ont été mis dans des cages menées d'une grille et revêtues du foin ou de paille pour chauffer et absorber les liquides (Un hérisson par cage car ils sont des animaux solitaires, ils ne se rencontrent que pour se reproduire), le hérisson est insectivore, son régime alimentaire se compose des vers de terre, de mollusques,... etc. Mais celui en captivité peut s'adapter à un régime normal, nous avons essayé d'équilibrer leur régime tout en se basant sur ces produits qui sont adaptés des sites de protection et d'élevage des hérissons :les produits carnés destinés aux chats et chiens ,la viande et les œufs bien cuits ,eau ,salade et fruits secs :raisin ,abricot ,figues. Tout en évitant le lait et le pain ou leurs dérivés car ils ont une intolérance au lactose et au gluten,pendant une semaine. (Annexe 04).

Nous avons procédé à une ponction cardiaque sur 6 hérissons, dans le but de prélever le sang dans un tube sec stérile ou un tube EDTA cela permettant de garder les hérissons vivants (Annexe 04).Après avoir réalisé la prise du sang, le hérisson en captivité est inspecté après pour rechercher les ectoparasites puis relâché dans la nature dans son site de capture (habitat original).

6.2.1 La dissection des hérissons

Après avoir effectué le déparasitage sur les cadavres des hérissons, on procède à une dissection ; la rate et le rein de chaque hérisson ont été collectés et immédiatement placés séparément dans des flacons stériles contenant 70 % d'éthanol. (Voir l'annexe 05).

Tous les échantillons ont été conservés à température ambiante avant d'être transportés au laboratoire VITROME de l'IHU Méditerranée Infection, (Marseille, France) pour l'analyse.

6.2.2 Extraction d'ADN

Tous les échantillons de sang, rein et rate des hérissons, 138/218 tiques et 119/853 puces sélectionnés au hasard ont été soumis à une extraction d'ADN. Un morceau d'environ 25 mg de chaque organe, les abdomens des puces et la moitié des corps des tiques ont été transférés individuellement dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml et incubés une nuit à 56°C dans 180 µl de tampon de lyse G2 et 20 µl de protéinase K (Qiagen, Hilden, Allemagne) pour permettre la lyse des tissus (Diarra et al., 2017) (Annexe 03).

L'ADN a été extrait de 200 µl de chaque échantillon dans un éluat de 100 µl en utilisant le kit de tissu ADN EZ1 (Qiagen) avec le robot EZ1 (Qiagen) conformément aux instructions du

fabricant. L'ADN a été soit utilisé immédiatement, soit conservé congelé à -20°C jusqu'à son utilisation (Sadeddine et al., 2020).

6.2.3 La détection moléculaire des microorganismes pathogènes

L'ADN extrait a été soumis à des réactions quantitatives en chaîne par polymérase (qPCR) à l'aide d'amorces ciblant RKND pour *Rickettsia* spp., ITS2 pour *Bartonella* spp., ITS4 pour *Borrelia* spp., ARN 16S pour *Leptospira* spp., IS1111 pour *Coxiella burnetii* et 23S pour *Anaplasmataceae* et réalisé dans un système de détection CFX96 Touch™ (Bio-Rad Laboratories, Foster City, CA, USA) selon les instructions du fabricant (Diarra et al., 2017 ;Keita et al., 2020). Chaque réaction contenait des contrôles négatifs (mélange PCR sans ADN et ADN d'un échantillon de puce ou de tique élevé en laboratoire) et un contrôle positif (ADN de souches bactériennes cultivées dans laboratoire IHU-Marseille). Les échantillons étaient considérés comme positifs lorsque les valeurs seuil du cycle (Ct) étaient ≤ 35 .

Tous les échantillons positifs pour le gène RKND de *Rickettsia* spp. ont été soumis à d'autres qPCR à l'aide d'amorces et de sondes spécifiques ciblant *R. felis* et/ou *R. typhi* pour les puces et *R. aeschlimannii* ou *R. massiliae* et/ou *R. conorii* pour les tiques (selon les espèces de tiques). De même, tous les arthropodes positifs pour le gène *Anaplasmataceae* 23S ont été testés pour *Wolbachia* spp., et les échantillons positifs pour *C. burnetii* IS1111 ont été soumis à un deuxième test ciblant le fragment de gène spécifique de *C. burnetii* IS30A (Annexe 09).

Les échantillons positifs dont les espèces bactériennes n'ont pas pu être confirmées par qPCR spécifique ont été soumis à une PCR conventionnelle et à un séquençage pour la détermination des espèces. Des témoins négatifs et positifs ont été utilisés comme décrit ci-dessus. Les séquences des amorces et des sondes utilisées sont répertoriées dans l'annexe 10.

À l'aide du logiciel ChromasPro version 1.7.7 (Technelysium Pty. Ltd., Tewantin, Australie), les séquences obtenues ont été assemblées, analysées, corrigées puis exposées contre ceux de NCBI GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) pour les comparer aux séquences de référence disponibles.

6.2.1 Analyse phylogénétique

Afin d'effectuer une identification spécifique, une analyse d'alignements de séquences multiples des séquences partielles obtenues pour *Leptospira* spp.(*rpoB*), *Bartonella* spp.(*ftsZ*), *Rickettsia* spp. (*ompA*), *Anaplasmataceae* (23S) et *Ehrlichia* spp. Les gènes séquencés par *groEL*, ainsi que leurs séquences de référence correspondantes disponibles dans GenBank,

ont été réalisés à l'aide du logiciel MEGA version X (Kumar, Stecher, Li, Knyaz et Tamura 2018) avant le tracé des arbres phylogénétiques (voir Annexe 10).

Les modèles du logiciel MEGA version X (Kumar) ont été utilisés pour trouver le meilleur modèle d'ADN pour chaque donnée d'alignement. Le modèle avec le critère d'information bayésien (BIC) le plus bas a été choisi pour chaque tracé d'arbre phylogénétique. Les arbres phylogénétiques ont été déduits en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance (Maximum Likelihood :ML) sous le modèle Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) +G+I pour *Bartonella* spp. gène *ftsZ*, modèle Tamura à 3 paramètres (T92) +G pour *Anaplasmataceae* 23S et *Rickettsia* spp. gène *ompA*, modèle HKY +G pour *Ehrlichia* spp. gène *groEL* et *Wolbachia* clades gène *Anaplasmataceae* 23S et le modèle Kimura à 2 paramètres (K2) +G pour *Leptospira* spp. gène *rpoB*. Le support de la topologie a été examiné en utilisant le bootstrap (Felsenstein, 1985) sur 200 répliquions pour tous les arbres phylogénétiques, les valeurs de bootstrap inférieures à 60% ne sont pas affichées.

Chapitre IV

Résultats & Discussions

7 Résultats de projet I : Investigation de la prévalence et l'abondance des ectoparasites chez *A. algirus*

Le but de ce projet est d'évaluer la prévalence et l'abondance des ectoparasites (tiques et puces) chez les hérissons d'Algérie *Atelerix algirus* dans différentes régions de la province de Bouira (**Ahl –El-Ksar** (Ahl-el-ksar centre, Thiliwa, Thigmit, Thalamine, Ighil Mehallah), **Ouled Rached** (Halassa, Assif-el-Khemis), **Bechloul** (Bechloul centre), **Bouira** (Oued eddhous).

7.1 Résultat d'identification morphologique des espèces de tiques et puces

L'examen morphologique au laboratoire des puces et tiques collectées nous a permis d'identifier deux espèces de tiques (*Rh. sanguineus s.l.*, *Hae. erinacei*), des tiques engorgées de sang identifiées jusqu'au genre *Rhipiciphalus* spp. (femelles engorgées dépourvues de caractéristiques permettant une identification définitive c'est pour cette raison sont soumis à une identification par MALDI-TOF/MS et moléculaire), et une seule espèce de puces *Archaeopsylla erinacei* (Fig 21, Fig.25).



a : Vue d'ensemble d'une puce *A. erinacei* femelle montée dans le milieu de montage Euparal après l'éclaircissement de KOH ; **b** : Tête d'échantillon de puces *A. erinacei* montée dans le milieu de montage Euparal après l'éclaircissement de KOH : Les épines des cténidies génales et pronotales sont indiquées par des flèches, **c** : Vue d'ensemble d'une puce *A. erinacei* femelle sans l'éclaircissement de KOH.

Figure 21: Photographies de puces *Archaeopsylla erinacei* prélevées sur un hérisson *Atelerix algirus* prises avec un stéréomicroscope Zeiss Axio Zoom V16 (G X20) (Zeiss, Marly le Roi, France).

➤ *Archaeopsylla erinacei*

La tête possède deux épines coniques isolées de chaque côté. La cténédie pronotale est formée de 2 à 8 épines peu serrées. Sa tête est aussi longue que large au niveau de l'oeil, présente une petite épine conique isolée à l'extrémité postérieure de la fossette antennaire ainsi que des yeux bien développés (Fig.22).

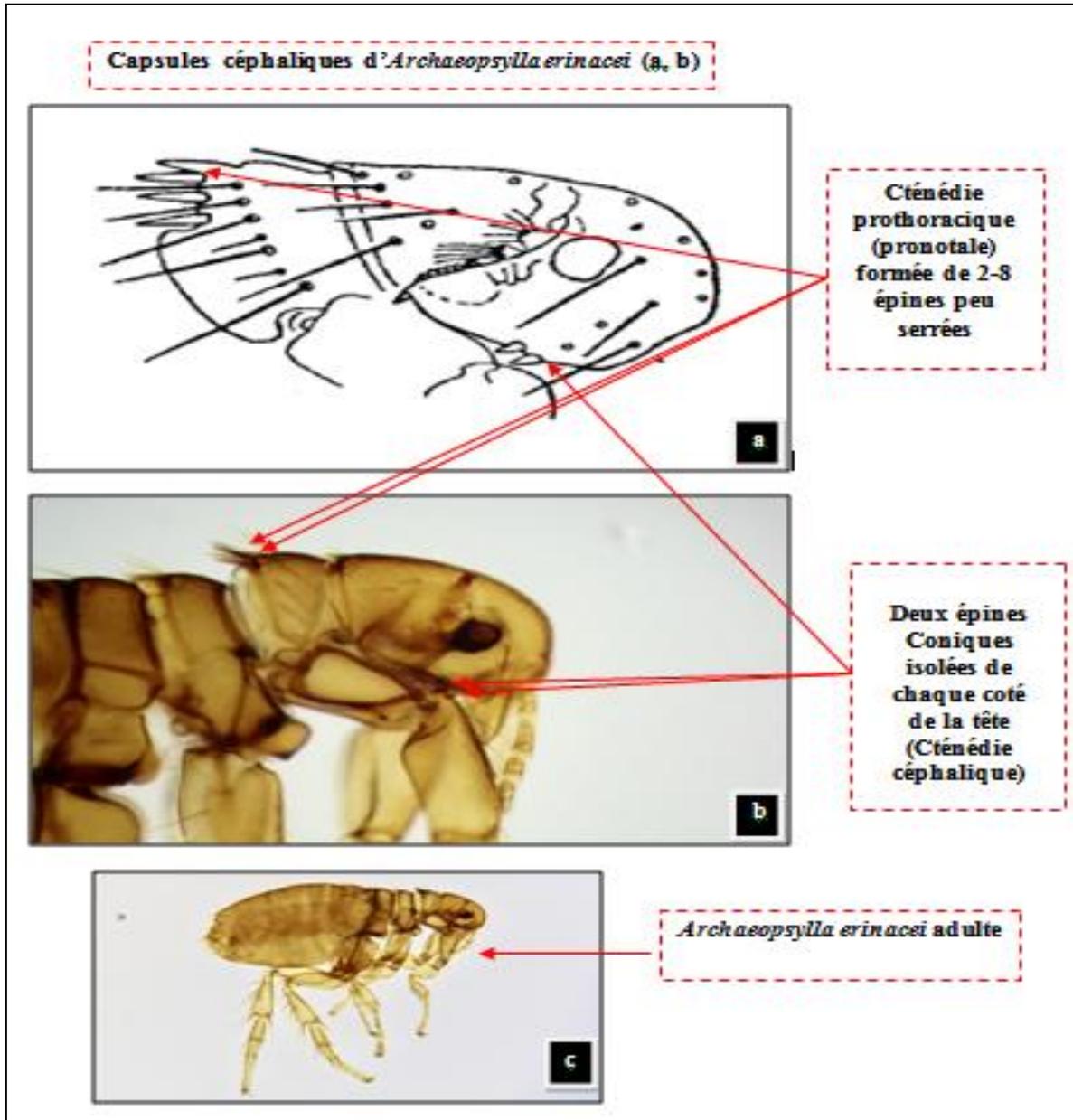


Figure 22. Critères d'identification morphologique des puces *Archaeopsylla erinacei*

➤ *Rhipicephalus sanguineus*

La base du capitulum une forme d'hexagone et le rostre est court. En position dorsale des yeux plats peu visibles et des festons bien nets. En position ventrale on peut voir des plaques adanales et des plaques stigmatiques bien développées. Le coxæ I est bifide et possède deux épines. Festons et sillons adanaux marqués, plaques stigmatiques effilées, ocelle plat, plaques adanales de forme triangulaire, à base étroite ; scutum avec punctuations interstitielles fines ou moyennes, punctuations pilifères très apparentes, sillon scapulaire non distinct (Fig.23).

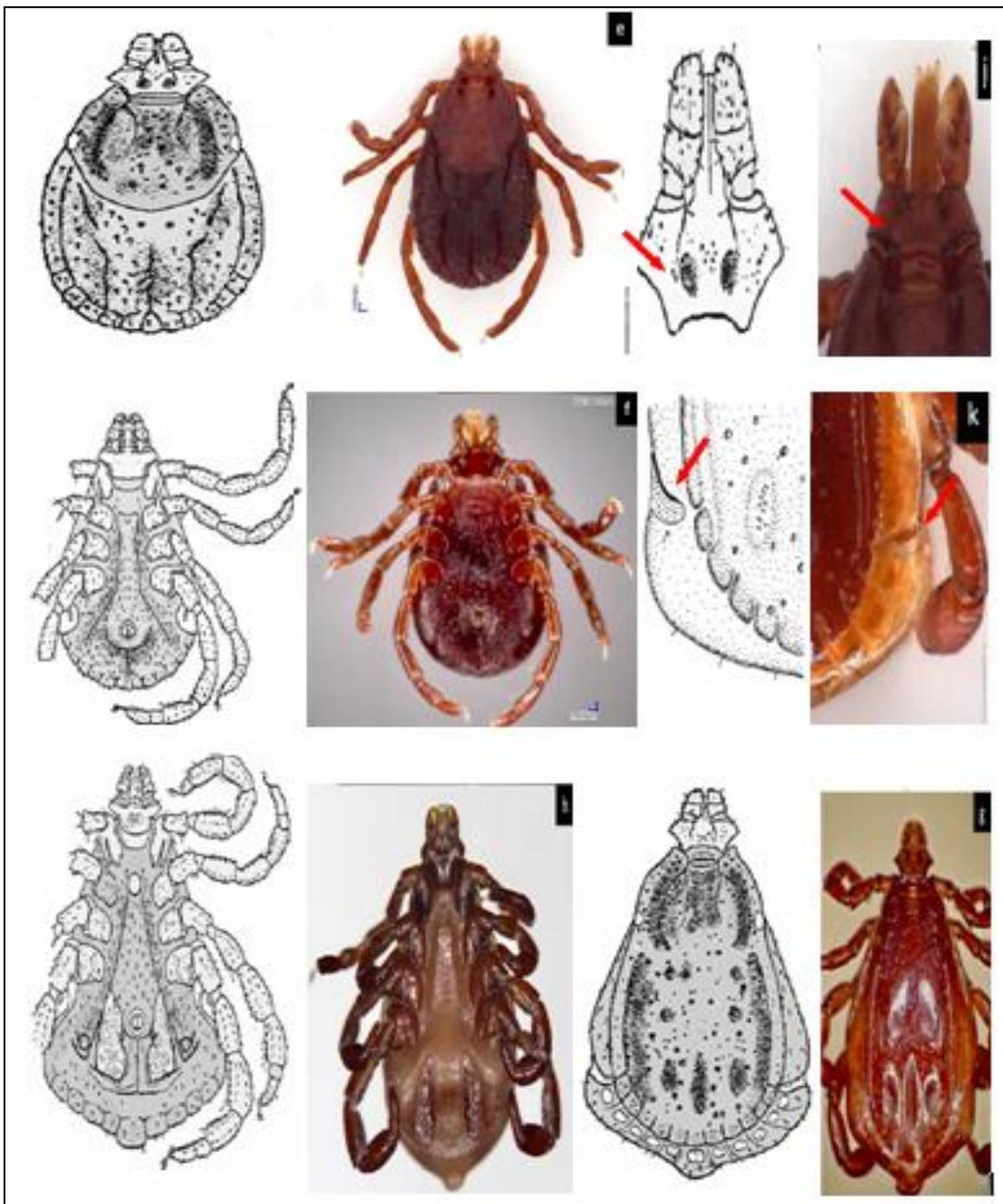


Figure 23. Critères d'identification morphologique des tiques *Rhipicephalus sanguineus*

➤ *Haemaphysalis erinacei*

Yeux absents ; plaques stigmatiques ovalaires ; article II du pédipalpe plus large que l'article III ; base du capitulum trapézoïde ; coxa I à éperon court ; mâles sans plaques ventrales ...

Présence de festons adanaux ; sillon anal en demi-cercle postérieur à l'anus, Palpes allongés (articles II habituellement plus longs que larges) ; ocelles arrondis Palpes ramassés (articles II aussi larges ou plus larges que longs) ; ocelles ovales, Scutum sans ornement émaillé ; éperons de la coxa I très longs (Fig.24).

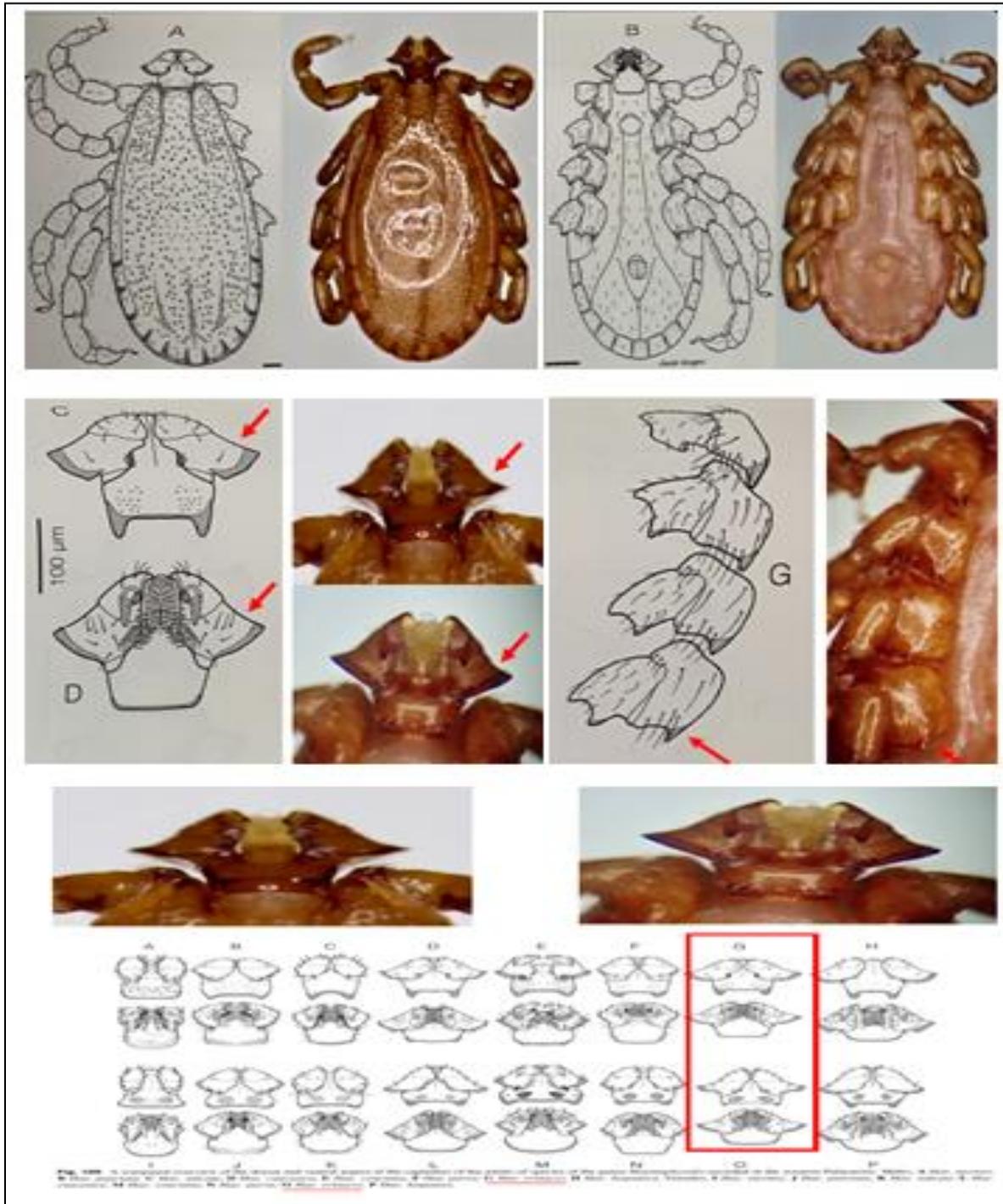


Figure 24. Critères d'identification morphologique des puces *Haemaphysalis erinacei*

Nos résultats de collecte confirment que les hérissons peuvent héberger une grande variété d'ectoparasites à cause de son mode de vie et son régime alimentaire (Földvári et al., 2011), on remarque une Co-infestation tiques –puces chez presque la totalité des hérissons (Tab. 5).

Tableau 5. Répartition des espèces d'ectoparasites collectés

Ectoparasites	Espèces	Nbre	Nbre	Nbre	Nbre
		hérissons morts infestés	hérissons vivants infestés	d'ectoparasites collectés (morts)	d'ectoparasites collectés (vivants)
Puces	<i>A. erinacei</i>	11	2	853 (331♂,522♀)	234 (92♂,142♀)
Tiques	<i>Hae. erinacei</i>	10	0	39 (39♂)	0
	<i>Rh.sanguineus s.l</i>	7	2	151(146♂,5♀)	16 (16♂)
	<i>Rhipiciphalus spp</i>	5	0	28 (28♀)	0

Les résultats d'identification des espèces des puces enregistrent la présence d'une seule espèce qui *Archaeopsylla erinacei* la puce de hérisson (Tab .4), ce qu'il a été déjà rapporté par d'autres études (Gaglio et al., 2010 ; Khaldi et al., 2012 ; Pfäffle et al., 2014; Goz et al., 2016). L'identification des tiques a révélé une dominance de genre *Rhipiciphalus (Rh.sanguineus s.l)* qui est selon Almeida et al., (2017) considérée comme la tique la plus abondante dans le monde grâce à sa large gamme d'habitats et d'hôtes, y compris le bétail, les animaux de compagnie et la faune sauvage ; suivi du genre *Haemaphysalis (Hae.erinacei)* : ses hôtes préférés sont les mammifères terrestres, tels que les hérissons et les carnivores pour les tiques adultes) (Guglielmone et al., 2014) .



a : *Haemaphysalis erinacei* ♂, b: *Rhipicephalus* spp. ♀ c-d: *Rhipicephalus sanguineus.s.l* ♀, ♂

Figure 25. Photos originales des tiques (Gx8)

7.2 Résultats d'identification des arthropodes par MALDI-TOF/ MS

Dans la présente étude, cette technologie a été utilisée comme outil complémentaire pour soutenir l'identification morphologique et moléculaire des arthropodes collectés.

vingt-six (26/853) puces *A. erinacei*, 13/39 *Hae. erinacei*, 51/151 *Rh. sanguineus s.l.* ont été sélectionnés au hasard parmi différents hérissons pour être soumis à une analyse MALDI-TOF MS. De même, afin de déterminer l'espèce des 28 tiques engorgées morphologiquement identifiées au niveau du genre comme *Rhipicephalus* spp., elles ont également été soumises à une analyse MALDI-TOF MS : 24 /26 (92,3 %) puces (*A. erinacei*), 12/13 (92,3 %) tiques (*Hae. erinacei*, 48/51 (94,1 %) *Rh. sanguineus s.l.* et 28 (100%) *Rhipicephalus* spp. gorgées, ont fourni des spectres reproductibles et de hautes qualités au sein de chaque espèce (Fig.26) (Tab.6).

Tableau 6. Résultat d'identification des arthropodes par le MALDI-TOF/MS

Les échantillons testés/I morphologique	Nombre des spécimens avec spectres de Bonne qualité	Nombre des spécimens utilisés pour la mise à jour de database	Nombre des spécimens utilisés pour Blind test	Identification correcte avec Blind test	LSV* obtenus par blind test
26 <i>A.erinacei</i>	24/26 (92.31%)	4	20	20/20 (100%)	1.861 – 2.485 (average: 2.172)
13 <i>Hae.erinacei</i>	12/13 (92.31%)	2	10	10/10 (100%)	1.926 – 2.226 (average: 2.068)
51 <i>Rh.sanguineus s.l</i>	48/51 (94.12%)	3	45	45/45 (100%)	1.415 – 2.362 (average: 1.916)
28 <i>Rhipicephalus spp.</i>	28/28 (100%)	0	28	28/28 (100%)	1.451 – 2.085 (average: 1.856)
118	112/118 (94.91%)	9	103	103/103 (100%)	1.415 – 2.485

(*) LSV : Valeur du score logarithmique

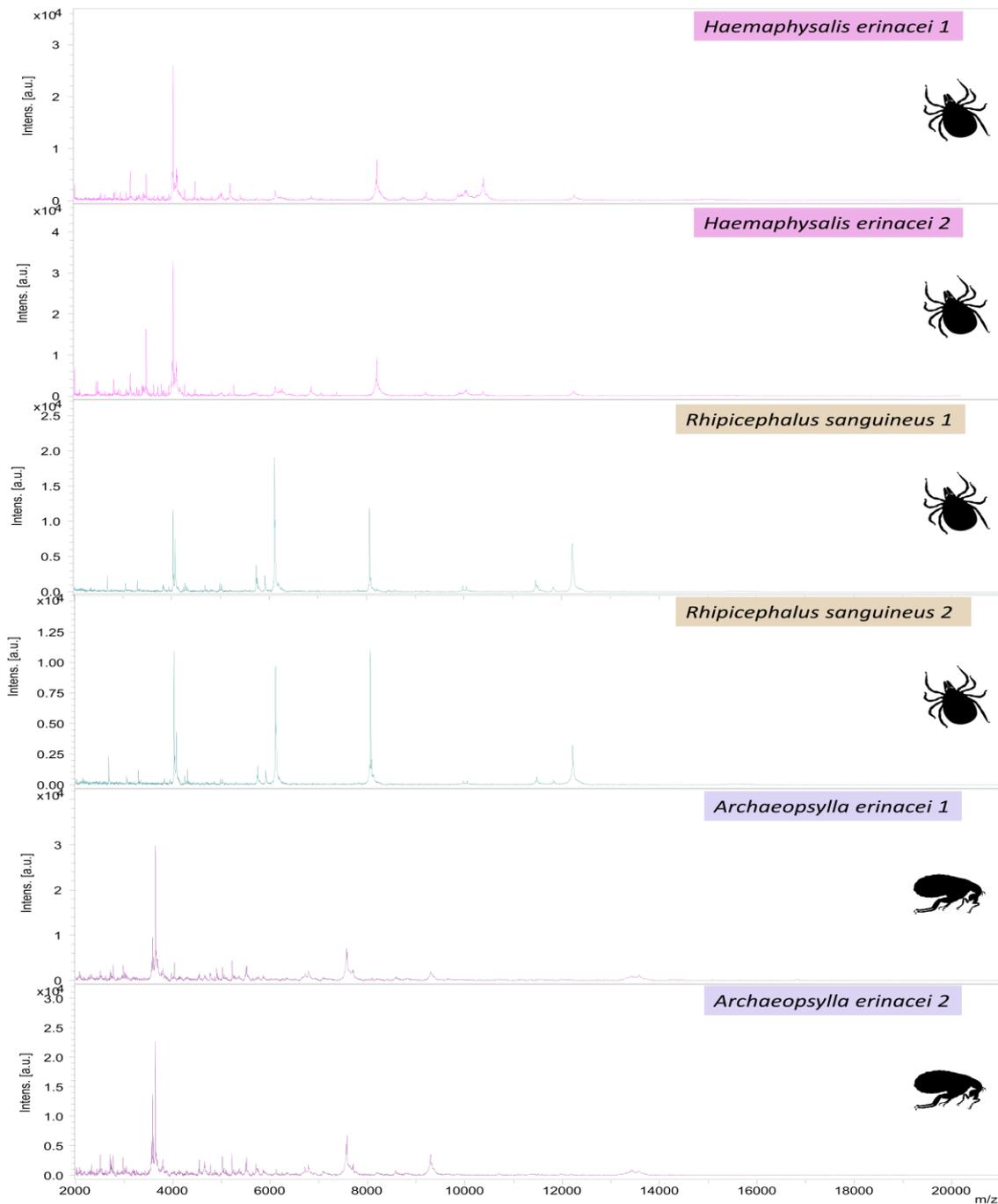


Figure 26. Profils spectraux MALDI-TOF MS de chaque espèce d'arthropodes

7.2.1 Résultat d'identification moléculaire des arthropodes collectés

Afin de confirmer l'identification morphologique des arthropodes, six *Hae. erinacei*, dix *Rh. sanguineus s.l* et vingt-six *A. erinacei* précédemment identifiés morphologiquement ont été sélectionnés au hasard pour être soumis à une identification moléculaire ainsi que les 28 femelles gorgées de *Rhipicephalus* spp., afin de déterminer l'espèce. Des séquences partielles de bonne qualité ont été obtenues pour 100% (16/16) des tiques non engorgées (*Hae. erinacei*

et *Rh. sanguineus s.l.*), 88,5% (23/26) des puces testées, et 75 % (21/28) des tiques engorgées (*Rhipicephalus spp.*).

La comparaison de séquences 16S de *Rh. sanguineus s.l.* non gorgées avec celles qui se trouvent sur la base de données de GenBank (analyse BLAST) a révélé que des identités allant de 99,15 % à 100 % avec *Rh. sanguineus* de référence disponibles dans GenBank (numéros d'accès : MG855662, MH018852, MW172416, JX997393 et KT382469) comprenant des séquences de l'haplotype *Rhipicephalus sanguineus Ila* de la lignée tempérée d'Algérie, de Croatie et de Malte (numéros d'accès : KX793742, KX793735, KX793726 et KX793724) (Sándor Hornok et al., 2017) ,tandis que ceux des tiques engorgées (*Rhipicephalus spp.*) présentaient des identités allant de 97,66 % à 100 % avec les séquences de référence de *Rhipicephalus sanguineus* (numéros d'accès : KX793742, KT382469, MH630344, KT382465, JX997393, MH018852). Parmi ces spécimens gorgés (*Rhipicephalus spp.*), seize avaient des identités avec des séquences de référence de l'haplotype *Rhipicephalus sanguineus Ila* de la lignée tempérée et cinq avaient des similitudes avec des séquences de l'haplotype *Iib* de la même lignée.

Les séquences 16S obtenues pour *Hae. erinacei* avait une couverture de requête (Query cover) allant de 95 % à 100 % et des identités allant de 97,44 % à 97,97 % avec les séquences références 16S de *Hae. erinacei* de GenBank (numéros d'accès : KX901846 et KU880549). Quant aux résultats BLAST des séquences de puces ITS1, ils avaient une identité allant de 99,77% à 100% avec ceux d'*A. erinacei* disponibles dans GenBank (numéros d'accès : LT627362, LT604112 et LT576377(Tab.07)).

Ces résultats moléculaires soutiennent l'identification morphologique et MALDI-TOF/MS précédemment réalisée, les séquences obtenues pour les arthropodes sont dans l'annexe 03, les séquences partielles d'ARN 16S de la tique (*Hae. erinacei* et *Rh. sanguineus s.l.*) et les séquences partielles ITS1 de la puce (*A. erinacei*) ont été déposées dans GenBank et les numéros d'accession sont résumés dans l'annexe 04.

Tableau 7. Résultat d'identification moléculaire des arthropodes

Espèce Selon identification morphologique	Nombre de Spécimens testés	Séquences de Bonne qualité	Résultat du (BLAST)	1er numéro d'accès à la GenBank (ID%)
<i>A. erinacei</i>	26	23/26 (88.46%)	<i>A. erinacei</i>	LT627362 LT604112 LT576377 (99.77%-100%)
<i>Hae. erinacei</i>	6	6/6 (100%)	<i>Hae. erinacei</i>	KX901846 KU880549 (97.44%-97.97%)
<i>Rh. Sanguineus</i>	10	10/10 (100%)	<i>Rh. Sanguineus s.l</i>	MG855662 MH018852 KX793742 MW172416 JX997393 KT382469 (99.15%-100%)
<i>Rhipicephalus</i> spp. (tiques gorgées)	28	21/28 (75%)	<i>Rh. Sanguineus s.l</i>	KT382469 MH630344 KT382465 JX997393 MH018852 (99.66%-100%)
Total	70	60/70 (85.71%)		

7.3 Méthode d'exploitation des résultats par les indices parasitaires

Le taux d'infestation enregistré dans notre étude était de 57.1% (12/21) chez les hérissons morts et 33.3% (2/6) chez les vivants, presque la majorité étaient infestés de tiques et puces. 2/12 (16,67 %) des hérissons étaient parasités uniquement par des tiques, 0/12 (0 %) étaient parasités uniquement par des puces et 10/12 (83,33 %) étaient parasités à la fois par des puces et des tiques.

Onze (91,7%) des douze hérissons parasités étaient co-infestés par au moins 2 espèces d'arthropodes, les infestations mixtes furent une association de l'espèce *Archaeopsylla erinacei* et *Haemaphysalis erinacei* avec l'espèce de tiques *Rhipiciphalus sanguineus .s.l* (Tab.8) .

Les indices parasitaires des arthropodes ont été calculé comme chez l'espèce *Archaeopsylla erinacei* :prévalence(Pr) :11/21×100=52.3%,Intensité moyenne (Im) :853/11=77,4, L'abondance moyenne (Ab) :853/21=40.6.

Tableau 8.Indices parasitaires des puces et des tiques du hérisson

Ectoparasites	Espèces	Prévalence (Pr)	Intensité moyenne (Im)	Abondance (Am)
Puces	<i>Archaeopsylla erinacei</i>	52.3%	77.5	40.6
Tiques	<i>Haemaphysalis erinacei</i>	47.6%	3.9	1.8
	<i>Rhipiciphalus sanguineus.s.l</i>	38.09%	22.3	8.5
	<i>Rhipiciphalus spp</i>	23.8%	5.6	1.3

Ainsi l'espèce prépondérante est bien *Archaeopsylla erinacei* avec 11 hérissons parasités sur 21 soit une prévalence de 52.3%, suivie *Haemaphysalis erinacei* par 47.6%, *Rhipiciphalus sanguineus .s.l* 33.3% et *Rhipiciphalus spp*.23.8%.

L'intensité moyenne la plus élevée est celle d'*Archaeopsylla erinacei* avec 77,5 suivie par *Rhipiciphalus sanguineus* 21.5, *Rhipicephalus spp* 5.6 et enfin *Haemaphysalis erinacei* 3,9.

➤ Le sexe –ratio de la population des puces

Il est calculé comme suit : $Sex-ratio = \frac{\text{nombre de males}}{\text{nombre de femelles}}$

Le sexe-ratio de peuplement des *Archaeopsylla erinacei* est de 0,637, les 1087 puces collectées étaient réparties comme suit 664 femelles (66.01%), 423 mâles (38.9%).

Cette étude a enregistré que le nombre des puces mâles est moins que des femelles, d'après Dudek et al., (2017) le ratio de sexe est en faveur envers les femelles, sous une grande compétition, elles dominent les mâles sur de pauvres hôtes.

7.4 Discussion de projet I

Atelerix algirus est une espèce endémique du Nord de l'Afrique, bien que les hérissons soient connus pour être des hôtes parfaits pour les ectoparasites à cause de leur mode de vie, il existe peu d'informations publiées concernant la population d'ectoparasites qui infestent cette espèce.

Cette étude est menée au centre d'Algérie montre que 12 (57.1%) sur 21 cadavres des hérissons examinés sont parasités d'arthropodes (33.3%) avec 2/6 hérissons vivants, dans une étude similaire des populations des ectoparasites des hérissons morts (*Erinaceus concolor*), principalement des victimes du trafic routier dans la province du Bursa en Turquie, Girisgin et al., (2015) reportent un taux d'infestation supérieur à le notre 11/19 hérissons (57.8%), ils ont détecté un total de 3 espèces de tiques *Rh sanguineus*, *Hyalomma aegyptium*, *Haemaphysalis parva* et une espèce de puce *Archaeopsylla erinacei*.

Nous remarquons que le hérisson *Atelerix algirus* est un animal richement parasité, vu le nombre élevé des puces est de 1087 et celui des tiques 234 cela peut s'expliquer par les caractéristiques des régions échantillonnées qui sont favorables au développement des ectoparasites: un climat modéré, une forte ruralité, un réseau hydrographique important et une présence de divers animaux sauvages et domestiques, on remarque aussi une co-infestation tiques –puces chez presque la totalité des hérissons échantillonnés ;ce qui confirme les résultats des Girisgin et al., (2015), ces taux élevés des arthropodes collectés pourraient s'expliquer aussi par rapport aux cycles biologiques des arthropodes car les tiques sont des parasites obligatoires tout au long leur cycle de vie, ils ont besoin de d'un repas sanguin pour chaque stade de développement.

Les résultats d'identification des espèces des puces enregistrent la présence d'une seule espèce qui est *Archaeopsylla erinacei* la puce d'hérisson (Tab.4), ce qu'il a été déjà cité dans d'autres études précédentes chez d'autres espèces des hérissons en Allemagne (Visser et

al., 2001), en Grande Britain (Gaglio et al., 2010), en Hongrie (Földvári et al., 2011) , la république de Tchèque ,(Pfäffle et al., 2014),en Iran (Hajipour et al., 2015) .

En grand Maghreb, peu d'études de l'ectoparasitisme chez l'espèce *A. algirus* existent, ceux qui ont été réalisées révèlent que cette espèce héberge un cocktail d'ectoparasites (puces et tiques) ;en Libye ,Hosni & El Maghrbi (2014),annoncent un taux d'infestation *Atelexis algirus* 55.7% qui est inférieur à ce lui trouvé dans cette étude ,ils ont cité que cet hérisson est infesté de deux espèce de puces *Xenopsylla cheopis* et *Ctenocephalides .canis* et une seule espèce de tique *Rhipicephaleus appendiculatus* .

D'après Dudek et al., (2017) , le ratio de sexe est en faveur envers les femelles, aussi elles dominant les mâles sur de pauvres hôtes. Cependant pour les tiques, ces études ont enregistré que la présence de 02 espèces *Rh. sanguineus* , *I. hexagonus*.

Nos résultats vont dans le même sens et confirment les résultats des 3 études précédentes effectuées sur le même model biologique (*Atelexis algirus*),malgré la différence géographique et climatique de ces dernières études y compris la notre : dominance de l'espèce *A. erinacei* suivis de genre *Rhipicephalus*,sauf qu'on signale que l'identification morphologique révèle aussi la présence de l'espèce *Haemaphysalis erinacei*.

Pour confirmer l'identification morphologique des ectoparasites d'*Atelexis algirus*, nous avons utilisé l'analyse MADI-TOF/MS comme une technique qui est devenue un outil efficace et rapide pour l'identification des arthropodes au cours des dernières années.

Les puces sont de petits insectes; ainsi, ils sont difficiles à identifier pour la raison que les critères morphologiques pour identifier et distinguer les espèces sont parfois très subtils et difficiles à observer même pour les personnes ayant des compétences entomologiques. Leur identification nécessite souvent un éclaircissement de KOH suivi d'un montage dans un milieu entre lame et lamelle afin de rendre les critères morphologiques plus visibles. Cette méthode de montage rend l'échantillon inutilisable pour une analyse ultérieure. Par conséquent, il ne peut pas être appliqué sur tous les spécimens. Par conséquent, MALDI-TOF MS et les méthodes moléculaires aident à l'identification sans ambiguïté des espèces.

Notre analyse MALDI-TOF/MS a montré d'excellents résultats en termes de productibilité et de la qualité des spectres, nous avons été en mesure d'identifier avec succès toutes les puces 20/26 comme *A. erinacei* qui correspond à 100% de l'identification précédente, 100% de concordance pour les espèces des (*Rh. Sanguineus.s.l*)comme l'espèce correspondante

existait déjà dans la base de données ; en outre, nous avons également été en mesure de compléter la base de données MALDI-TOF/MS avec une autre espèce de tique (*Haemaphysalis erinacei*).

Les spécimens d'arthropodes sélectionnés ont tous été identifiés au niveau de l'espèce à l'aide de cet outil innovant. Cependant, les valeurs des scores logarithmiques obtenues pour quelques spécimens étaient faibles (<1,7). Ceci peut s'expliquer par le fait que nos échantillons ont été conservés dans l'alcool pendant plus de trois ans, et il a été démontré que cette méthode de conservation altère la composition protéique des échantillons (Benyahia et al., 2021).

7.5 Conclusion de Projet I

L'objectif de cette étude était d'investiguer la charge des ectoparasites chez la population du hérisson Algérien (*Atelerix algirus*) de la wilaya de Bouira, le nombre d'ectoparasites sélectionnés pour confirmer leur identification a été choisi au hasard, en tenant compte de la diversité potentielle des espèces et du nombre de spécimens.

Dans l'ensemble, dans cette étude, nous avons utilisé trois méthodes différentes pour l'identification des arthropodes (morphologie, biologie moléculaire et MALDI-TOF MS) et les résultats d'identification étaient concordants pour ces trois méthodes; les hérissons échantillonnés ont été infestés par une seule espèce de puces (*Archaeopsylla erinacei*) et deux espèces de tiques (*Haemaphysalis erinacei*, *Rhipicephalus sanguineus s.l.*) avec prédominance des puces. Le pourcentage de Co-infestation était élevé 91.7% ,les hérissons sont Co- infestés par au moins 2 espèces d'arthropodes, par conséquent, *Atelerix algirus* peut jouer un rôle dans la dissémination des populations des puces et des tiques dans la faune sauvage (Annexe 07).

8 Résultats de projet II : Détection des microorganismes pathogènes chez *A. algirus*

8.1 Résultats de détection moléculaire et d'analyse phylogénétique

8.1.1 *Coxiella burnetii*

45 échantillons, dont onze (52,4%) reins, six (30%) rates, quinze (46,9%) *Hae. erinacei*, neuf (11,5%) *Rh. sanguineus s.l.* et quatre (3,4 %) *A. erinacei* prélevés sur 15 hérissons étaient

positifs en qPCR pour *Coxiella burnetii*, ciblant les deux gènes (IS1111 et IS30A). Cependant, chez les échantillons de sang des hérissons vivant, 3/6 étaient positifs pour *C. burnetii*.

Neuf hérissons n'avaient que des organes positifs (un hérisson n'avait qu'une rate positive, 5 hérissons n'avaient que les reins positifs et 4 avaient les deux organes positifs (rate et reins), trois hérissons avaient seuls les arthropodes collectés étaient positifs pour *coxiella burnetii* et trois autres pour lesquels les arthropodes et les organes étaient positifs (1 avait les deux organes et *Rh. sanguineus* positifs, 1 avait les deux organes, *A. erinacei* et *Hae. erinacei* positifs et 1 avait des reins, *A. erinacei* et *Rh. sanguineus* positifs).

8.1.2 *Leptospira* spp.

Dix échantillons (7 reins, 1 rate et 2 tiques *Rh. sanguineus s.l.*) étaient positifs pour qPCR *Leptospira* spp. Ces échantillons positifs appartenaient à 9 hérissons, parmi eux 8 pour lesquels seuls les organes testés positifs (uniquement une rate était positive et 7 avaient le rein positif uniquement) et 1 pour lequel seul la tique (*Rh. sanguineus s.l.*) a été testée positive.

Toutes les puces testées étaient négatives. Les dix échantillons positifs ont ensuite été soumis à une amplification PCR conventionnelle (PCR standard) d'un fragment de 592 paires de bases de *Leptospira* spp. gène *rpoB*. Seuls 3 reins étaient positifs, et des séquences de bonne qualité ont été obtenues pour deux d'entre eux. Les résultats de l'analyse BLAST ont montré 100% de similarité de nos séquences avec *Leptospira interrogans* détectés chez un humain en provenance de Chine (numéro d'accès : CP044513).

L'analyse phylogénétique utilisant des séquences de référence publiées a seulement révélé que nos séquences se sont regroupées avec le groupe de séquences de référence de *Leptospira interrogans* (Fig.27), confirmant leur identification en tant que *Leptospira interrogans*.

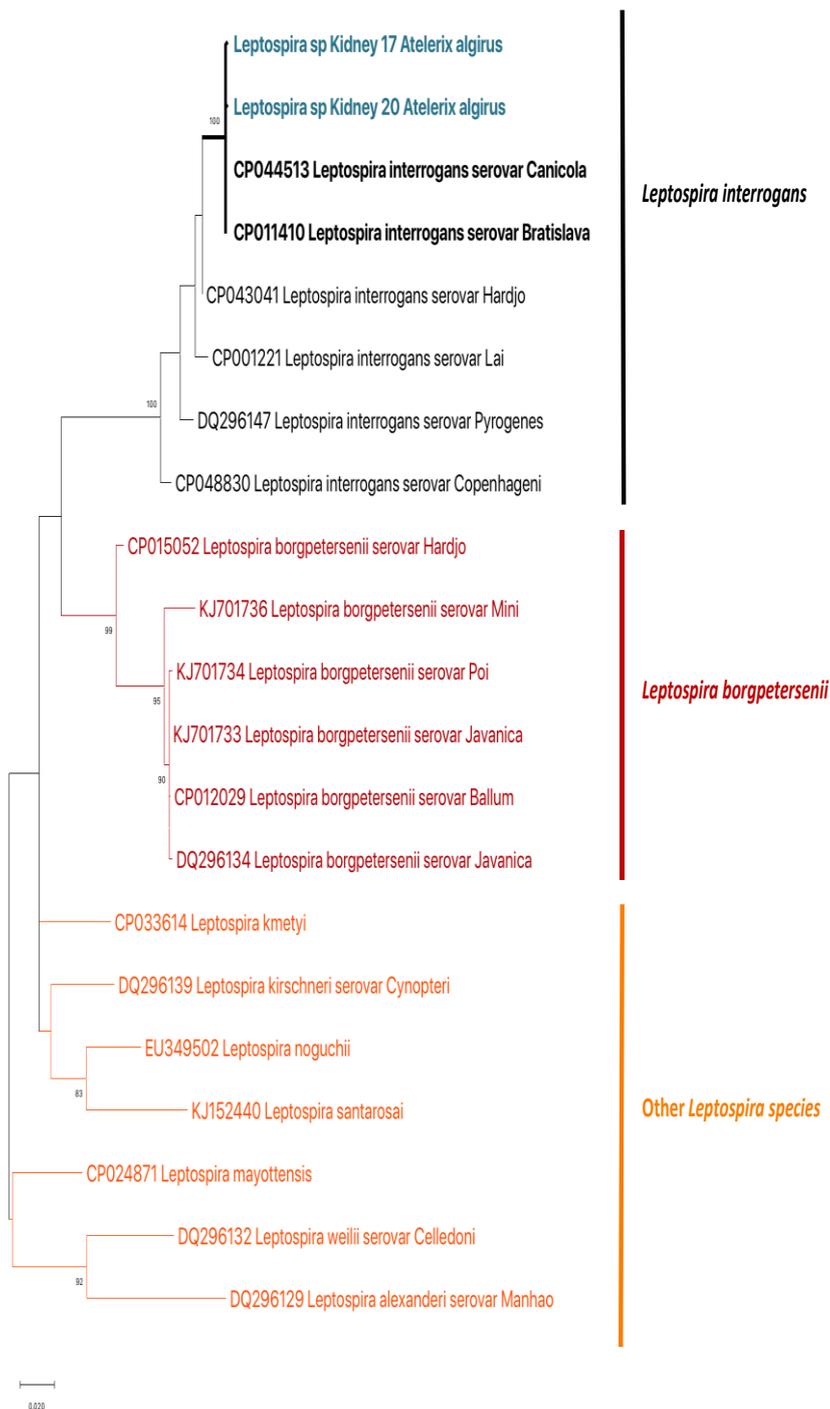


Figure 27. Arbre phylogénétique de *Leptospira* spp.

basé sur le gène partiel rpoB déduit à l'aide de la méthode du maximum de vraisemblance (ML) sous le modèle Kimura à 2 paramètres (K2) + G. Le support de la topologie a été examiné en utilisant le bootstrap (Felsenstein, 1985) sur 200 réplifications. Les valeurs de bootstrap inférieures à 60 % ne sont pas affichées.

8.1.3 *Rickettsia* spp.

Un total de 166 arthropodes (87 *A. erinacei*, 56 *Rh. sanguineus s.l.*, 21 *Hae. erinacei* et 2 *Rhipicephalus* spp. gorgés) prélevés sur douze hérissons étaient positifs pour *Rickettsia* spp. par qPCR. Cependant, tous les organes testés (reins et rate) et sang étaient négatifs.

Après une qPCR spécifique, 68/87 (78,2 %) des *Rickettsia* spp. trouvés dans les puces *A. erinacei* ont été confirmés être *Rickettsia felis*. Ces puces ont été récoltées sur 10/21 hérissons.

qPCR positives pour *Rickettsia* spp et étaient négatives pour *R. felis* ont été soumises à une qPCR spécifique à *R. typhi* et étaient toutes négatives. Trente-huit *Rh. sanguineus s.l.* et deux tiques engorgées (*Rhipicephalus* spp.) prélevées sur 7/21 hérissons, étaient positives pour *R. massiliae* par une qPCR spécifique, et toutes étaient négatives pour *R. conorii*. Tous positifs *Hae. erinacei* a été testé négatif pour *R. aeschlimannii*.

Les 58 échantillons positifs pour lesquels l'espèce *Rickettsia* n'a pas été confirmée par qPCR spécifique (19 *A. erinacei*, 18 *Rh. sanguineus sl* et 21 *Hae. erinacei*) ont été soumis à une PCR conventionnelle et à un séquençage ciblant un fragment de 630 paires de bases du gène *ompA* pour *Rickettsia* spp. Seuls six échantillons étaient positifs (1 *Rh. sanguineus s.l.* d'un hérisson et 5 *Hae. erinacei* de 4 autres hérissons) et des séquences de bonne qualité ont été obtenues pour 2/6 échantillons (2 *Hae. erinacei*).

L'analyse BLAST a indiqué que les deux séquences obtenues étaient identiques et présentaient une similitude de 100 % avec une *Rickettsia* spp. non cultivée. (Numéro d'accès: MG228270) précédemment détecté chez les tiques *Dermacentor nuttalli* de Chine. L'analyse phylogénétique n'a pas fourni d'informations supplémentaires sur l'identification de cette espèce de *Rickettsia*, car elle se regroupait avec d'autres *Rickettsia* spp. (Fig.28).

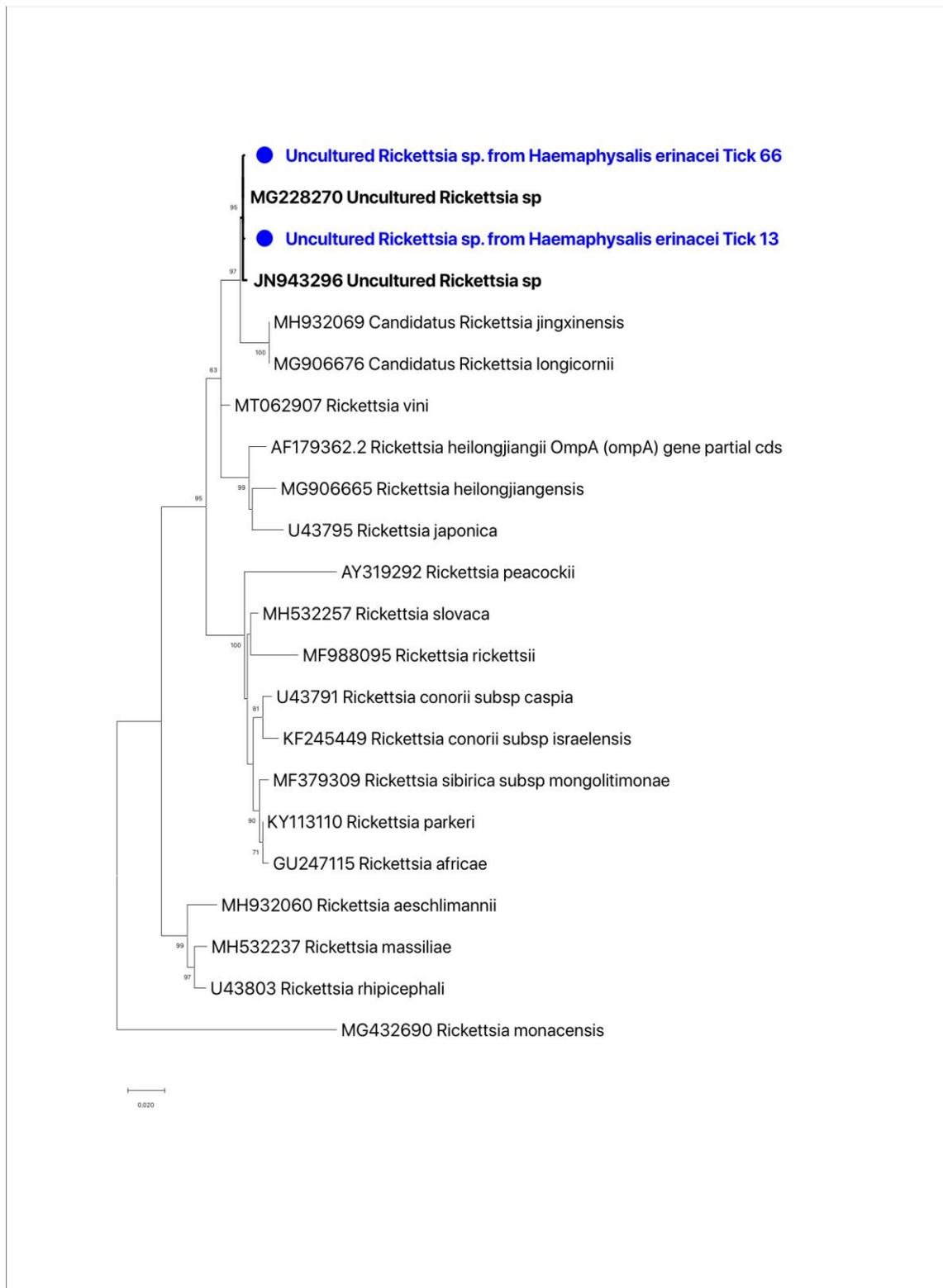


Figure 28. Arbre phylogénétique de *Rickettsia* spp.

basé sur le gène partiel *gltA* déduit à l'aide de la méthode du maximum de vraisemblance (ML) sous le modèle Tamura à 3 paramètres (T92) + G. Le support de la topologie a été examiné en utilisant le bootstrap (Felsenstein, 1985) sur 200 répliquions. Les valeurs de bootstrap inférieures à 60 % ne sont pas affichées.

8.1.4 *Bartonella* spp.

Bartonella spp. a été détectée dans 8/298 (2,7 %) échantillons testés (2/20 (10 %) rate et 6/119 (5,04 %) puces (*A. erinacei*) provenant de 7/21 (33,3 %) hérissons différents. Tous les échantillons de reins, de sang et de tiques ont été testés négatifs.

Ces échantillons positifs à la qPCR ont ensuite été soumis à une PCR conventionnelle, amplifiant un fragment de 200 paires de bases du gène *gltA* de *Bartonella* spp. quatre échantillons ont été amplifiés avec succès et deux séquences de bonne qualité ont été obtenues (1 d'une rate et 1 d'une puce *A. erinacei*).

Les résultats de l'analyse BLAST ont indiqué une identité de 98,02 % avec une *Bartonella* spp. non cultivée, précédemment détectée dans un pika du plateau (*Ochotona curzoniae*) de Chine (numéro d'accès : MN056885) pour les deux séquences obtenues à partir de la rate et d'*A. erinacei*.

Étant donné les faibles pourcentages d'identité obtenus pour le gène *gltA*, un fragment de 333 paires de bases du gène *ftsZ* a également été amplifié et séquencé pour les échantillons positifs en qPCR. Quatre séquences (*A. erinacei* de 4 hérissons) ont été obtenues.

Analyse de BLAST des séquences indiquées pour l'ensemble d'entre elles couverture de requête à 98 % et identité à 97,22 % avec la référence *Bartonella clarridgeiae* isolée de chats en France (numéro d'accès : FN645454).

Les résultats du séquençage basés sur deux gènes ainsi que l'analyse phylogénétique du gène *ftsZ* suggèrent que la *Bartonella* détectée dans cette rate et ces puces *A. erinacei* est potentiellement une nouvelle espèce (Fig.29).

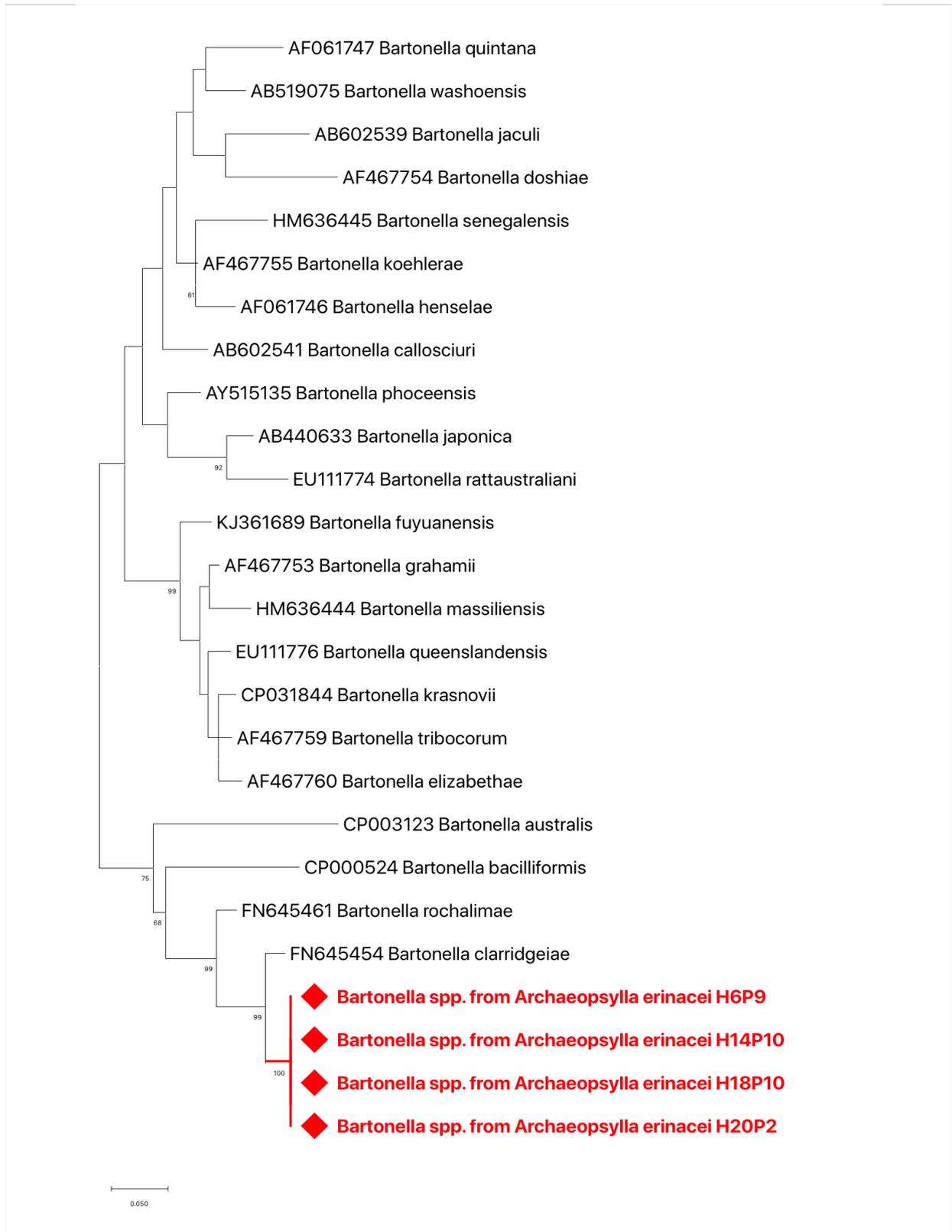


Figure 29. Arbre phylogénétique de *Bartonella* spp.

basé sur le gène partiel *ftsZ* déduit à l'aide de la méthode du maximum de vraisemblance (ML) sous le modèle Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) +G+I. Le support de la topologie a été examiné en utilisant le bootstrap (Felsenstein, 1985) sur 200 répliquations. Les valeurs de bootstrap inférieures à 60 % ne sont pas affichées

8.1.5 *Anaplasmataceae*

Un total de 7 organes prélevés sur 6 hérissons (4 avaient une rate positive seulement, 1 avait un rein positif seulement et 1 avait les deux organes positifs), 7/138 tiques (4 *Hae. erinacei* prélevées sur 2 hérissons et 3 *Rh. sanguineus* prélevées sur 2 autres hérissons) et 62/119 puces *A. erinacei* prélevées sur 9 hérissons étaient positives en qPCR ciblant le gène *Anaplasmataceae 23S*. Tous les spécimens de sang étaient négatifs.

Toutes puces (62/62) positives pour les bactéries *Anaplasmataceae* étaient positives pour *Wolbachia* spp. par qPCR et toutes les tiques étaient négatives. Tous les organes et tiques positifs pour qPCR *Anaplasmataceae 23S* et 42 échantillons de puces sélectionnés au hasard positifs pour *Wolbachia* spp. Les qPCR ont été soumises à une PCR conventionnelle et à un séquençage ciblant le gène *Anaplasmataceae 23S* amplifiant un fragment de 485 paires de bases. Tous les organes testés (7/7) étaient négatifs.

Des séquences du gène 23S de bonne qualité ont été obtenues pour 37/42 puces *Wolbachia* qPCR-positives et étaient toutes identiques. L'analyse BLAST de ces séquences a révélé des identités de 99,56 % avec *Wolbachia pipientis* (numéro d'accès : CP037426) et *Wolbachia* endosymbiont de différents arthropodes, y compris *Drosophila simulans* et *Drosophila melanogaster* (numéros d'accès : CP003884 et AE017196).

L'analyse phylogénétique a révélé que nos séquences de *Wolbachia* détectées chez les puces sont situées dans le clade *Wolbachia* « A » et semblent appartenir à ce clade (Fig.30).

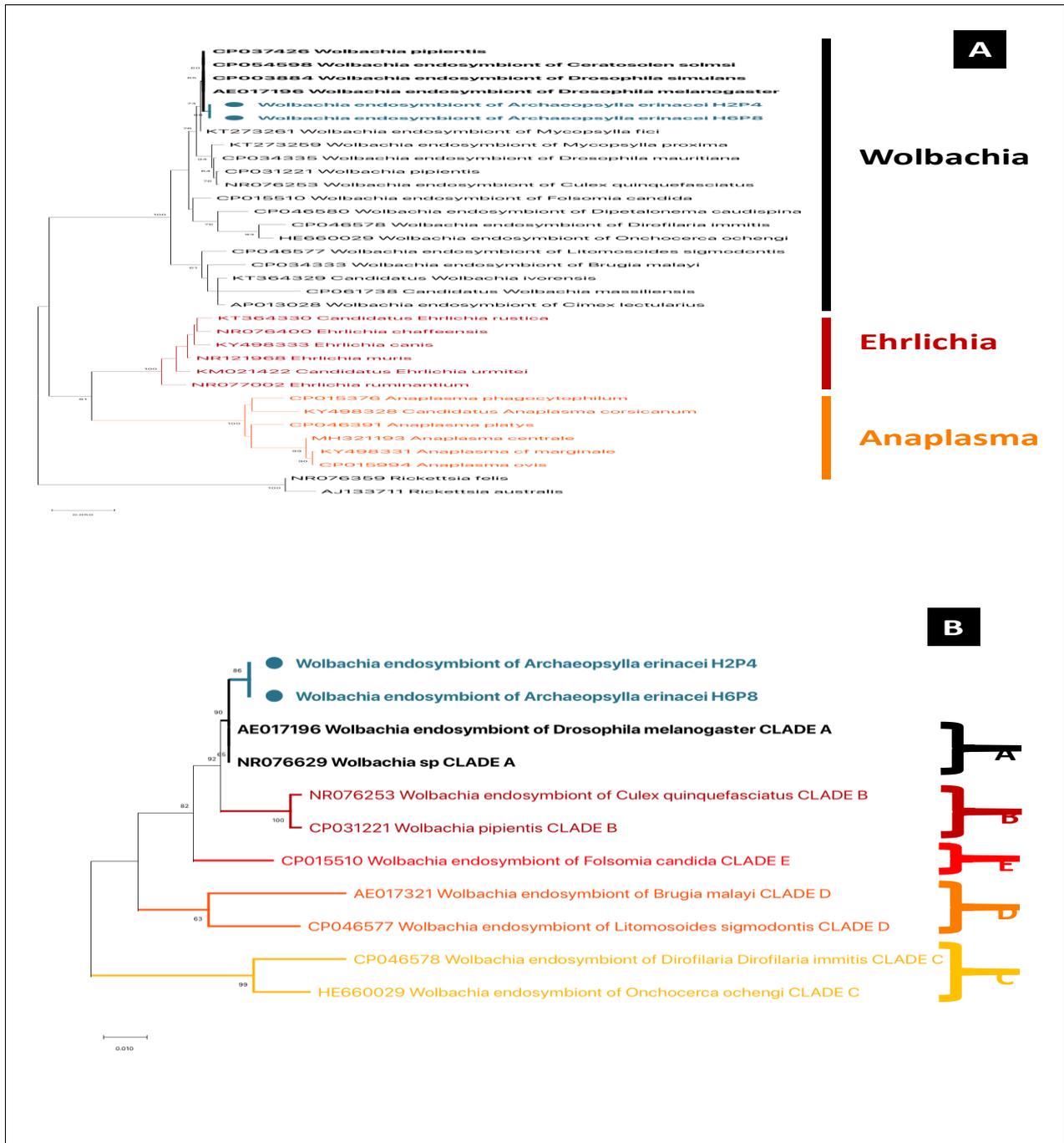


Figure 30. Arbre phylogénétique de *Wolbachia* spp.

A) basé sur le gène partiel d'Anaplasmataceae 23S déduit à l'aide de la méthode du maximum de vraisemblance (ML) sous le modèle Tamura à 3 paramètres (T92) + G.

B) Arbre phylogénétique basé sur le gène partiel *Anaplasmataceae* 23S représentant les clades de *Wolbachia* déduits en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance (ML) sous le modèle Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) +G. Les clade F et H ne sont pas représentés. Le support de la topologie a été examiné en utilisant le bootstrap (Felsenstein, 1985) sur 200 répliquions. Les valeurs de bootstrap inférieures à 60 % ne sont pas affichées.

L'ADN de cinq tiques a été amplifié avec succès (3 *Hae. erinacei* et 2 *Rh. sanguineus s.l.*) et 4 séquences de bonne qualité ont été obtenues (3 *Hae. erinacei* et 1 *Rh. sanguineus s.l.*).

Les résultats de BLAST ont révélé une identité de 96,65 % à 96,66 % des séquences obtenues avec *Ehrlichia spp* détecté chez *Rhipicephalus complanatus* et *Haemaphysalis muhsami* prélevés sur des porcs en République démocratique du Congo (numéros d'accès : MK942592, MK942591 et MK942590).

En utilisant des amorces amplifiant un fragment de 590 paires de bases d'*Ehrlichia spp.* groEL, trois séquences de bonne qualité ont été obtenues (2 *Hae. erinacei* et 1 *Rh. sanguineus s.l.*). Les résultats de BLAST ont révélé une identité de 94,89 % à 95,08 % avec *Ehrlichia spp* détecté chez *Haemaphysalis concinna* en provenance de Russie (numéro d'accès : JX092091).

Les arbres phylogénétiques (Fig.31) ont montré pour les deux gènes séquencés que nos séquences d' *Ehrlichia spp.* regroupées séparément des autres espèces d'*Ehrlichia*, suggérant ainsi qu'elles appartiennent probablement à une nouvelle espèce potentielle d'*Ehrlichia*.

Tous les échantillons testés étaient négatifs pour *Borrelia spp.* fragment de gène ITS4 ciblé dans l'analyse qPCR , en plus les 6 échantillons de sang des hérissons vivants étaient négatifs pour tous les agents pathogènes dépistés . Les résultats de détection de micro-organismes sont résumés dans le (Annexe 08).

Les séquences consensus obtenues pour les différents micro-organismes détectés chez les hérissons et leurs arthropodes associés ont été déposées dans la base de données GenBank et tous les numéros d'accession sont détaillés dans un tableau dans Annexe 08.



Figure 31. Arbre phylogénétique d'*Ehrlichia* spp.

A) basé sur le gène partiel d'*Anaplasmataceae 23S* déduit à l'aide de la méthode du maximum de vraisemblance (ML) sous le modèle Tamura à 3 paramètres (T92) + G.

B) Arbre phylogénétique basé sur le gène partiel *Ehrlichia groEL* déduit en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance (ML) sous le modèle Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) + G. Le support de la topologie a été examiné en utilisant le bootstrap (Felsenstein, 1985) sur 200 répliques. Les valeurs de bootstrap inférieures à 60 % ne sont pas affichées.

8.2 Discussion de projet II

Dans cette étude menée dans une région du centre-Nord de l'Algérie, l'ADN de divers micro-organismes, dont *C. burnetii*, *L. interrogans*, *Leptospira* spp., *R. felis*, *R. massiliae*, *Rickettsia* spp., *Wolbachia* spp., bactéries *Anaplasmataceae* et de nouvelles souches potentielles de *Bartonella* et d'*Ehrlichia* ont été détectées dans les organes de hérisson et/ou leurs tiques et puces. Au cours des dernières décennies, le développement de nouvelles technologies, dont des outils moléculaires tels que la réaction en chaîne par polymérase (PCR) et le séquençage, a permis des progrès considérables dans l'étude des maladies infectieuses et dans l'identification de leurs réservoirs. Dans cette étude, ces méthodes nous ont permis d'utiliser des contrôles négatifs et positifs appropriés pour identifier différents micro-organismes infectant les hérissons et leurs ectoparasites.

Le hérisson d'Afrique du Nord (*A. algirus*) est une espèce endémique dans les pays et îles du bassin méditerranéen, notamment en Afrique du Nord (Algérie, Tunisie, Maroc et Libye) et en Europe du Sud (Espagne et France) (Amori et al., 2008). En Algérie, ces petits mammifères sont inscrits sur la liste des espèces protégées (décret présidentiel n°06-405 du 22 Chaoual 1427, correspondant à la ratification le 14 novembre 2006 du protocole relatif aux aires spécialement protégées et à la diversité organique en Méditerranée, signé en Barcelone le 10 juin 1995). Même s'ils ont été suggérés comme un réservoir potentiel de diverses maladies zoonotiques, ils restent relativement peu étudiés (Riley & Chomel, 2005).

Dans cette étude, 57,1% (12/21) des hérissons étaient infestés d'ectoparasites. Ce taux d'infestation est similaire à celui rapporté dans une étude sur des hérissons morts (*Erinaceus concolor*) de Turquie (Girisgin et al., 2015), mais inférieur à celui rapporté dans une région du Nord-est de l'Algérie (M'sila) avec la même espèce de hérisson capturée vivante (Khaldi et al., 2012).

Cette grande différence dans le taux d'infestation (57,1%) pourrait s'expliquer par le fait que dans notre étude, les hérissons ont été retrouvés morts, et on sait que lorsque la température corporelle baisse, les arthropodes ont tendance à se détacher pour chercher un nouvel hôte. Néanmoins, deux des hérissons ramassés à Ahl-El-Ksar étaient fortement infestés de puces avec 500 et 236 spécimens collectés respectivement sur un hérisson du village de Thiliwa et un autre de Thigmit, les puces et les tiques prélevées sur les hérissons ont été morphologiquement, identifiées comme *A. erinacei*, *Rh. sanguineus s.l.* et *Hae. Erinacei*

(Annexe 7). Cette identification a été confirmée par le biais de la biologie moléculaire et MALDI-TOF/MS.

À l'aide d'outils moléculaires, l'ADN de toutes les bactéries testées - à l'exception de *Borrelia* spp. a été détecté dans les organes des hérissons et/ou leurs arthropodes, indiquant ainsi que les hérissons pourraient être des réservoirs importants de divers agents zoonotiques. Fait intéressant, 2 hérissons et/ou leurs ectoparasites ont été co-infectés avec 8 micro-organismes différents en même temps, et 17 ont été co-infectés avec au moins 2 micro-organismes (Annexe 07).

Coxiella burnetii, l'agent étiologique de la fièvre Q, est une bactérie gram-négative intracellulaire obligatoire. Cette maladie zoonotique négligée peut affecter les animaux sauvages et domestiques ainsi que les humains. Cette bactérie se propage par voie aérosol et par contact avec des animaux infectés ou leurs produits.

Des études ont été menées dans multiples pays pour étudier sa propagation chez les différents animaux, il a été démontré sa présence chez les animaux sauvages tels que : les angulés, les girafes, les mangoustes, les cerfs, les rongeurs (Ruiz-Fons et al., 2008) ; ainsi que chez les ruminants (Cumbassá et al., 2015). D'autres études ont montré que *C. burnetii* peut infecter différentes espèces d'arthropodes, principalement les tiques mais aussi les puces (*Xenopsylla cheopis* et *Ctenocephalides felis*) (Loftis et al., 2006 ; Psaroulaki et al., 2014 ; Devaux et al., 2020).

Une étude sérologique a rapporté la présence d'anticorps contre *Coxiella burnetii* chez des hérissons européens d'Autriche (Sixl et al., 1989), et il a été récemment rapporté chez les hérissons *Erinaceus amurensis* et leurs tiques *Haemaphysalis flava* de Chine (Gong et al., 2020; Fang et al., 2021).

Dans cette étude, nous rapportons la présence de *C. burnetii* pour la première fois chez les hérissons *A. algirus* et leurs puces *A. erinacei* et les tiques *Hae. erinacei* en Algérie. Fait intéressant, dans ce travail, *Coxiella burnetii* a été détectée à la fois dans les organes du hérisson et dans toutes leurs espèces d'arthropodes associées (*A. erinacei*, *Rh. sanguineus s.l.* et *Hae. erinacei*), suggérant que ces arthropodes pourraient être potentiellement impliqués dans le cycle de vie de cette bactérie. Cependant, cette hypothèse ne peut être confirmée, d'autant plus qu'il ne s'agit pas du mode habituel de transmission de la maladie, même s'il a déjà été suggéré dans une étude précédente que des espèces de tiques pourraient faciliter la

transmission de *Coxiella burnetii* (Bellabidi et al., 2020). De plus, il ne peut être confirmé si cette bactérie est associée à *A. erinacei* ou si ces puces ont été infectées en se nourrissant d'un hérisson bactériémique ou en co-alimentant avec des tiques infectées (une transmission horizontale de l'ectoparasite à son hôte ou vice versa). Des études expérimentales sont nécessaires pour clarifier cela.

La leptospirose est une zoonose très répandue affectant les humains et les animaux domestiques et sauvages, causée par une bactérie spirochète aérobie obligatoire appartenant au genre *Leptospira*. La contamination humaine se produit le plus souvent soit après un contact direct avec l'urine d'animaux infectés, soit indirectement par l'intermédiaire de l'eau ou du sol contaminés. (Adler & de la Peña Moctezuma, 2010).

Dans la présente étude, *Leptospira* spp. a été détecté dans les tiques (*Rh. sanguineus s.l.*) et dans les reins et la rate des hérissons. L'analyse BLAST des séquences obtenues à partir de reins de hérisson a révélé qu'elles étaient similaires aux séquences de référence de deux espèces différentes. En effet, ils ont le même pourcentage d'identité avec plusieurs séquences de référence de *Leptospira interrogans* et deux séquences de *Leptospira borgpetersenii*. Cependant, une analyse phylogénétique basée sur le gène *rpoB* (Annexe 11) utilisant uniquement des séquences de référence publiées a montré que nos séquences se regroupaient au sein du groupe *Leptospira interrogans*. Par conséquent, l'identification de nos séquences a été validée en tant que *Leptospira interrogans*.

En Algérie, il existe peu d'études sur la leptospirose, et la prévalence de cette maladie est encore inconnue. Néanmoins, cette bactérie a été détectée dans l'environnement ainsi que chez l'homme et certains animaux, notamment les chiens, les chats et les bovins (Donatien et al., 1951 ; Donatien, Gayot, & Poul, 1951 ; Mailloux, 1962 ; Mailloux, 1963 ; Mountain, 2010 ; Aubry et al., 1975 ; Afiri, Amara Khorba, et al., 2013 ; Afiri, Toudeft, et al., 2013 ; Derdour et al., 2017 ; Zaidi et al., 2018).

Des études précédentes ont déjà signalé la présence des *Leptospira interrogans* chez des hérissons de Chine, mais aussi de différents pays du bassin méditerranéen, dont la France et l'Italie (Ma et al., 2020). *Leptospira* spp. a été détecté chez *Ixodes ricinus* de Pologne (Wójcik-Fatla et al., 2012) et en *Rh. sanguineus s.l.* collectés sur des chiens en RDP lao (Nguyen et al., 2020).

Cependant, à notre connaissance, cette bactérie n'a jamais été signalée, ni chez les hérissons (*A. algirus*) ni chez les tiques *Rh. sanguineus* d'Algérie. Nos résultats suggèrent que les hérissons et leurs tiques pourraient potentiellement être considérés comme une source de *Leptospira* spp. en Algérie. Les humains et les animaux domestiques pourraient facilement être infectés en manipulant des hérissons infectés. Néanmoins, il n'y a aucune preuve de la capacité de la tique à transmettre cette bactérie.

Les Rickettsies sont de petites bactéries Gram-négatives intracellulaires obligatoires appartenant à la famille des *Rickettsiaceae* et à l'ordre des Rickettsiales. Les rickettsioses sont des maladies émergentes ou ré-émergentes. Les principaux vecteurs sont les arthropodes hématophages (Eldin & Parola, 2020), les humains sont considérés comme des hôtes accidentels (Renvoisé et al., 2009). Au moins 11 espèces de *Rickettsia* ont été détectées chez les arthropodes d'Algérie (Kernif et al., 2012).

Rickettsia felis est un agent causal du groupe émergent de fièvre boutonneuse rickettsiose (Angelakis et al., 2016), cette bactérie a été associée à de nombreuses espèces de puces. La puce du chat (*Ctenocephalides felis*) est un vecteur reconnu. Les moustiques se sont révélés être des vecteurs compétents en laboratoire, tandis que certaines espèces de poux des livres se sont révélées être naturellement infectées (Angelakis et al., 2016 ;Dieme et al., 2015).

Dans cette étude, *R. felis* a été détecté dans des puces *A. erinacei* prélevées sur *A. algirus*. Ces résultats soutiennent la présence de cet agent de la fièvre pourprée transmise par les puces chez les puces algériennes, dont *A. erinacei*.(Greigert et al., 2020)

Rickettsia massiliae est également un agent causal de la rickettsiose du groupe de la fièvre pourprée chez l'homme. Le réservoir n'a pas encore été clairement identifié, mais cette bactérie est transmise par *Rh. sanguineus s.l.* (Brouqui et al., 2007). Dans cette étude, *R. massiliae* a été détecté dans *Rh. sanguineus s.l.* confirmant sa présence chez les tiques algériennes. Cet agent rickettsien est couramment associé aux tiques et a déjà été détecté dans *Rh. sanguineus s.l.* prélevé sur des hérissons en Algérie (Bitam et al., 2006 ; Khaldi et al., 2012) et dans d'autres pays (Vitale et al., 2006).

Dans la présente étude, une *Rickettsia* spp. a été détecté dans 2 *Hae. erinacei*. Cette *Rickettsia* spp. était similaire à celle trouvée chez *Dermacentor nuttalli* de Chine (travail non publié) ; et proche des séquences (potentiel nouveau *Rickettsia* spp.) trouvées chez tiques (*Hae. erinacei* et *Rh. sanguineus s.l.*) prélevées sur des hérissons *A. algirus* signalés dans une autre étude en

Algérie (Khaldi et al., 2012). Tous les organes des hérissons ont été testés négatifs pour *Rickettsia* spp. par qPCR. En conséquence, cette *Rickettsia* spp. non cultivée semble être associée uniquement aux tiques, et il n'y a aucune preuve d'une transmission potentielle aux hérissons ou que ces hérissons pourraient être des réservoirs.

Certaines qPCR des puces positives pour *Rickettsia* spp. (gène *gltA*) étaient négatifs à la qPCR spécifique de *R. felis* et *R. typhi* ainsi qu'à la PCR conventionnelle ciblant le gène *ompA* (contenu dans Spotted Fever Group *Rickettsia*). Ainsi, ces échantillons n'ont pas été identifiés au niveau de l'espèce. Néanmoins, dans une étude précédente, l'organisme *Rickettsia felis*-Like a été détecté dans des puces *A. erinacei* échantillonnées sur des hérissons mais n'a pas été amplifié par les amorces habituelles ciblant le gène *ompA* en raison des variations de ce gène dans les souches de *Rickettsia felis*. (Gilles et al., 2009).

Par conséquent, compte tenu de l'étude citée ainsi que de nos résultats PCR, ces *Rickettsia* spp. détectés dans les puces semblent être des organismes semblables à *Rickettsia felis*-like. Le séquençage d'autres gènes est nécessaire pour la confirmation.

Les bartonelloses sont des maladies émergentes et ré-émergentes dans le monde entier caractérisées par une bactériémie intra-érythrocytaire et causées par des bactéries intracellulaires fastidieuses appartenant au genre *Bartonella*. Les arthropodes hématophages tels que les phlébotomes, les poux et les puces sont considérés comme des vecteurs. Divers mammifères ainsi que les humains ont été signalés comme des réservoirs d'espèces de *Bartonella* (Halos et al., 2004 ; Pathogenicity and Treatment of *Bartonella* Infections, 2014).

Plusieurs études ont rapporté différentes espèces de *Bartonella* chez les hérissons. Dans les zones urbaines et suburbaines de la république Tchèque, *Bartonella washoensis* et *B. melophagi* ont été détectés chez des hérissons *Erinaceus europaeus* (Majerová et al., 2021). L'agent causal de la maladie des griffes du chat chez l'homme *B. henselae* et une *Bartonella* spp. phylogénétiquement proches de *B. taylorii* ont été détectés respectivement dans une puce *A. erinacei* et dans des échantillons de muscles et de peau collectés sur des hérissons à poitrine blanche du Nord *Erinaceus roumanicus* de Budapest, Hongrie. (Hornok et al., 2014 ; Szekeres et al., 2019).

En Algérie, différentes espèces de *Bartonella* ont déjà été signalées, dont *B. tribocorum* chez les hérissons *A. algirus* (Bitam et al., 2009), *B. elizabethae* chez les hérissons et leurs puces *A. erinacei* et *B. clarridgeiae* chez les puces *A. erinacei* prélevées sur des hérissons (Bitam et

al., 2009 ; 2012). Dans cette étude, nous avons trouvé *Bartonella* spp. ADN dans les rates de hérisson ainsi que dans leurs puces associées (*A. erinace*). Celle détectée dans les puces pourrait être potentiellement une nouvelle espèce de *Bartonella*, phylogénétiquement proche de *B. clarridgeiae*.

D'autres études à travers le monde ont signalé la présence de nouvelles espèces potentielles de *Bartonella* chez les hérissons. En Italie, un nouveau clone de *Bartonella* spp. a été signalé dans des échantillons de rate de 2 hérissons européens *E. europaeus* de la région de la Basilicate (province de Matera) (Greco et al., 2021). Ce clone présentait une proximité phylogénétique avec *B. clarridgeiae*. dans une étude menée en Israël, l'ADN d'une *Bartonella* spp. a été détecté dans un échantillon de sang d'un hérisson à poitrine blanche *E. concolor*. La séquence obtenue pour cette *Bartonella* spp. était différent de toutes les espèces connues. Cependant, dans l'analyse phylogénétique, il s'est regroupé dans le même clade avec *B. clarridgeiae* et *B. rochalimae* (Marciano et al., 2016).

Une nouvelle espèce potentielle *Bartonella* spp. *ERIN* phylogénétiquement proche de *B. clarridgeiae* a également été signalée chez 2 espèces de hérissons de la république Tchèque (*E. europaeus* et *E. roumanicus*) et une autre espèce (*Bartonella* spp. *SCIER*) a été détectée chez la même espèce de hérisson susmentionnée (Majerová et al., 2021). Les séquences obtenues dans ces études n'ont pas pu être comparées à celles que nous avons obtenues pour la raison qu'elles provenaient soit d'un gène différent, soit parce que les amorces utilisées ciblent différents fragments du même gène.

Les bactéries appartenant à la famille des *Anaplasmataceae* sont à l'origine de maladies zoonotiques émergentes et endémiques qui ont un grand impact principalement sur la santé publique vétérinaire, comme *Anaplasma* spp. et *Ehrlichia* spp. (Parola et al., 2005). Ce sont des bactéries intracellulaires obligatoires transmises principalement par les arthropodes. Il comprend également *Wolbachia* spp. bactéries, qui sont connues comme un endosymbiote de nombreux arthropodes (Pruneau et al., 2014).

Dans notre étude, l'ADN de la famille des bactéries *Anaplasmataceae* a été détecté dans les organes de hérisson et leurs ectoparasites par qPCR. Tous les positifs des qPCR d'organes étaient négatifs en PCR standard ; ainsi, l'espèce bactérienne n'a pas pu être confirmée. Ceux détectés dans les puces ont tous été confirmés par qPCR et séquençage comme étant *Wolbachia* spp. Ces bactéries peuvent être transmises par voie trans-ovarienne et trans-stadiale à travers des générations d'invertébrés (Landmann, 2019), et cela pourrait expliquer le

nombre important de puces positives. Plusieurs études ont détecté la présence de *Wolbachia* spp. dans différentes espèces de puces (Onder et al., 2019) ; y compris les puces *A. erinacei* collectées sur des hérissons *E. europaeus* d'Espagne (Zurita et al., 2021).

Cependant, à notre connaissance, cette étude représente le premier signalement de cette bactérie endosymbiote chez les puces *A. erinacei* d'Algérie. De plus, nos résultats mettent en évidence la présence d'une nouvelle espèce potentielle d'*Ehrlichia* détectée dans les tiques *Rh. sanguineus s.l.* et *Hae. Erinacei*. Des études précédentes ont rapporté la présence d'*Ehrlichia* spp. dans *Hae. erinacei* prélevé sur des chèvres en Iran (Bekloo et al., 2017). *Ehrlichia ewingii* a été détecté chez des tiques *Haemaphysalis flava* prélevées sur des hérissons de Chine (Fang et al., 2021). En Algérie, des études ont signalé *Ehrlichia* spp. chez différents hôtes animaux, y compris les chiens (Dahmani et al., 2015 ;Azzag et al., 2015),et chez les tiques (Sadeddine et al., 2020).Cependant, à notre connaissance, cette étude représente le premier signalement d'*Ehrlichia* spp. chez les hérissons et les tiques *Hae. erinacei* dans notre pays.

Certains qPCR des échantillons positifs pour *Leptospira* spp., *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp. et *Anaplasmataceae* n'ont pas été identifiés au niveau de l'espèce soit parce qu'ils n'ont pas été amplifiés avec succès par PCR conventionnelle, soit parce que la qualité des séquences obtenues était trop mauvaise pour être utilisée pour des analyses ultérieures. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la PCR en temps réel peut être plus sensible que la PCR conventionnelle (Kidd et al., 2008).

8.3 Conclusion de projet II

L'intérêt principal de ce travail était de détecter les microorganismes pathogènes présents chez la population du hérisson Algérien (*Atelerix algirus*) de la wilaya de Bouira ainsi que ces ectoparasites associés, nous avons utilisé des méthodes de biologie moléculaire :qPCR, PCR standard ou conventionnelle, séquençage et l'analyse phylogénétique afin de dépister et identifier ces germes pathogènes.

Dans cette étude, nous rapportons pour la première fois en Algérie, la présence de :

- ✓ *Coxiella burnetii* dans les organes d'*Atelerix algirus* et ses ectoparasites, puces (*A.erinacei*) et tiques (*Hae.erinacei*)
- ✓ *Leptospira* spp. dans les organes *Atelerix algirus* et ses tiques (*Rh.sanguineus*)
- ✓ *Rickettsia felis* chez les puces de hérisson (*A.erinacei*)

- ✓ *Ehrlichia* spp. chez les hérissons *A.algirus* et ses tiques (*Hae.erinacei*)
- ✓ *Wolbachia* spp.chez les puces de hérisson d'Algérie (*A.erinacei*)

Notre travail met en évidence la présence potentielle d'une nouvelle espèce de *Bartonella* spp. détectée dans les puces de hérisson (*Archaeopsylla erinacei*), et une autre nouvelle espèce d'*Ehrlichia* spp. détectée dans les organes et/ ou leurs tiques et puces.

La présence de ces divers agents pathogènes chez les *Atelerix algirus* et ses arthropodes hématophages associés mettant en évidence leur rôle de réservoirs potentiels pour diverses maladies infectieuses.

Conclusion et perspectives

9 CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Les hérissons sont de petits mammifères sauvages. C'est une espèce synanthropique qui est connue pour être très fortement infestée des ectoparasites, sont aussi des réservoirs potentiels de divers agents zoonotiques ; d'où vient leur grande importance dans le domaine médical et vétérinaire.

Les recherches récentes ont démontré la présence de divers agents pathogènes chez les hérissons et leurs arthropodes hématophages associés mettant en évidence leur rôle de réservoirs potentiels pour diverses maladies infectieuses, dont certaines à transmission vectorielle. Malgré cela, leur implication dans les problèmes de santé publique a été rarement étudiée. En effet, on sait peu de choses sur le rôle des hérissons dans la transmission de ces maladies infectieuses à l'homme, même si ces dernières années, ils sont devenus populaires comme animaux de compagnie et sont également consommés comme repas traditionnel par certaines populations.

De plus, les diverses interventions de l'homme dans la nature, telles que l'agriculture intensive, la déforestation et l'urbanisation, entraînent la perturbation et la dégradation des terriers et des écosystèmes des hérissons.

Cela les amène à se réfugier dans les jardins, à la recherche de nourriture et d'abris, vivant par conséquent à proximité des humains et les exposants à un risque accru de transmission de divers agents zoonotiques.

En Algérie, les études menées sur les hérissons se sont concentrées sur son régime trophique et son écosystème, d'où vient ce modeste travail qui répond sur une importante question : Peut *Atelerix algirus* jouer un rôle dans la transmission des maladies vectorielles dans son environnement ? La présente étude a été menée à Bouira, une région du centre-Nord de l'Algérie, elle vise à évaluer le risque de la transmission des maladies zoonotiques vers l'homme par le biais des hérissons d'Algérie (*Atelerix algirus*) ; où nous avons scindé notre thèse en deux volets : une étude entomologique et épidémiologique .

Dans un premier volet, nous avons contribué par étude entomologique à l'étude de la population des ectoparasites chez les hérissons d'Algérie *Atelerix algirus*, morts (cadavres : accidentés et/ou empoisonnés) et vivants. Différentes méthodes innovantes ont été utilisées afin d'identifier les espèces d'arthropodes infestant *A.algirus* ; une identification morphologique, une identification protéomique par MALDI TOF/MS, et une identification moléculaire. Les populations des hérissons examinés étaient infestées *Archaeopsylla erinacei* (puce de hérisson) et des tiques principalement les *Rhipicephalus sanguineus s.l.*, *Haemaphysalis erinacei* (tiques de hérisson).

Dans un deuxième volet, une étude épidémiologique dédiée à la recherche des agents pathogènes où nous avons procédé à une détection moléculaire d'une grande gamme d'agents pathogènes en utilisant des échantillons d'organes, sang et ectoparasites (tiques et puces). Nos résultats confirment la présence de plusieurs micro-organismes associés aux hérissons et à leurs ectoparasites en Algérie.

La présente étude enregistre pour la première fois en Algérie, la présence de l'agent Q fever *Coxiella burnetii* dans les organes d'*Atelerix algirus* et ses ectoparasites, puces (*A.erinacei*) et tiques (*Hae.erinacei*), de plus, on rapporte la détection de *Leptospira* spp. dans les organes *Atelerix algirus* et ses tiques (*Rh.sanguineus*) ; *Rickettsia felis* (responsable de SPF) chez les puces de hérisson (*A.erinacei*) ; *Ehrlichia* spp. chez les hérissons *A.algirus* et ses tiques (*Hae.erinacei*), et *Wolbachia* spp. chez les puces de hérisson d'Algérie (*A.erinacei*). Par ailleurs, nous avons déposé soixante cinq séquences dans le GenBank.

Notre travail met en évidence la présence potentielle d'une nouvelle espèce de *Bartonella* spp. détectée dans les puces de hérisson (*Archaeopsylla erinacei*), et une autre nouvelle espèce d'*Ehrlichia* spp. détectée dans les organes et/ ou leurs tiques et puces.

Dans cette section, nous proposons quelques perspectives ou recommandations afin d'enrichir nos découvertes :

- ✓ Pour les deux nouvelles espèces découvertes dans ce travail (*Bartonella* spp. & *Ehrlichia* spp.), nous suggérons une étude très approfondie visant à isoler, cultiver, caractériser les propriétés bactériologiques et nommer ces deux micro-organismes.
- ✓ Études expérimentales pour confirmer la transmission horizontale de *Coxiella burnetii* par les ectoparasites de hérisson (*Archaeopsylla erinacei*) à son hôte.

- ✓ Études visant à confirmer la capacité des tiques *Rh.sanguineus .s.l* à transmettre la bactérie *Leptospira* spp. à son hôte ainsi d'étudier ses mécanismes de transmission.
- ✓ Études consacrées à confirmer la présence des *Rickettsia felis -like*, chez les hérissons d'Algérie.

Sur la base de ces conclusions, les chercheurs, épidémiologistes et les praticiens de santé publique devraient envisager une étude sur l'autre espèce de hérisson qui colonise le Sud d'Algérie (*Paraechinus aethiopicus*) pour mieux comprendre le rôle épidémiologique de ce petit mammifère dans les zones du sud Algérien.

Les enquêtes épidémiologiques font défaut en Algérie et en Afrique du Nord. Des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre le rôle des hérissons et de leurs arthropodes hématophages dans la transmission des maladies zoonotiques à l'homme et leur impact sur la santé publique.

Nous mettons l'accent sur l'importance que ce genre de recherches peut attribuer dans le domaine de la santé publique Algérienne, et nous recommandons de les soutenir et les diffuser pour couvrir et inclure d'autres modèles animaux dans différentes wilayas du territoire national ; en particulier les animaux qui vivent à proximité de l'homme; afin d'évaluer le risque de transmission zoonotique via le système vectoriel.

Ces futures études offriront un aperçu de la situation épidémiologique en Algérie et aideront les autorités à prédire toute future épidémie, ainsi qu'à gagner du temps pour intervenir rapidement et correctement pour contenir toute catastrophe sanitaire.

Références bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abadia, G., & Picu, C. (2005). Zoonoses d'origine professionnelle Occupational zoonosis. *EMC-Toxicologie Pathologie*, 2, 163–177. <https://doi.org/10.1016/j.emctp.2005.07.002>
- Adler, B., & de la Peña Moctezuma, A. (2010). *Leptospira and leptospirosis*. 140(3–4), 287–296. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19345023/>
- Afiri, M., Amara Khorba, A., & Ait Kaid, D. (2013). [Renal manifestations of leptospirosis: 88 cases]. *Médecine et Santé Tropicales*, 23(2), 234–235. <https://doi.org/10.1684/mst.2013.0204>
- Afiri, M., Toudeft, F., & Ait, K. D. (2013). [Leptospirosis epidemic: 48 cases]. *Médecine et Santé Tropicales*, 23(2), 234. <https://doi.org/10.1684/mst.2013.0203>
- Almeida, C., Simões, R., Coimbra-Dores, M., Rosa, F., & Dias, D. (2017). Mitochondrial DNA analysis of *Rhipicephalus sanguineus* s.l. from the western Iberian peninsula. *Medical and Veterinary Entomology*, 31(2), 167–177. <https://doi.org/10.1111/MVE.12222>
- Alsahli, Y. (n.d.). *Desert hedgehog | Project Noah*. Retrieved August 15, 2021, from <https://www.projectnoah.org/spottings/9828804>
- Amori, G., Hutterer, R., Kryštufek, B., Yigit, N., Mitsainas, G., & Palomo, L. (2008). *Atelerix algirus* (North African Hedgehog). <https://www.iucnredlist.org/species/27926/197498795#text-fields>
- Angelakis, E., Mediannikov, O., Parola, P., & Raoult, D. (2016). Rickettsia felis: The Complex Journey of an Emergent Human Pathogen. *Trends in Parasitology*, 32(7), 554–564. <https://doi.org/10.1016/J.PT.2016.04.009>
- Pathogenicity and treatment of Bartonella infections, 44 International Journal of Antimicrobial Agents 16 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.04.006>
- Anonymous. (n.d.). *Tique - Wikiwand*. Retrieved October 14, 2022, from <https://www.wikiwand.com/fr/Tique>
- Anonymous. (2013). *Présentation de la wilaya*. <http://www.dsp-bouira.dz/index.php/fr/presentation-de-la-wilaya-3>
- Aouadi, N., Mensah Tonyi, R., Abbas, S., Bitam, I., & Arab, K. (2021). Contribution to the Monitoring of Leptospira in Wild Animals (Hedgehog of Bouira District). *Acta Scientifci Nutritional Health*, 5(5), 36–42. <https://doi.org/10.31080/ASNH.2020.05.0861>
- Arolaa, P. P., Avoustb, B. D., Aoulta, D. R., Parola, P., Davoust, B., & Raoult, D. (2005). Review article Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. *Veterinary Research*, 36(3), 469–492. <https://doi.org/10.1051/vetres>
- Aubry-Roces, M. C., Yannick, B., Cocquelin, A., Farret, D., Claude, F., Huang, M., Laurence, L., Pauline, P., & Jacqueline, R. (2001). *Lutte contre les Ectoparasites et Agents Nuisibles en milieu hospitalier Guide de bonnes pratiques Lutte contre les Ectoparasites et Agents Nuisibles en milieu hospitalier Guide de bonnes pratiques*.
- Aubry, p, Bordahandy, R., Ferah, T., Mailloux, M., & Thomas, J. (1975). An anademy of ictero-hemorrhagic leptospirosis in a military group in Algeria (author's transl]. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* . , 68(4), 370–376. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1243751/>
- Azzag, N., Petit, E., Gandoin, C., Bouillin, C., Ghalmi, F., Haddad, N., & Boulouis, H. (2015). Prevalence of select vector-borne pathogens in stray and client-owned dogs from Algiers. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 38, 1–7. <https://doi.org/10.1016/J.CIMID.2015.01.001>
- Beaucournu, J.-C., & Launay, H. (1990a). *Les puces (Siphonaptera): de France et du Bassin méditerranéen occidental*. Fédération française des sociétés de sciences naturelles-Paris.
- Beaucournu, J.-C., & Launay, H. (1990b). *Les puces (Siphonaptera) de France et du Bassin méditerranéen occidental - Beaucournu, Jean-Claude, Launay, Henri - Livres* (Federation Franc,ai...). Faune De France . <https://www.amazon.fr/Siphonaptera-France-Bassin-méditerranéen-occidental/dp/2903052107>
- Beaucournu, J., & Gomez-lopez, M. S. (2015). Ordre Siphonaptera. *Revisita Ibero Diversidada Entomological*, 61 B, 1–10. ISSN 2386-7183 1%5Cnwww.sea-entomologia.org/IDE@
- Becir, F., Chetoui, M., Bitam, I., & Bouzlama, Z. (2015). *Atelerix Algirus Ectoparasites of El-Kala*

- National Park (Algeria). *6th International Conference on Environmental Science and Technology*, 84, 147–151.
- Beck, W. (2007). Endoparasiten beim Igel. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 119(3), 40–44. <https://doi.org/10.1007/S00508-007-0860-X>
- Beichel, E., Petney, T., Hassler, D., Brückner, M., & Maiwald, M. (1996). Tick infestation patterns and prevalence of *Borrelia burgdorferi* in ticks collected at a veterinary clinic in Germany. *Veterinary Parasitology*, 65(1–2), 147–155. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(96\)00943-0](https://doi.org/10.1016/0304-4017(96)00943-0)
- Bekloo, A. J., Bakhshi, H., Soufizadeh, A., Sedaghat, M. M., Bekloo, R. J., Ramzgouyan, M. R., Chegeni, A. H., Faghihi, F., & Telmadarraiy, Z. (2017). Ticks circulate *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Babesia* and *Theileria* parasites in North of Iran. *Veterinary Parasitology*, 21–24.
- Bellabidi, M., Benaissa, M., Bissati-Bouafia, S., Harrat, Z., Brahmi, K., & Kernif, T. (2020). *Coxiella burnetii* in camels (*Camelus dromedarius*) from Algeria: Seroprevalence, molecular characterization, and ticks (Acari: Ixodidae) vectors. *Acta Tropica*, 206, 105443–105443. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2020.105443>
- Bengougam, R. (2009). *Ecologie trophique du hérisson d'Algérie Atelerix algirus Lereboullet 1842 (Mammalia: Insectivora) dans le marais de Reghaia*. ENSA Elharrach -Alger.
- Benyahia, H., Ouarti, B., Diarra, A., Boucheikhchoukh, M., Meguini, M., Behidji, M., Benakhla, A., Parola, P., & Almeras, L. (2021). Identification of Lice Stored in Alcohol Using MALDI-TOF MS. *Journal of Medical Entomology*, 58(3), 1126–1133. <https://doi.org/10.1093/JME/TJAA266>
- Bermond, D., Heller, R., Barrat, F., Delacour, G., Dehio, C., Alliot, A., Monteil, H., Chomel, B., Boulouis, H., & Piémont, Y. (2000). *Bartonella birtlesii* sp. nov., isolated from small mammals (*Apodemus* spp.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50 Pt 6(6), 1973–1979. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-6-1973>
- Bharti, A. R., Nally, J. E., Ricaldi, J. N., Matthias, M. A., Diaz, M. M., Lovett, M. A., Levett, P. N., Gilman, R. H., Willig, M. R., Gotuzzo, E., & Vinetz, J. M. (2003). Leptospirosis: A zoonotic disease of global importance. In *Lancet Infectious Diseases* (Vol. 3, Issue 12, pp. 757–771). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(03\)00830-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(03)00830-2)
- Bierque, E., Thibeaux, R., Girault, D., Soupé-Gilbert, M. E., & Goarant, C. (2020). A systematic review of *Leptospira* in water and soil environments. *PLoS ONE*, 15(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227055>
- Bilong-Bilong, C. F., & Njiné, T. (1998). Dynamique de populations de trois monogènes parasites d'*Hemichromis fasciatus* (Peters) dans le lac municipal de Yaoundé et intérêt possible en pisciculture intensive. *Sci. Nat. et Vie*, 34, 295–303. <https://doi.org/10.4314/scinat.v6i1.48578>
- BIRTLES, R. J. (2005). Bartonellae as Elegant Hemotropic Parasites. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1063(1), 270–279. <https://doi.org/10.1196/ANNALS.1355.044>
- Bitam, I., Rolain, J. M., Kernif, T., Baziz, B., Parola, P., & Raoult, D. (2009). *Bartonella* species detected in rodents and hedgehogs from Algeria. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(SUPPL. 2), 102–103. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02180.x>
- Bitam, I., Parola, P., Matsumoto, K., Rolain, J., Baziz, B., Boubidi, S., Harrat, Z., Belkaid, M., & Raoult, D. (2006). First Molecular Detection of *R. conorii*, *R. aeschlimannii*, and *R. massiliae* in Ticks from Algeria. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 372(33), 368–372. <https://doi.org/10.1196/annals.1374.073>
- Bitam, Idir. (2012). Vectors of rickettsiae in Africa. In *Ticks and Tick-borne Diseases*. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.10.011>
- Bitam, Idir, Dittmar, K., Parola, P., Whiting, M. F., & Raoult, D. (2010a). International Journal of Infectious Diseases Fleas and flea-borne diseases. *International Journal of Infectious Diseases*, 14(8), e667–e676. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2009.11.011>
- Bitam, Idir, Dittmar, K., Parola, P., Whiting, M. F., & Raoult, D. (2010b). Fleas and flea-borne diseases. *International Journal of Infectious Diseases*, 14(8), e667–e676. <https://doi.org/10.1016/J.IJID.2009.11.011>
- Bitam, Idir, Marc, J., Nicolas, V., Tsai, Y., Parola, P., Gundi, V. A. K. B., Chomel, B. B., & Raoult, D. (2012). Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases A multi-gene analysis of diversity of *Bartonella* detected in fleas from Algeria. “*Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*,” 35(1), 71–76.

- <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.11.002>
- Bitam, Idir, Parola, P., De La Cruz, K. D., Matsumoto, K., Baziz, B., Rolain, J. M., Belkaid, M., & Raoult, D. (2006). First molecular detection of *Rickettsia felis* in fleas from Algeria. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2006.74.532>
- Bouattour, A. (2002). Clé dichotomique et identification des tiques (Acari : Ixodidae) parasites du Bétail au Maghreb. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 79(1-4), 43-50. <https://hal-riip.archives-ouvertes.fr/pasteur-02043570>
- Boyer, P. H., Almeras, L., Plantard, O., Grillon, A., Talagrand-Reboul, É., McCoy, K., Jaulhac, B., & Boulanger, N. (2019). Identification of closely related Ixodes species by protein profiling with MALDI-TOF mass spectrometry. *PLoS ONE*, 14(10). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0223735>
- Breitschwerdt, E. (2014). Bartonellosis: one health perspectives for an emerging infectious disease. *ILAR Journal*, 55(1), 46-58. <https://doi.org/10.1093/ILAR/ILU015>
- Breitschwerdt, E. B., & Kordick, D. L. (2000). *Bartonella Infection in Animals : Carriership , Reservoir Potential , Pathogenicity , and Zoonotic Potential for Human Infection*. 13(3), 428-438.
- Breitschwerdt, E., Sontakke, S., Cannedy, A., Hancock, S., & Bradley, J. (2001). Infection with *Bartonella weissii* and detection of *Nanobacterium* antigens in a North Carolina beef herd. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(3), 879-882. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.3.879-882.2001>
- BRENNER, D. J., O'CONNOR, S. P., WINKLER, H. H., & STEIGERWALT, A. G. (1993). 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. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 43(4), 777-786. <https://doi.org/10.1099/00207713-43-4-777>
- BRETAGNOLLE, V., & ATTIE, C. (1989). Variabilité morphologique dans une population de hérissons de l'ouest de la France. 53(1), 85-96. <https://doi.org/10.1515/MAMM.1989.53.1.85>
- Brouqui, p, Bacellar, f, Baranton, g, Birtles, rj, Bjoërsdorff, a, Blanco, jr, Caruso, g, Cinco, m, Fournier, pe, Francavilla, e, Jensenius, m, Kazar, j, Laferl, h, Lakos, a, Lotric Furlan, s, Maurin, m, Oteo, ja, Parola, p, Perez-Eid, c, ... undefined. (2004). Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 10(12), 1108-1132. <https://doi.org/10.1111/J.1469-0691.2004.01019.X>
- Brouqui, P. (1998). L'ehrlichiose humaine. Une maladie infectieuse émergente. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 28(4), 349-353. [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(98\)70220-3](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(98)70220-3)
- Brouqui, Philippe, Parola, P., Fournier, P. E., & Raoult, D. (2007). Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 49(1), 2-12. <https://doi.org/10.1111/J.1574-695X.2006.00138.X>
- Bunnell, T., Hanisch, K., Hardege, J., & Breithaupt, T. (2011). The fecal odor of sick hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) mediates olfactory attraction of the tick *Ixodes hexagonus*. *Journal of Chemical Ecology*, 37(4), 340-347. <https://doi.org/10.1007/S10886-011-9936-1>
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., & Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, 83(4), 575-583. <https://doi.org/10.2307/3284227>
- Bussieras, J., & Chermette, R. (1991). *Livre: Abrégé de parasitologie vétérinaire, Jean Bussieras, René Chermette, Ecole nationale vétérinaire, service de parasitologie, 9782900793008 - Leslibraires.fr*. Ecole nationale vétérinaire, service de parasitologie.
- Camicas, J.-L., Hervy, J. P., Adam, F., & Morel, P. C. (1998). *The Ticks of the World (Acarida, Ixodida): Nomenclature, Described Stages, Hosts, Distribution (Including New Species Described before 1/01/96)* (Vol. 93, Issue 2). Orstom Éditions.
- Camicas, J., & Morel, P. C. (1977). Position systématique et classification des tiques (Acarida : Ixodida)- fdi:08711- Horizon. *Acarologia*, 18(3), 410-420. <https://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:08711>

- Casati, S. (2005). *Etude sur la diversité génétique des tiques Rhipicephalus sanguineus et Ixodes ricinus, et des agents pathogènes Rickettsia sp, Coxiella sp, Borrelia burgdorferi sensu lato, Babesia sp et le virus de l'encéphalite à tique en Suisse*. Université de Neuchâtel.
- Chapman, A., Bakken, js, Folk, sm, Paddock, cd, Bloch, kc, Krusell, a, & Sexton, dj. (2006). Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky mountain spotted fever and other spotted fever group rickettsioses, ehrlichioses, and anaplasmosis - United States a practical guide for health care and public health professionals. *MMWR Recommendations and Reports*, 55, 27. <https://doi.org/10.15585/MMWR.RR6502A1>
- Charlesworth, S. (1991). *Public Health and Medical Entomology | Purdue | Biology | Entomology | Insects | Ticks | Diseases | Monitoring | Control | Hot Topics | Agriculture | Extension*. Purdue University, Based in Part on Elbel, R.E., IN: Immature Insects, Volume 2. <https://extension.entm.purdue.edu/publichealth/print/insects/flea.html>
- Cho, Y., Su, H., Wu, W., Wu, D., Hou, M., Kuo, C., & Shiea, J. (2015). Biomarker Characterization by MALDI-TOF/MS. *Advances in Clinical Chemistry*, 69, 209–254. <https://doi.org/10.1016/BS.ACC.2015.01.001>
- Chomel, B. B., Belotto, A., & Meslin, F. (2007). *Wildlife, Exotic Pets, and Emerging*. 13(1).
- Chomel, B. B., Kasten, R. W., Sykes, J. E., Boulouis, H.-J., Breitschwerdt, E. B., 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. *NYASA*, 990(1), 267–278. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.2003.TB07376.X>
- Chomel, B. B., Riley, P. Y., & Chomel, B. B. (2005). Hedgehog zoonoses. *Emerging Infectious Diseases*, 11(1), 1–5. <https://doi.org/10.3201/eid1101.040752>
- Chomel, B., Boulouis, H., & Breitschwerdt, E. (2004). Cat scratch disease and other zoonotic Bartonella infections. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(8), 1270–1279. <https://doi.org/10.2460/JAVMA.2004.224.1270>
- Chomel, B., Carlos, E., Kasten, R., Yamamoto, Y., Chang, C., Carlos, E., Abenes, M., & Pajares, C. (1999). Bartonella henselae and Bartonella clarridgeiae infection in domestic cats from The Philippines. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 60(4), 593–597. <https://doi.org/10.4269/AJTMH.1999.60.593>
- Cochet, A., & Mousson, I. (2013). Maladies à transmission vectorielle et leur prévention dans le sud de la France. In *Alin&as Lettre d'information du CClin et des Arlin du Sud-Est* (Issue 3).
- CORBET, G. B. (1988). The family Erinaceidae: a synthesis of its taxonomy, phylogeny, ecology and zoogeography. *Mammal Review*, 18(3), 117–172. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.1988.tb00082.x>
- Corbet, G. B., & Hill, J. E. (1994). Wilson, D. E., and D. M. Reeder (eds.). 1993. MAMMAL SPECIES OF THE WORLD: A TAXONOMIC AND GEOGRAPHIC REFERENCE, 2nd Edition. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., xviii + 1206 pp. ISBN 1-56098-217-9. Price (hardcover), \$75.00 (\$60.00 to member. *Journal of Mammalogy*, 75(1), 239–243. <https://doi.org/10.2307/1382263/2/75-1-239.PDF.GIF>
- Coudert, C., Beau, F., Berlioz-Arthaud, A., Melix, G., Devaud, F., Boyeau, E., Jaomeau, C., Lablee, P., & Jarno, P. (2007). La leptospirose humaine en polynésie Française: Aspects épidémiologiques, cliniques et bactériologiques. *Medecine Tropicale*, 67(2), 137–144.
- Cumbassá, A., Barahona, M. J., Cunha, M. V., Azórin, B., Fonseca, C., Rosalino, L. M., Tilburg, J., Hagen, F., Santos, A. S., & Botelho, A. (2015). Coxiella burnetii DNA detected in domestic ruminants and wildlife from Portugal. *Veterinary Microbiology*, 180(1–2), 136–141. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2015.07.030>
- Dahmani, M., Davoust, B., & Brouqui, P. (2018). EHRlichioses ET ANAPLAsmoses HUMAINES. In *Précis de bactériologie clinique*. (3rd editio, pp. 1507–1534). EKSA/LACASSAGNE. https://www.researchgate.net/publication/328563636_EHRLICHIOSES_ET_ANAPLASMOSSES_HUMAINES
- Dahmani, M., Loudahi, A., Mediannikov, O., Fenollar, F., Raoult, D., & Davoust, B. (2015). Molecular detection of Anaplasma platys and Ehrlichia canis in dogs from Kabylie, Algeria. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 6(2), 198–203. <https://doi.org/10.1016/J.TTBDIS.2014.12.007>

- Dehio, C. (2001). Bartonella interactions with endothelial cells and erythrocytes. *Trends in Microbiology*, 9(6), 279–285. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(01\)02047-9](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02047-9)
- Del Prete, R., Fumarola, D., Ungari, S., Fumarola, L., & Miragliotta, G. (2000). Polymerase chain reaction detection of Bartonella henselae bacteraemia in an immunocompetent child with cat-scratch disease. *European Journal of Pediatrics* 2000 159:5, 159(5), 356–359. <https://doi.org/10.1007/S004310051286>
- Derdour, S.-Y., Hafsi, F., Azzag, N., Tennah, S., Laamari, A., Ghalmi, F., China, B., Ghalmi, F., Gruyter, D. E., Derdour, S.-Y., Hafsi, F., Azzag, N., Tennah, S., Laamari, A., China, B., & Ghalmi, F. (2017). Prevalence of the main infectious causes of abortion in dairy cattle in Algeria. *61(3)*, 337–343. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0044>
- Devaux, C., Osman, I., Million, M., & Raoult, D. (2020). Coxiella burnetii in Dromedary Camels (Camelus dromedarius): A Possible Threat for Humans and Livestock in North Africa and the Near and Middle East? *Frontiers in Veterinary Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/FVETS.2020.558481>
- Diarra, A. Z., Almeras, L., Laroche, M., Berenger, J. M., Koné, A. K., Bocoum, Z., Dabo, A., Doumbo, O., Raoult, D., & Parola, P. (2017). Molecular and MALDI-TOF identification of ticks and tick-associated bacteria in Mali. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005762>
- Dieme, C., Bechah, Y., Socolovschi, C., Audoly, G., Berenger, J.-M., Faye, O., Raoult, D., & Parola, P. (2015). From the Cover: Transmission potential of Rickettsia felis infection by Anopheles gambiae mosquitoes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(26), 8093. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1413835112>
- Donatien, A., Gayot, G., & Poul, J. (1951). Leptospirosis of the dog in Algeria. *Arch Inst Pasteur Alger*., 29(1), 4–20. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14830339/>
- Donatien, A., Gayot, G., & Rampon, L. (1951). La leptospirose bovine en Algérie. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie Institut Pasteur d'Algérie*, 29(1), 18–19.
- Dudek, K., Foldvari, G., Majlathova, V., Majlath, I., Rigo, K., Molnar, V., Toth, M., Jankowiak, L., & Tryjanowski, P. (2017). Patterns in the distribution and directional asymmetry of fleas living on the northern white-breasted hedgehog Erinaceus roumanicus. *Folia Parasitologica*, 64. <https://doi.org/10.14411/FP.2017.026>
- Duncan, A., Maggi, R., & Breitschwerdt, E. (2007). A combined approach for the enhanced detection and isolation of Bartonella species in dog blood samples: pre-enrichment liquid culture followed by PCR and subculture onto agar plates. *Journal of Microbiological Methods*, 69(2), 273–281. <https://doi.org/10.1016/J.MIMET.2007.01.010>
- Dunnet, G., & Mardon, D. (1991). Siphonaptera. In *The Insects of Australia: a textbook for students and research workers* (pp. 40–125). Cornell University Press.
- Durden, L. A. (2006). Taxonomy, host associations, life cycles and vectorial importance of ticks parasitizing small mammals. *Micromammals and Macroparasites: From Evolutionary Ecology to Management*, 91–102. https://doi.org/10.1007/978-4-431-36025-4_6
- Edouard, S., & Raoult, D. (2010). Bartonella henselae, un agent d' infections ubiquitaires. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 40(6), 319–330. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2009.11.004>
- Eldin, C., & Parola, P. (2020). Rickettsioses. *Rev Prat* . , 70(2), 201–205. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32877141/>
- Eldin, Carole, Mélenotte, C., Mediannikov, O., Ghigo, E., Million, M., Edouard, S., Mege, J. L., Maurin, M., & Raoult, D. (2017). From Q fever to Coxiella burnetii infection: A paradigm change. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(1), 115–190. <https://doi.org/10.1128/CMR.00045-16>
- Eremeeva, M. E., Balayeva, N. M., & Raoult, D. (1994). Serological response of patients suffering from primary and recrudescence typhus: comparison of complement fixation reaction, Weil-Felix test, microimmunofluorescence, and immunoblotting. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 1(3), 318.
- Estrada-Peña, A., Mihalca, A., & Petney, T. N. (2018). Ticks of Europe and North Africa A Guide to Species Identification. In *Ticks of Europe and North Africa*. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63760-0_1
- Everett, A. (2012). *ADW: Atelerix algirus*. https://animaldiversity.org/accounts/Atelerix_algirus/

- Fang, L.-Z., Lei, S.-C., Yan, Z.-J., Xiao, X., Liu, J.-W., Gong, X.-Q., Yu, H., & Yu, X.-J. (2021). Detection of Multiple Intracellular Bacterial Pathogens in *Haemaphysalis flava* Ticks Collected from Hedgehogs in Central China. *Pathogens*, *10*(2), 1–12. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10020115>
- Fenton, A., & Pedersen, A. B. (2005). Community Epidemiology Framework for Classifying Disease Threats. *Emerging Infectious Diseases*, *11*(12), 1821. <https://doi.org/10.3201/EID1112.050306>
- Földvári, G., Jahfari, S., Rigó, K., Jablonszky, M., Szekeres, S., Majoros, G., Tóth, M., Molnár, V., Coipan, E. C., Sprong, H., Zaizay, F., Abass, M., Lehman, L., Paintsil, A., Sarfo, F., Lugala, C., Tiendrebeogo, A., Phillips, R., & Asiedu, K. (2014). Candidatus *Neoehrlichia mikurensis* and *Anaplasma phagocytophilum* in Urban Hedgehogs. *Emerging Infectious Diseases*, *20*(3), 496–498. <https://doi.org/10.3201/EID2003.130935>
- Földvári, G., Rigó, K., Jablonszky, M., Biró, N., Majoros, G., Molnár, V., & Tóth, M. (2011). Ticks and the city: Ectoparasites of the Northern white-breasted hedgehog (*Erinaceus roumanicus*) in an urban park. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *2*(4), 231–234. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2011.09.001>
- Fontenille, D., Lagneau, C., Lecollinet, S., Lefait Robin, R., Setbon, M., Tirel, B., & Yébakima, A. (2009). La lutte antivectorielle en France. In *La lutte antivectorielle en France*. IRD Éditions. <https://doi.org/10.4000/BOOKS.IRDEDITIONS.1214>
- Franc, M. (1994). Puces et méthodes de lutte. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, *13*(4), 1019–1037.
- François, J.-B. (2008). *Les tiques chez les bovins en France* [UHP - Université Henri Poincaré]. <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732400>
- Gaglio, G., Allen, S., Bowden, L., Bryant, M., & Morgan, E. R. (2010). Parasites of European hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) in Britain: Epidemiological study and coprological test evaluation. *European Journal of Wildlife Research*, *56*(6), 839–844. <https://doi.org/10.1007/s10344-010-0381-1>
- Gandois, L. ; (2013). *Infections à Bartonella (étude de 87 patients diagnostiqués par sérologie au CHU de Limoges) - OpenGrey* [Université de Limoges; Université de Limoges,]. <http://www.opengrey.eu/item/display/10068/888827>
- Gern, L., & Humair, P. (2002). Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Europe. In *Lyme borreliosis: biology ;epidemiology ,and control: Vol. Lyme Borreliosis:* (CABI Publishing, pp. 149–174). [https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=eNNndEcHt2sC&oi=fnd&pg=PA149&dq=\(Gern+%26+Humair,+Ecology+of+Borrelia+burgdorferi+sensu+lato+in+Europe.&ots=TOk--bxNj3&sig=6g7QuqeU6_U2mPXy3rHwDObb1TQ&redir_esc=y#v=onepage&q=\(Gern+%26+Humair%2C+Ecology+of+Borrelia+burgdorferi+sensu+lato+in+Europe.&f=false](https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=eNNndEcHt2sC&oi=fnd&pg=PA149&dq=(Gern+%26+Humair,+Ecology+of+Borrelia+burgdorferi+sensu+lato+in+Europe.&ots=TOk--bxNj3&sig=6g7QuqeU6_U2mPXy3rHwDObb1TQ&redir_esc=y#v=onepage&q=(Gern+%26+Humair%2C+Ecology+of+Borrelia+burgdorferi+sensu+lato+in+Europe.&f=false)
- Gern, L., Rouvinez, E., Toutoungi, L., & Godfroid, E. (1997). Transmission cycles of *Borrelia burgdorferi* sensu lato involving *Ixodes ricinus* and/or *I. hexagonus* ticks and the European hedgehog, *Erinaceus europaeus*, in suburban and urban areas in Switzerland - PubMed. *Folia Parasitol (Praha)* , *44*(4), 309–314. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9437846/>
- Gern, L., Toutoungi, L., Hu, C., & Aeschlimann, A. (1991). *Ixodes* (Pholeoixodes) *hexagonus*, an efficient vector of *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. *Medical and Veterinary Entomology*, *5*(4), 431–435. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2915.1991.TB00571.X>
- Gil, H., Barandika, J. F., Peig, J., Toledo, A., Escudero, R., Jado, I., Lobo, B., Roales, P., Olmeda, A. S., & Anda, P. (2010). *Variability of Bartonella Genotypes among Small Mammals in Spain* □. *76*(24), 8062–8070. <https://doi.org/10.1128/AEM.01963-10>
- Gilles, J., Silaghi, C., Just, F. T., & Pradel, I. (2009). *Polymerase Chain Reaction Detection of Rickettsia felis – Like Organism in Archaeopsylla erinacei (Siphonaptera : Pulicidae) From Bavaria , Germany.* 703–707.
- Girisgin, A. O. nu., Senlik, B., Aydin, L., & Cirak, V. Y. (2015). Ectoparasites of hedgehogs (*Erinaceus concolor*) from Turkey. *Berliner Und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, *128*(7–8), 315–318.
- Goarant, C. (2016). Leptospirosis : risk factors and management challenges in developing countries. *Research and Reports in Tropical Medicine, Volume 7*, 49–62. <https://doi.org/10.2147/rrtm.s102543>

- Gong, X., Xiao, X., Liu, J., Han, H., Qin, X., Lei, S., & Yu, X. (2020). Occurrence and Genotyping of *Coxiella burnetii* in Hedgehogs in China. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 20(8), 580–585. <https://doi.org/10.1089/VBZ.2019.2589>
- Goz, Yasar, Yilmaz, A. B., Aydin, A., & Dicle, Y. (2016). Ticks and fleas infestation on east hedgehogs (*Erinaceus Concolor*) in van province, eastern region of turkey. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 10(1), 50–54.
- Goz, Yaşar, Yilmaz, A. B., Aydin, A., & Dicle, Y. (2014). *Ticks and Fleas Infestation on East Hedgehogs (Erinaceus concolor) in Van Province , Eastern Region of Turkey. Capinera 2010.*
- Gracia, M., Calvete, C., Estrada, E., Castillo, J., Peribáñez, M., & Lucientes, J. (2013). Survey of flea infestation in cats in Spain. *Med Vet Entomol* , 27(2), 175–180. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2915.2012.01027.X>
- Greco, G., Zarea, A. A. K., Sgroi, G., Tempesta, M., D’Alessio, N., Lanave, G., Bezerra-Santos, M. A., Iatta, R., Veneziano, V., Otranto, D., & Chomel, B. (2021). Zoonotic Bartonella species in Eurasian wolves and other free-ranging wild mammals from Italy. *Zoonoses and Public Health*, 68(4), 316–326. <https://doi.org/10.1111/ZPH.12827>
- Greigert, V., Brunet, J., Ouarti, B., Laroche, M., Pfaff, A. W., Henon, N., Lemoine, J. P., Mathieu, B., Parola, P., Candolfi, E., & Abou-Bacar, A. (2020). The Trick of the Hedgehog: Case Report and Short Review about *Archaeopsylla erinacei* (Siphonaptera: Pulicidae) in Human Health. *Journal of Medical Entomology*, 57(1), 318–323. <https://doi.org/10.1093/JME/TJZ157>
- Griffith, M. E., Hospenthal, D. R., & Murray, C. K. (2006). Antimicrobial therapy of leptospirosis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 19(6), 533–537. <https://doi.org/10.1097/QCO.0B013E3280106818>
- Guerzou, A. (2009). *Bioécologie trophique de quelques espèces prédatrices dans la région de Guelt es Stel (Djelfa)*. ENSA Alger.
- Guglielmini, J., Bourhy, P., Schiettekatte, O., Zinini, F., Brisse, S., Id, M. P., & Picardeau, M. (2019). Genus-wide *Leptospira* core genome multilocus sequence typing for strain taxonomy and global surveillance. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(4), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007374>
- Guglielmone, A. A., Robbins, R. G., Apanaskevich, D. A., Petney, T. N., Estrada-Peña, A., & Horak, I. G. (2014). The Hard Ticks of the World (Acari: Ixodida: Ixodidae). In *The Hard Ticks of the World*. Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7497-1_1
- Guptill, L. (2010). *Bartonellosis*. 140, 347–359. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.11.011>
- Hajipour, N., Keighobadi, M., Minas, A., Abad, R., & Golabi, M. (2015). *Prevalence of flea infestation in stray cats in North West of Iran , Iran*. 7(1), 575–580.
- Hall, D. (2002). *ADW: Paraechinus aethiopicus*. https://animaldiversity.org/accounts/Paraechinus_aethiopicus/
- Halos, L., Jamal, T., Maillard, R., Girard, B., Guillot, J., Chomel, B., Vayssier-Taussat, M., & Boulouis, H.-J. (2004). Role of Hippoboscidae Flies as Potential Vectors of Bartonella spp. Infecting Wild and Domestic Ruminants. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(10), 6302. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.10.6302-6305.2004>
- Hansmann, Y. (2009). Rickettsioses éruptives. *EMC - Maladies Infectieuses*, 6(2), 1–15. [https://doi.org/10.1016/S1166-8598\(09\)44183-8](https://doi.org/10.1016/S1166-8598(09)44183-8)
- Haraji, M., Cohen, N., Karib, H., Fassouane, A., & Belahsen, R. (2011). Forme ictérique de la Leptospirose Humaine : présentation d ’ un cas à El Jadida , Maroc. *Les Technologies de Laboratoire*.
- Heath, B. D., Butcher, R. D. J., Whitfield, W. G. F., & Hubbard, S. F. (1999). Horizontal transfer of *Wolbachia* between phylogenetically distant insect species by a naturally occurring mechanism. *Current Biology*, 9(6), 313–316. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(99\)80139-0](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(99)80139-0)
- Henn, J., Gabriel, M., Kasten, R., Brown, R., Koehler, J., MacDonald, K., Kittleson, M., Thomas, W., & Chomel, B. (2009). Infective endocarditis in a dog and the phylogenetic relationship of the associated “*Bartonella rochalimae*” strain with isolates from dogs, gray foxes, and a human. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(3), 787–790. <https://doi.org/10.1128/JCM.01351-08>
- Hertig, M., & Wolbach, S. (1924). Studies on Rickettsia-Like Micro-Organisms in Insects - PubMed. *J Med Res*, 44(3), 329–374. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19972605/>

- Heyman, P., Cochez, C., Hofhuis, A., Giessen, J. van der, Sprong, H., Porter, S. R., Losson, B., Saegerman, C., Donoso-Mantke, O., Niedrig, M., & Papa, A. (2014). A clear and present danger: tick-borne diseases in Europe. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 8(1), 33–50. <https://doi.org/10.1586/ERI.09.118>
- Hoogstraal, H., & Aeschlimann, A. (1982). Tick -Host Specificity. *Bulletin de La Société Entomologique Suisse*, 55, 5–32.
- Hornok, S., Földvári, G., Rigó, K., Meli, M., Tóth, M., Molnár, V., Gönczi, E., Farkas, R., & Hofmann-Lehmann, R. (2014). Vector-borne agents detected in fleas of the northern white-breasted hedgehog. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 14(1), 74–76. <https://doi.org/10.1089/VBZ.2013.1387>
- Hornok, Sándor, Sándor, A. D., Tomanović, S., Beck, R., D’Amico, G., Kontschán, J., Takács, N., Görföl, T., Bendjeddou, M. L., Földvári, G., & Farkas, R. (2017). East and west separation of *Rhipicephalus sanguineus* mitochondrial lineages in the Mediterranean Basin. *Parasites & Vectors* 2017 10:1, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S13071-017-1985-Z>
- Hosni, M. M., & El Maghrbi, A. A. (2014). Ectoparasites infestation of free-ranging hedgehog (*Etelarix algirus*) in north western Libya. *Open Vet J*, 4(1), 12–15. https://www.researchgate.net/publication/285420900_Ectoparasites_infestation_of_free-ranging_hedgehog_Etelarix_algirus_in_north_western_Libya
- Hottop Dunning, J. C., Mingqun, L., Madupu, R., Crabtree, J., Angiuoli, S. V., Eisen, J., Seshadri, R., Ren, Q., Wu, M., Utterback, T. R., Smith, S., Lewis, M., Khouri, H., Zhang, C., Niu, H., Lin, Q., Ohashi, N., Zhi, N., Nelson, W., ... Tettelin, H. (2006). Comparative Genomics of Emerging Human Ehrlichiosis Agents. *PLOS Genetics*, 2(2), e21. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.0020021>
- Hutterer, R. (2014). *Paraechinus aethiopicus* (Desert Hedgehog). <https://www.iucnredlist.org/species/40606/22326233>
- Infect, M., France, E., Rhipicephalus, E., Gilot, B., & Perez-Eid, C. (1998). Bio-écologie des tiques induisant les pathologies les plus importantes en France *. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 28(4), 325–334. [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(98\)70217-3](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(98)70217-3)
- Ives, T., Manzewitsch, P., Regnery,rl, Butts;jd, & Kebede, M. (1997). In vitro susceptibilities of *Bartonella henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae*, *Rickettsia rickettsii*, *R. conorii*, *R. akari*, and *R. prowazekii* to macrolide antibiotics as determined by immunofluorescent-antibody analysis of infected Vero cell monolayers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(3), 578–582. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.3.578>
- Jacomo, V., Kelly, P. J., & Raoult, D. (2002). Natural History of *Bartonella* Infections (an Exception to Koch’s Postulate). *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9(1), 8. <https://doi.org/10.1128/CDLI.9.1.8-18.2002>
- JONGEJAN, F., & UILENBERG, G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitology*, 129(S1), S3–S14. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005967>
- Keita, M. M. L., Medkour, H., Sambou, M., Dahmana, H., & Mediannikov, O. (2020). *Tabanids as possible pathogen vectors in Senegal (West Africa)*. 13(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S13071-020-04375-W>
- Kernif, T., Socolovschi, C., Bitam, I., Raoult, D., & Parola, P. (2012). Vector-borne rickettsioses in North Africa. *Infectious Disease Clinics of North America*, 26(2), 455–478. <https://doi.org/10.1016/J.IDC.2012.03.007>
- Khalidi, M., Socolovschi, C., Benyettou, M., Barech, G., Biche, M., Kernif, T., Raoult, D., & Parola, P. (2012). Rickettsiae in arthropods collected from the North African Hedgehog (*Atelerix algirus*) and the desert hedgehog (*Paraechinus aethiopicus*) in Algeria. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35(2), 117–122. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.11.007>
- Kidd, L., Maggi, R., Diniz, P., Hegarty, B., Tucker, M., & Breitschwerdt, E. (2008). Evaluation of conventional and real-time PCR assays for detection and differentiation of Spotted Fever Group *Rickettsia* in dog blood. *Veterinary Microbiology*, 129(3–4), 294–303. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2007.11.035>
- Kobayashi, Y. (2001). Clinical observation and treatment of leptospirosis. *Journal of Infection and*

- Chemotherapy* 2001 7:2, 7(2), 59–68. <https://doi.org/10.1007/S101560100011>
- KOKO, J., MOUSSAVOU, A., ORIMA, C., SEILHAN, C., LEMBA-ABAKA, A., & DAMAS, S. (2001). Leptospirose de l'enfant à Libreville : difficultés diagnostiques, à propos d'un cas. *Bulletin de La Société de Pathologie Exotique*, 94(5).
- Kordick, D., Papich, M., & Breitschwerdt, E. (1997). Efficacy of enrofloxacin or doxycycline for treatment of *Bartonella henselae* or *Bartonella clarridgeiae* infection in cats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(11), 2448–2455. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.11.2448>
- Kosoy, M., Murray, M., Gilmore, R., Bai, Y., & Gage, K. (2003). *Bartonella* strains from ground squirrels are identical to *Bartonella washoensis* isolated from a human patient. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(2), 645–650. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.2.645-650.2003>
- Kowalski, K., & Rzebik-Kowalska, B. (1991). *Mammals of Algeria* (, Institute of Systematics and Evolution of Animals. Polish Academy of Sciences (ed.)). Zakład Narodowy im. Ossolińskich, Wydawn. Polskiej Akademii Nauk.
- Labuda, M., & Randolph, S. E. (1999). Survival strategy of tick-borne encephalitis virus: Cellular basis and environmental determinants. *Zentralblatt Fur Bakteriologie*. [https://doi.org/10.1016/S0934-8840\(99\)80005-X](https://doi.org/10.1016/S0934-8840(99)80005-X)
- Landmann, F. (2019). The *Wolbachia* Endosymbionts. *Microbiology Spectrum*, 7(2). <https://doi.org/10.1128/MICROBIOLSPEC.BAI-0018-2019>
- Laroche, P. M., Almeras, L., Berenger, J. M., Raoult, D., & Parola, P. (2015). Agents zoonotiques vectorisés étudiés à l'Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée infection. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 168(3), 245–252. <https://doi.org/10.4267/2042/57935>
- Latif, A. A., & Walker, A. R. (2004). *An introduction to the biology and control of ticks in Africa*. <http://www.alanwalker.com/assets/PDF/tick-biology-africa.pdf>
- Laurent, D., Chirouze, C., Galois, A. C., Lion, C., May, T., & Rabaud, C. (2004). La leptospirose: Étude clinique et microbiologique à propos de 11 cas. *Medicine et Maladies Infectieuses*, 34(1), 42–47. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2003.09.005>
- Le Berre, M. (1989). *Faune du Sahara* (Vol. 1). Lechevalier-R. Chabaud.
- Leroy, P. (2016). *Archaeopsylla erinacei* - Photo Paul Leroy - www.galerie-insecte.org. Galerie Insect. <https://www.galerie-insecte.org/galerie/ref-161023.htm>
- Leulmi, H., Aouadi, A., Bitam, I., Bessas, A., Benakhla, A., Raoult, D., & Parola, P. (2016). Detection of *Bartonella tamiae*, *Coxiella burnetii* and *rickettsiae* in arthropods and tissues from wild and domestic animals in northeastern Algeria. *Parasites and Vectors*. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1316-9>
- Levett, P. N. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(2), 296–326. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.2.296>
- Lewis, R. E. (1993). Notes on the Geographical Distribution and Host Preferences in the Order Siphonaptera. Part 8. New Taxa Described Between 1984 and 1990, with a Current Classification of the Order. *Journal of Medical Entomology*, 30(1), 239–256. <https://doi.org/10.1093/JMEDENT/30.1.239>
- Lewis, R. E. (1998). Résumé of the Siphonaptera (Insecta) of the World. *Journal of Medical Entomology*, 35(4), 377–389. <https://doi.org/10.1093/JMEDENT/35.4.377>
- Li, W., Raoult, D., & Fournier, P.-E. (2007). Genetic Diversity of *Bartonella henselae* in Human Infection Detected with Multispacer Typing. *Emerging Infectious Diseases*, 13(8), 1178. <https://doi.org/10.3201/EID1308.070085>
- Loftis, A. D., Reeves, W. K., Szumlas, D. E., Abbassy, M. M., Helmy, I. M., Moriarity, J. R., & Dasch, G. A. (2006). Surveillance of Egyptian fleas for agents of public health significance: *Anaplasma*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, and *Yersinia pestis*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75(1), 41–48. <https://doi.org/10.4269/AJTMH.2006.75.41>
- Lommano, E. (2012). *Agents pathogènes d'importance médicale et vétérinaire chez "Ixodes ricinus" en Suisse: infections et co-infections chez les tiques en quête et les tiques d'oiseaux*. Université de Neuchâtel.
- Lynch, T., Iverson, J., & Kosoy, M. (2011). Combining Culture Techniques for *Bartonella*: the Best of Both Worlds. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(4), 1363. <https://doi.org/10.1128/JCM.02403-10>

- Ma, X.-J., Gong, X.-Q., Xiao, X., Liu, J.-W., Han, H.-J., Qin, X.-R., Lei, S.-C., Gu, X.-L., Yu, H., & Yu, X.-J. (2020). Detection of *Leptospira interrogans* in Hedgehogs from Central China. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 20(6), 427–431. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2544>
- Mailloux, M. (1962). Leptospira of surface waters in Algeria. I. Preliminary survey on the waters of the Algiers area and of the plain of Mitidja. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie Institut Pasteur d'Algérie*, 40, 16–24.
- Mailloux, M. (1963). LEPTOSPIRA IN SURFACE WATERS IN ALGERIA. II. THE WATERS OF PETITE KABYLIE; IDENTIFICATION OF 2 STRAINS. *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie Institut Pasteur*, 41, 4–6.
- Majerová, K., Gutiérrez, R., Fonville, M., Hönig, V., Papežík, P., Hofmannová, L., Lesiczka, P. M., Nachum-Biala, Y., Růžek, D., Sprong, H., Harrus, S., Modrý, D., & Votýpka, J. (2021). Hedgehogs and Squirrels as Hosts of Zoonotic Bartonella Species. *Pathogens* 2021, Vol. 10, Page 686, 10(6), 686. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10060686>
- Marciano, O., Gutiérrez, R., Morick, D., King, R., Nachum-Biala, Y., Baneth, G., & Harrus, S. (2016). Detection of Bartonella spp. in wild carnivores, hyraxes, hedgehog and rodents from Israel. *Parasitology*, 143(10), 1232–1242. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000603>
- Maréchal, C., & Libois, R. (1997). *Fiche hérisson Erinaceus europaeus*.
- Marié, J. Lou, Davoust, B., Socolovschi, C., Raoult, D., & Parola, P. (2012). Molecular detection of rickettsial agents in ticks and fleas collected from a European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in Marseilles, France. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.11.005>
- Mathison, B., & Pritt, B. (2014). Laboratory identification of arthropod ectoparasites. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(1), 48–67. <https://doi.org/10.1128/CMR.00008-13>
- Maurin, M., & Raoult, D. (1999). Q fever. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 518–553. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.518>
- McCarthy, J., & Moore, T. A. (2000). Emerging helminth zoonoses. *International Journal for Parasitology*. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00122-3](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00122-3)
- Mderdough, W. (2008). *bioécologie trophique des hérissons Atelerix algirus et H emiechinus (Paraechinus) aethiopicus dans différentes régions en Algérie*. INA Alger.
- Medkour, H., Davoust, B., Angelakis, M., Thiéry, R., Raoult, D., Rousset, E., Parola, P., & Eldin, C. (2020). A sporadic case of acute Q fever and identification of the animal source of the infection. *Folia Microbiologica* 2020 65:5, 65(5), 797–800. <https://doi.org/10.1007/S12223-020-00788-3>
- Ménier, K., & Beaucournu, J. C. (2001). Importance médico-vétérinaire des puces de notre environnement. *Revue Française Des Laboratoires*, 2001(338), 59–63. [https://doi.org/10.1016/S0338-9898\(01\)80352-8](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(01)80352-8)
- Mennessier, K. (2013). *MODE DE VIE ET ALIMENTATION DU HÉRISSON D ' EUROPE (ERINACEUS EUROPAEUS)*. ENVT.
- Merchant, S. R., & Taboada, J. (1991). Dermatologic Aspects of Tick Bites and Tick-Transmitted Diseases. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 21(1), 145–155. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(91\)50015-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(91)50015-2)
- Merien, F., Portnoi, D., Bourhy, P., Charavay, F., Berlioz-Arthaud, A., & Baranton, G. (2005). A rapid and quantitative method for the detection of Leptospira species in human leptospirosis. *FEMS Microbiology Letters*, 249(1), 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.06.011>
- MICHENER, C. D. (1952). *Traité de Zoologie: Anatomie, Systématique, Biologie — Insectes Supérieurs et Hémiptéroïdes*, Vol. X, Parts 1 and 2. Pierre-P. Grassé, Ed. Paris:Masson, 1951. Part 1, 975 pp., 6500 fr.; Part 2, 973 pp., 6500 fr. *Science*, 115(2990), 432–432. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.115.2990.432>
- Mircean, V., Titilincu, A., & Vasile, C. (2010). Prevalence of endoparasites in household cat (*Felis catus*) populations from Transylvania (Romania) and association with risk factors. *Veterinary Parasitology*, 171(1–2), 163–166. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2010.03.005>
- Mitchell, M. A., & Tully, T. N. (2009). *Manual of exotic pet practice*. 546.
- Morales, A., & Rofes, J. (2008). *Early evidence for the Algerian hedgehog in Europe*. 274, 9–12. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2007.00349.x>
- MOUHOUB-SAYAH, C. (2009). *Ecophysiologie du Hérisson d'Algérie Atelerix algirus Lerebollet*

- 1842 (*Mammalia, Insectivora*) dans quelques stations du Djurdjura et dans la vallée de la Soummam. ENSA El Harrach Alger.
- Mouhoub Sayah, C., Robin, J., Pevet, P., Monecke, S., Doumanadji, & Saboureau, M. (2009). Road mortality of the Algerian Hedgehog (*Atelerix algirus*) in the Soummam valley (Algeria) Reasons underlying mortality in wild species are of various origins: natural (climate, diseases, parasites, predation, etc.) or unnatural as a consequence. *Rev. Écol. (Terre Vie)*, 64, 1–12.
- Moulinier, C. (2002). *Livre: Parasitologie et mycologie médicales - éléments de morphologie et de biologie, éléments de morphologie et de biologie*, Claude Moulinier, Lavoisier / Tec & Doc, 9782743004880 - Librairie Dialogues. Lavoisier / Tec & Doc.
- Mountain, R. (2010). *LES ANIMAUX VERTÉBRÉS SONT-ILS RÉSERVOIRS DE RICKETTSIES? ARE VERTEBRATES RESERVOIR HOSTS FOR RICKETTSIA? 1*, 291–302.
- Mullen, G., & Durden, L. (2002). *Medical and Veterinary Entomology* (2nd edition). Academic press of Elsevier. https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=T8CWvVGwKhoC&oi=fnd&pg=PP1&dq=Medical+and+veterinary+entomology&ots=7G-nmfYj3f&sig=12Q6HD-p-Bi_VvYIp6HOSYc_u2Q&redir_esc=y#v=onepage&q=Medical+and+veterinary+entomology&f=false
- Nebbak, A., El Hamzaoui, B., Berenger, J. M., Bitam, I., Raoult, D., Almeras, L., & Parola, P. (2017). Comparative analysis of storage conditions and homogenization methods for tick and flea species for identification by MALDI-TOF MS. *Medical and Veterinary Entomology*. <https://doi.org/10.1111/mve.12250>
- Nematollahi, A., Helan, J. A., Golezardy, H., Zaboli, N., Nouruzi, M., & Azari, M. (2014). Parasitic Fauna of East European Hedgehog (*Erinaceus Concolor*) and Their Pathological Aspects in Iran. *Advances in Zoology and Botany*, 2(1), 1–5. <https://doi.org/10.13189/AZB.2014.020101>
- Nguyen, H. M., Theppannga, W., Vongphayloth, K., Douangneun, B., Blacksell, S. D., & Robinson, M. T. (2020). Screening of ectoparasites from domesticated dogs for bacterial pathogens in Vientiane, Lao PDR. *Zoonoses and Public Health*, 67(8), 862–868. <https://doi.org/10.1111/ZPH.12753>
- Ngwamidiba, M., Raoult, D., & Fournier, P. E. (2006). Les Rickettsies : caractères microbiologiques, identification, relations avec les arthropodes, pathogénie des infections (2e partie). *Antibiotiques*, 8(3), 166–174. [https://doi.org/10.1016/S1294-5501\(06\)70817-2](https://doi.org/10.1016/S1294-5501(06)70817-2)
- Onder, Z., Ciloglu, A., Duzlu, O., Yildirim, A., Okur, M., Yetismis, G., & Inci, A. (2019). Molecular detection and identification of Wolbachia endosymbiont in fleas (Insecta: Siphonaptera). *Folia Microbiologica*, 64(6), 789–796. <https://doi.org/10.1007/S12223-019-00692-5>
- Ouarab, S., & Doumandji, S. (2010). Insectivorie du Hérisson d'Algérie *Atelerix Algirus* (Lereboullet, 1842) (*Erinaceidae, Mammalia*) Dans la Zone Humide de Réghaïa. *European Journal of Scientific Research*, 44(4), 612–623.
- Parola, P., & Raoult, D. (2001). Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 32(6), 897–928. <https://doi.org/10.1086/319347>
- Parola, Philippe, Cornet, J. P., Sanogo, Y. O., Miller, R. S., Van Thien, H., Gonzalez, J. P., Raoult, D., Telford, S. R., & Wongsrichanalai, C. (2003). Detection of Ehrlichia spp., Anaplasma spp., Rickettsia spp., and other eubacteria in ticks from the Thai-Myanmar border and Vietnam. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(4), 1600–1608. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.4.1600-1608.2003>
- Parola, Philippe, Paddock, C. D., & Raoult, D. (2005). *Tick-Borne Rickettsioses around the World: Emerging Diseases Challenging Old Concepts*. 18(4), 719–756. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.719>
- Parola, Philippe, Paddock, C. D., Socolovschi, C., Labruna, M. B., Mediannikov, O., & Kernif, T. (2013). *Update on Tick-Borne Rickettsioses around the World: a Geographic Approach*. 26(4), 657–702. <https://doi.org/10.1128/CMR.00032-13>
- Pérez-Eid, C. (2007). *Les tiques : identification, biologie, importance médicale et vétérinaire*. Éd. Tec & doc.
- Perez, M., Rikihisa, y, & Wen, B. (1996). Ehrlichia canis-like agent isolated from a man in

- Venezuela: antigenic and genetic characterization. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(9), 2133–2139. <https://doi.org/10.1128/JCM.34.9.2133-2139.1996>
- Petri, W. A. (2020). *Ehrlichiose et anaplasmose - Infections - Manuels MSD pour le grand public*. MD, PhD, University of Virginia School of Medicine. <https://www.msmanuals.com/fr/accueil/infections/infections-à-rickettsies-et-infections-apparentées/ehrlichiose-et-anaplasmose>
- Petri, W. A. J. (2020, July). *Fièvre Q - Maladies infectieuses - Édition professionnelle du Manuel MSD*. <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/rickettsia-et-microorganismes-apparentés/fièvre-q>
- Pfäffle, M., Černábolíková, B., Hulva, P., Petney, T., Pfa, M., Hulva, P., & Petney, T. (2014). Different parasite faunas in sympatric populations of sister hedgehog species in a secondary contact zone. *PLoS ONE*, 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114030>
- Philip, N., Affndy, N. B., Ramli, N. S. a, Arif, M., Raja, P., Nagandran, E., Renganathan, P., Taib, N. M., Masri, N., Yuhana, M. Y., Thian, L., Than, L., Seganathirajah, M., Id, C. G., Goris, M. G. A., Sekawi, Z., Kumari, V., & Id, N. (2020). *Leptospira interrogans and Leptospira kirschneri are the dominant Leptospira species causing human leptospirosis in Central Malaysia*. *St 265*, 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008197>
- Pottier, A. (2008). Influence des modifications des facteurs culturels sur l' épidémiologie des maladies vectorielles. *thèse de Docteur Vétérinaire*, 144.
- Pruneau, L., Moumène, A., Meyer, D. F., Marcelino, I., Lefrançois, T., & Vachiéry, N. (2014). Understanding Anaplasmataceae pathogenesis using “Omics” approaches. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 0(JUL), 86. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2014.00086>
- Psaroulaki, A., Chochlakis, D., Ioannou, I., Angelakis, E., & Tselentis, Y. (2014). Presence of *Coxiella burnetii* in Fleas in Cyprus. *Https://Home.Liebertpub.Com/Vbz*, 14(9), 685–687. <https://doi.org/10.1089/VBZ.2013.1399>
- Quesenberry, K., & Carpenter, J. (2012). Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery. *Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery*. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-60282-8>
- Reeve, N. (1994). *Hedgehogs*. T. & A.D. Poyser.
- Renvoisé, A., & Raoult, D. (2009). *L' actualité des rickettsioses An update on rickettsiosis*. 39, 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2008.11.003>
- Renvoisé, Aurélie, Mediannikov, O., & Raoult, D. (2009). Old and new tick-borne rickettsioses. *International Health*, 1, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.inhe.2009.03.003>
- Riley, P. Y., & Chomel, B. B. (2005). Hedgehog zoonoses. *Emerging Infectious Diseases*, 11(1), 1–5. <https://doi.org/10.3201/eid1101.040752>
- Rizzoli, A., Silaghi, C., Obiegala, A., Rudolf, I., & Földvári, G. (2014). *Ixodes ricinus and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe : new hazards and relevance for public health*. 2(December), 1–26. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00251>
- Rodhain, F. (1999). *Les maladies à vecteurs* -. Puf - Presses Universitaires De France.
- Rolain, J. M., Brouqui, P., Koehler, J. E., Maguina, C., Dolan, M. J., & Raoult, D. (2004). Recommendations for treatment of human infections caused by Bartonella species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(6), 1921–1933. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.6.1921-1933.2004>
- Rondinini, C., & Doncaster, C. P. (2002). *Roads as barriers to movement for hedgehogs*. 504–509.
- Roux, V., Rydkina, E., Ereemeeva, M., & Raoult, D. (1997). Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the rickettsiae. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47(2), 252–261. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-252>
- Ruiz-Fons, F., Rodríguez, O., Torina, A., Naranjo, V., Gortázar, C., & de la Fuente, J. (2008). Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in wild and farmed ungulates. *Veterinary Microbiology*, 126(1–3), 282–286. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2007.06.020>
- Sadeddine, R., Zan Diarra, A., Laroche, M., Mediannikov, O., Righi, S., Benakhla, A., Dahmana, H., Raoult, D., & Parola, P. (2020). Molecular identification of protozoal and bacterial organisms in domestic animals and their infesting ticks from north-eastern Algeria. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(2), 101330. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101330>

- Salkeld, D. J., Lane, R. S., & Alkeld, D. A. J. S. (2010). Community ecology and disease risk : lizards , squirrels , and the Lyme disease spirochete in California , USA. *Ecology: Ecological Society of America*, 91(1), 293–298. <https://doi.org/10.1890/08-2106.1>
- Sandoz, K., Popham, D., Beare, P., Sturdevant, D., Hansen, B., Nair, V., & Heinzen, R. (2016). Transcriptional Profiling of *Coxiella burnetii* Reveals Extensive Cell Wall Remodeling in the Small Cell Variant Developmental Form. *PloS One*, 11(2). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0149957>
- Sarih, M., M’Ghirbi, Y., Bouattour, A., Gern, L., Baranton, G., & Postic, D. (2005). Detection and identification of Ehrlichia spp. in ticks collected in Tunisia and Morocco. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(3), 1127–1132. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.3.1127-1132.2005>
- Saupe, E. (1988). Parasitoses of the hedgehog and their treatment. *Praktische Tierarzt*, 69(12), 49–54. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DE19890050096>
- Serbus, L. R., Casper-Lindley, C., Landmann, F., & Sullivan, W. (2008). *The Genetics and Cell Biology of Wolbachia-Host Interactions*. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.41.110306.130354>
- Silaghi, C., Skuballa, J., Thiel, C., Pfister, K., Petney, T., Pfäffle, M., Taraschewski, H., & Passos, L. M. F. (2012). The European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) - A suitable reservoir for variants of *Anaplasma phagocytophilum*? *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 3(1), 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2011.11.005>
- Simon, M. (2009). *Eradiction des puces : de la biologie au traitement*. UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY.
- Sixl, W., Köck, L., Withalm, H., & Stünzner, D. (1989). Serological investigations of the hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in Styria. 2. Report. *Geogr Med Suppl*, 2, 105–108. <https://doi.org/10.17236/SAT00191>
- Skuballa, J., Oehme, R., Hartelt, K., Petney, T., Bücher, T., Kimmig, P., & Taraschewski, H. (2007). European hedgehogs as hosts for *Borrelia* spp., Germany [8]. In *Emerging Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.3201/eid1306.070224>
- Skuballa, J., Petney, T., Pfäffle, M., Oehme, R., Hartelt, K., Fingerle, V., Kimmig, P., & Taraschewski, H. (2012). Occurrence of different *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies including *B. afzelii*, *B. bavariensis*, and *B. spielmanii* in hedgehogs (*Erinaceus* spp.) in Europe. *Ticks and Tick-Borne Diseases*. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2011.09.008>
- Skuballa, J., Petney, T., Pfäffle, M., & Taraschewski, H. (2010). Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) and its ticks. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0150>
- SOCOLOVSKI, C., DOUDIER, B., PAGES, F., & PAROLA, P. (2008). TIQUES ET MALADIES TRANSMISES À L’HOMME EN AFRIQUE. *Médecine Tropicale*, 68(2), 119–133.
- Spickler, A. R. (2007). *Q Fever*. www.cfsph.iastate.edu
- Staggemeier, R., Augusto Venker, C., Heck Klein, D., Petry, M., Spilki, F., & Cantarelli, V. (2010). Prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in cats in the south of Brazil: a molecular study. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 105(7), 873–878.
- Symonds, M. (2005). Phylogeny and life histories of the “Insectivora”: controversies and consequences. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 80(1), 93–128. <https://doi.org/10.1017/S1464793104006566>
- Szekeres, S., Docters van Leeuwen, A., Tóth, E., Majoros, G., Sprong, H., & Földvári, G. (2019). Road-killed mammals provide insight into tick-borne bacterial pathogen communities within urban habitats. *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(1). <https://doi.org/10.1111/tbed.13019>
- Temple, H. J., & Cuttelod, A. (2009). The status and distribution of Mediterranean mammals | IUCN. In *Printed in the United Kingdom*. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. <https://www.iucn.org/es/content/status-and-distribution-mediterranean-mammals-0>
- Thamm, S., Kalko, E. K. V., & Wells, K. (2009). Ectoparasite infestations of hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) are associated with small-scale landscape structures in an urban-suburban environment. *EcoHealth*, 6(3), 404–413. <https://doi.org/10.1007/s10393-009-0268-3>
- Tomás-Pérez, M., Khaldi, M., Riera, C., Mozo-León, D., Ribas, A., Hide, M., Barech, G., Benyettou,

- M., Seghiri, K., Doudou, S., & Fisa, R. (2014). First report of natural infection in hedgehogs with *Leishmania major*, a possible reservoir of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Algeria. *Acta Tropica*, 135(1), 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.03.018>
- Tran, A., Biteau-Coroller, F., Guis, H., & Roger, F. (2005). Modélisation des maladies vectorielles. *Epidémiologie et Santé Animale*, 47, 35–51.
- Tsuruoka, K., Tsuneoka, H., Kawano, M., Yanagihara, M., Nojima, J., Tanaka, T., Yamamoto, M., & Ichihara, K. (2012). Evaluation of IgG ELISA using N-lauroyl-sarcosine-soluble proteins of *Bartonella henselae* for highly specific serodiagnosis of cat scratch disease. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 74(3), 230–235. <https://doi.org/10.1016/J.DIAGMICROBIO.2012.06.028>
- Valtonen, E. T., Holmes, J. C., & Koskivaara, M. (1997). Eutrophication, pollution and fragmentation: effects on parasite communities in roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in four lakes in central Finland. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54(3), 572–585. <https://doi.org/10.1139/F96-306>
- Velho, P., Cintra, M., Thida-Tanaka, A., de Moraes, A., & Mariotto, A. (2003). What do we (not) know about the human bartonellosis? *The Brazilian Journal of Infectious Diseases : An Official Publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, 7(1), 1–6. <https://doi.org/10.1590/S1413-86702003000100001>
- Visser, M., Rehbein, S., & Wiedemann, C. (2001). Species of Flea (Siphonaptera) Infesting Pets and Hedgehogs in Germany. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 48(3), 197–202. <https://doi.org/10.1046/J.1439-0450.2001.00445.X>
- Vitale, G., Mansueto, S., Rolain, J.-M., & Raoult, D. (2006). *Rickettsia massiliae* Human Isolation. *Emerging Infectious Diseases*, 12(1), 174. <https://doi.org/10.3201/EID1201.050850>
- Vobis, M., D'Haese, J., Mehlhorn, H., Mencke, N., Blagburn, B. L., Bond, R., Denholm, I., Dryden, M. W., Payne, P., Rust, M. K., Schroeder, I., Vaughn, M. B., & Bledsoe, D. (2004). Molecular phylogeny of isolates of *Ctenocephalides felis* and related species based on analysis of ITS1, ITS2 and mitochondrial 16S rDNA sequences and random binding primers. *Parasitology Research 2004 94:3*, 94(3), 219–226. <https://doi.org/10.1007/S00436-004-1201-X>
- Vriends, M. M., & Heming-Vriends, T. M. (2000). *Hedgehogs*. 95.
- Walker, A. R., Bouattour, A., Camicas, J. . J.-L., Estrada-Peña, A., Horak, I. G., Latif, A. A., Pegram, R. G., & Preston, P. M. (2003). Ticks of domestic animals in municipal abattoir for their technical support. Africa: A Guide to Identification of Tick species. In 2003 (Issue JANUARY). Bioscience Reports, Edinburgh. www.biosciencereports.pwp.blueyonder.co.uk
- Weisburg, W. G., Dobson, M. E., Samuel, J. E., Dasch, G. A., Mallavia, L. P., Baca, O., Mandelco, L., Sechrest, J. E., Weiss, E., & Woese, C. R. (1989). Phylogenetic diversity of the *Rickettsia*. *Journal of Bacteriology*, 171(8), 4202. <https://doi.org/10.1128/JB.171.8.4202-4206.1989>
- Werren, J., Baldo, L., & Clark, M. (2008). Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews. Microbiology*, 6(10), 741–751. <https://doi.org/10.1038/NRMICRO1969>
- Whitman, T. J., Richards, A. L., Paddock, C. D., Tamminga, C. L., Sniezek, P. J., Jiang, J., Byers, D. K., & Sanders, J. W. (2007). *Rickettsia parkeri* Infection after Tick Bite, Virginia. *Emerging Infectious Diseases*, 13(2), 334. <https://doi.org/10.3201/EID1302.061295>
- Williams, T. L., Andrzejewski, D., Lay, J. O., & Musser, S. M. (2003). Experimental factors affecting the quality and reproducibility of MALDI TOF mass spectra obtained from whole bacteria cells. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry 2003 14:4*, 14(4), 342–351. [https://doi.org/10.1016/S1044-0305\(03\)00065-5](https://doi.org/10.1016/S1044-0305(03)00065-5)
- Wójcik-Fatla, A., Zając, V., Cisak, E., Sroka, J., Sawczyn, A., & Dutkiewicz, J. (2012). Leptospirosis as a tick-borne disease? Detection of *Leptospira* spp. in *Ixodes ricinus* ticks in eastern Poland - PubMed. *Ann Agric Environ Med*., 19(4), 656–659. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23311784/>
- Wroot, A. J. (1984). *Feeding ecology of the European hedgehog *Erinaceus europaeus**. Royal Holloway, University of London.
- Yssouf, A., Almeras, L., Raoult, D., & Parola, P. (2016). Emerging tools for identification of arthropod vectors. In *Future Microbiology*. <https://doi.org/10.2217/fmb.16.5>
- Yssouf, A., Flaudrops, C., Drali, R., Kernif, T., Socolovschi, C., Berenger, J. M., Raoult, D., & Parola, P. (2013). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for rapid

- identification of tick vectors. *Journal of Clinical Microbiology*.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02665-12>
- Yssouf, A., Socolovschi, C., Flaudrops, C., Ndiath, M. O., Sougoufara, S., Dehecq, J. S., Lacour, G., Berenger, J. M., Sokhna, C. S., Raoult, D., & Parola, P. (2013). Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight Mass Spectrometry: An Emerging Tool for the Rapid Identification of Mosquito Vectors. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072380>
- Yssouf, A., Socolovschi, C., Leulmi, H., Kernif, T., Bitam, I., Audoly, G., Almeras, L., Raoult, D., & Parola, P. (2014). Identification of flea species using MALDI-TOF/MS. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 37(3), 153–157. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2014.05.002>
- Zaidi, S., Bouam, A., Bessas, A., Hezil, D., Ghaoui, H., Ait-, K., Drancourt, M., Bitam, I., Ait-Oudhia, K., Drancourt, M., Bitam, I., & Nationale Supérieure Vétérinaire, E. (2018). Urinary shedding of pathogenic *Leptospira* in stray dogs and cats , Algiers : A prospective study. *PLoS ONE*, 13(5), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197068>
- Zurita, A., Djeghar, R., Callejón, R., Cutillas, C., Parola, P., & Laroche, M. (2019). Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry as a useful tool for the rapid identification of wild flea vectors preserved in alcohol. *Medical and Veterinary Entomology*, 33(2), 185–194. <https://doi.org/10.1111/MVE.12351>
- Zurita, Antonio, Benkacimi, L., Karkouri, K. El, Cutillas, C., Parola, P., & Laroche, M. (2021). New records of bacteria in different species of fleas from France and Spain. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 76, 101648. <https://doi.org/10.1016/J.CIMID.2021.101648>

ANNEXES

ANNEXE 01 : Le protocole de la préparation du MALDI-TOF/MS & Protocole de biologie Moléculaire

MALDI-TOF/MS selon Williams *et al.*(2003)

1-Nettoyage de la cible (plaque métallique)

- Rincer la cible sous l'eau chaude du robinet en frottant avec du papier de précision (type kim wipes) afin de ne pas la rayer . Et Rincer avec de l'éthanol à 70% en frottant avec du papier de précision.
- Répéter la première étape.
- Placer la cible dans un petit réservoir en inox ou céramique et la recouvrir d'éthanol 70% .
- Laisser agir pendant 15 minutes puis éliminer l'éthanol dans la poubelle appropriée.
- Déposer sur la cible 500 µl de TFA 80 %, frotter avec du papier de précision.
- Rincer la cible avec de l'eau HPLC et laisser sécher 15 minutes.

2-Préparation de la matrice

- Dans un tube polypropylène 1.5ml, introduire 02pointes de spatules de HCCA(alpha-cyano-4-hydroxy-cinnamic acid)
- Ajouter 500 µl d'acétonitrile
- Ajouter 250 µl de TFA à 10%
- Ajouter 250 µl d'eau HPLC
- vortexer ou secouer vigoureusement
- Soniquer 10 min plus Centrifuger 5 min à 13000g
- Transférer le surnageant dans un tube polypropylène 15ml propre, la matrice est prête à être utilisée.

3-Dépôt des échantillons : Compléter le plan de la cible MALDI utilisée en indiquant la référence des échantillons déposés.

-se placer sous hotte PSM avec des gants.

- Déposer 1µl d'échantillon dans la zone appropriée d'une façon la plus homogène possible et de façon à obtenir une fine couche sur la cible (support métalliques en acier inoxydable avec 96 puits à l'aide d'une pointe de cône. Pour chaque spécimen, on fait 4 spots pour réduire le risque d'erreur.

- Déposer 1µl de matrice sur chaque spot.

- Laisser sécher à température ambiante

4-Insertion de la cible et lancement du spectromètre de masse

- Introduire la plaque (la cible) dans le Microflex.

- Remplir la fiche du logiciel MALDI Biotyper Automation Control.

- Lancer le spectromètre de masse : Microflex

Biologie Moléculaire

1-qPCR Real time PCR):Elle est réalisée sous conditions aseptiques pour éviter toute contamination (sous hotte à flux laminaire).Les constituants du mix et leurs volumes nécessaires pour un seul échantillon sont exprimés comme suit :

q PCR	15µl+5µl ADN	
Mix Roche (2x)	10µl	
H2O	3µl	
Sonde 5µM		0.5µl
Amorce F 20µM		0.5µl
Amorce R 20µM		0.5µl
UDG		0.5µl

Nous ajoutons deux témoins :

- Témoin négatif : 5µl d'eau distillé stérile avec 20µl du mix.
- Témoin positif : 5µl d'ADN positif avec 20µl du mix

2-PCR STANDARD 20µl+5µl ADN

Ampli Taq Gold master mix (2x)	12.5µl
--------------------------------	--------

H2O	6µl
Amorce F 20µM	0.75µl
Amorce R 20µM	0.75µl

Nous ajoutons deux témoins :

- Témoin négatif : 5µl d'eau distillé stérile avec 20µl du mix.
- Témoin positif : 5µl d'ADN positif avec 20µl du mix

3-Séquençage

Mix de séquençage 6µl+4µl ADN purifié

Bigdye	1µl
Tampon BDV1	1.5µl
Amorce 10µM	0.5µl
H2O	3µl
ADN purifié	4µl

4-Electrophorèse d'ADN sur gel d'agarose Elle permet de séparer les molécules biologiques soit selon leurs charges, soit selon leurs poids moléculaires. L'application d'un champ électrique élevé à l'échantillon, fait migrer les molécules constitutives selon leurs charges.

- Préparation du gel d'agarose

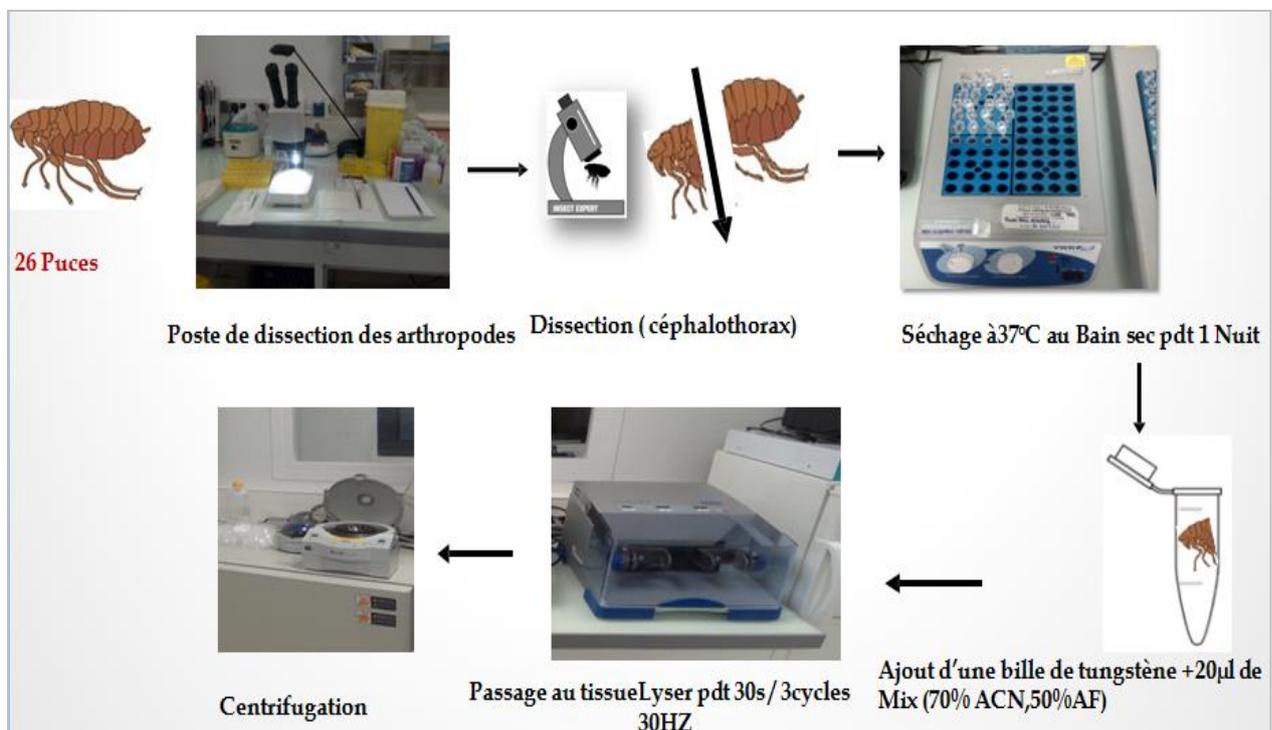
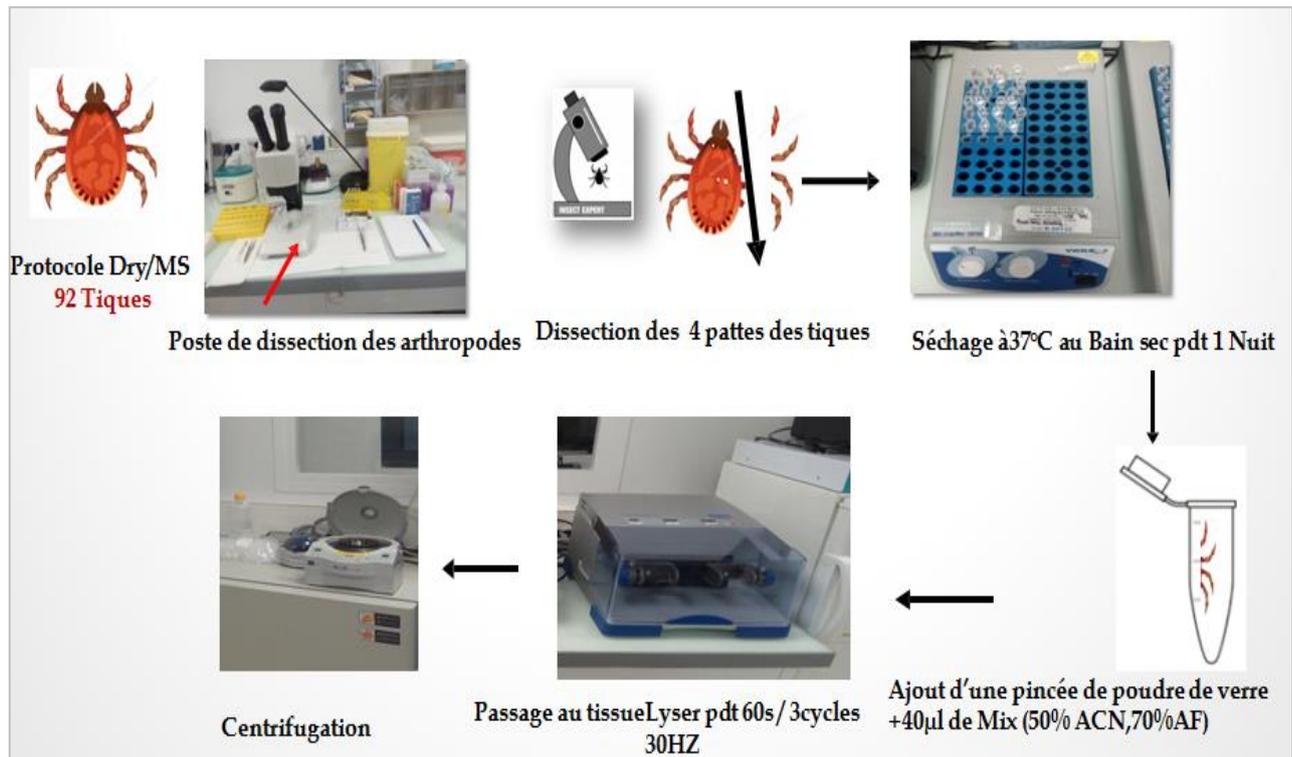
Préparation du gel d'agarose à 1,5% :

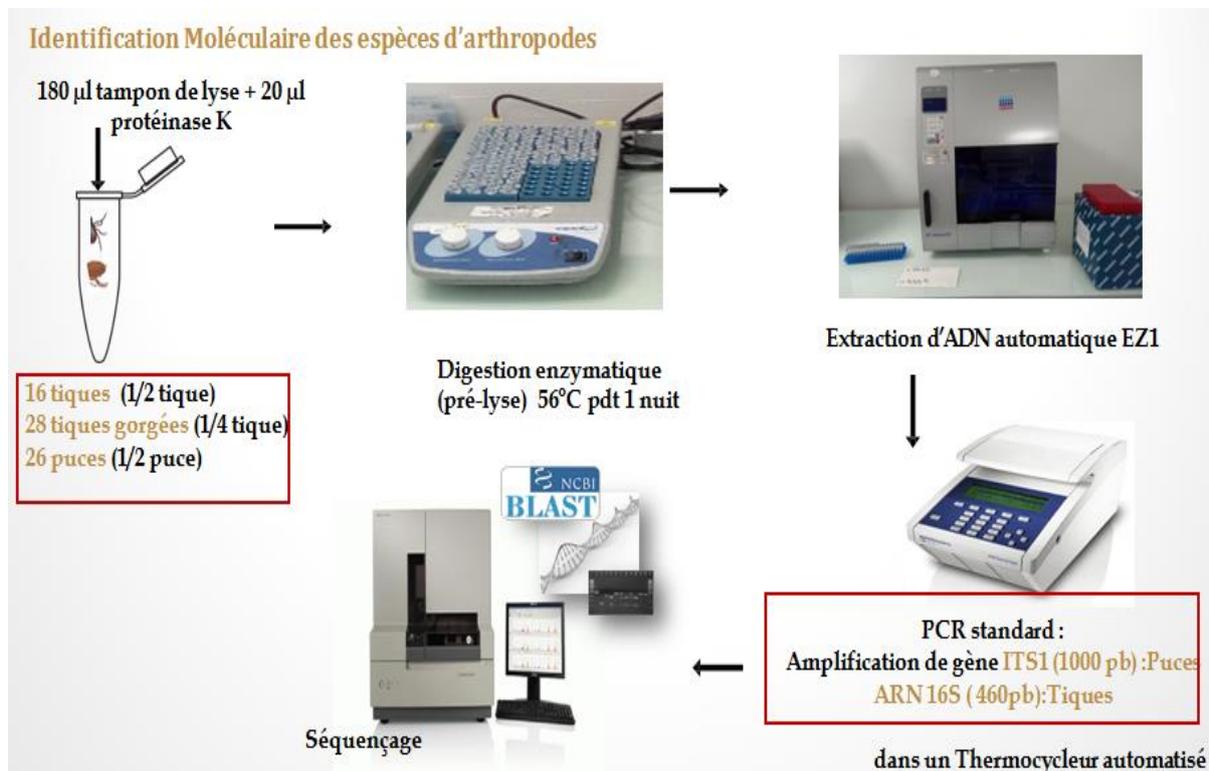
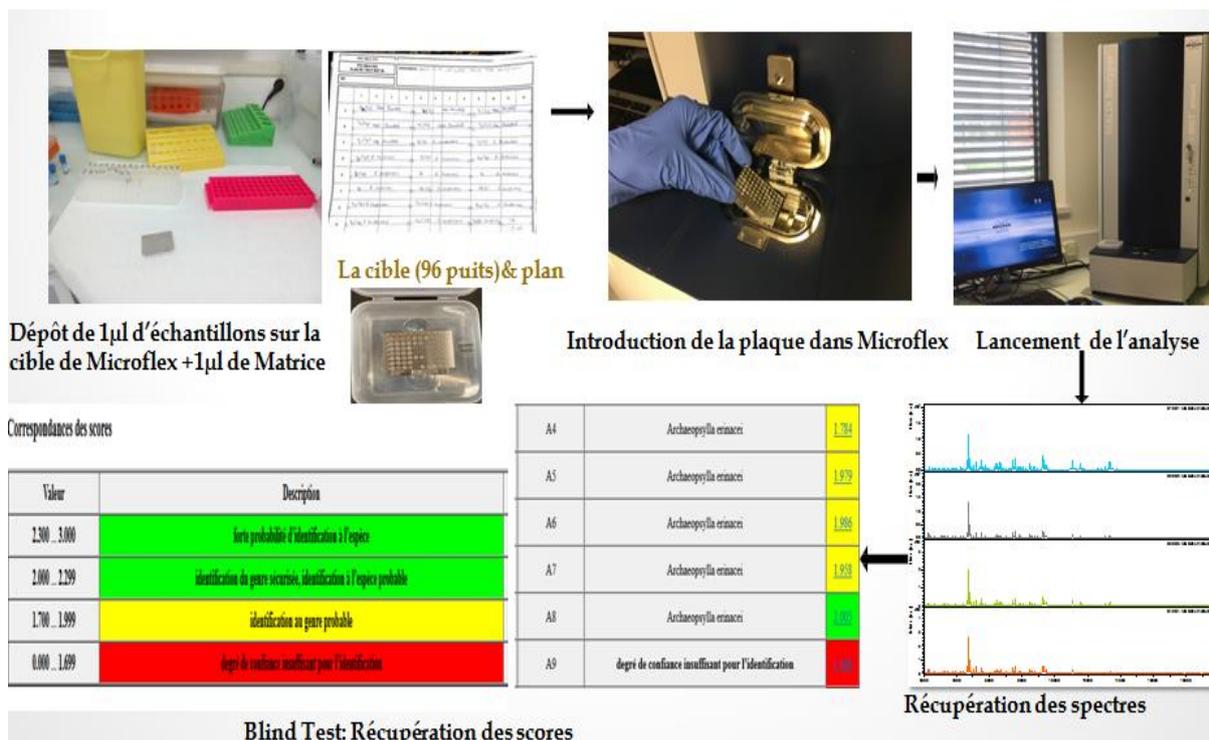
- A l'aide d'une balance peser 3g d'agarose et le mettre dans 200ml de **TBE 0.5X**.
- Faire chauffer le mélange au micro-onde pendant deux minutes jusqu'à ce que le liquide devient limpide.
- Mélanger délicatement puis verser dans un Falcon de 50ml
- Ajouter le 0.5µl de **Sybr Safe** sous hotte.
- Couler le gel dans la cuve après avoir positionné les peignes, au bout de 30 minutes retirer soigneusement les peignes, après polymérisation du gel, et placer le gel (de façon à ce que les puits soient de côté cathode) dans la cuve d'électrophorèse préalablement remplie du tampon TBE 0,5X.

- Dépôt des échantillons

-Révélation des bandes d'ADN : La révélation s'effectue avec un trans-illuminateur UV

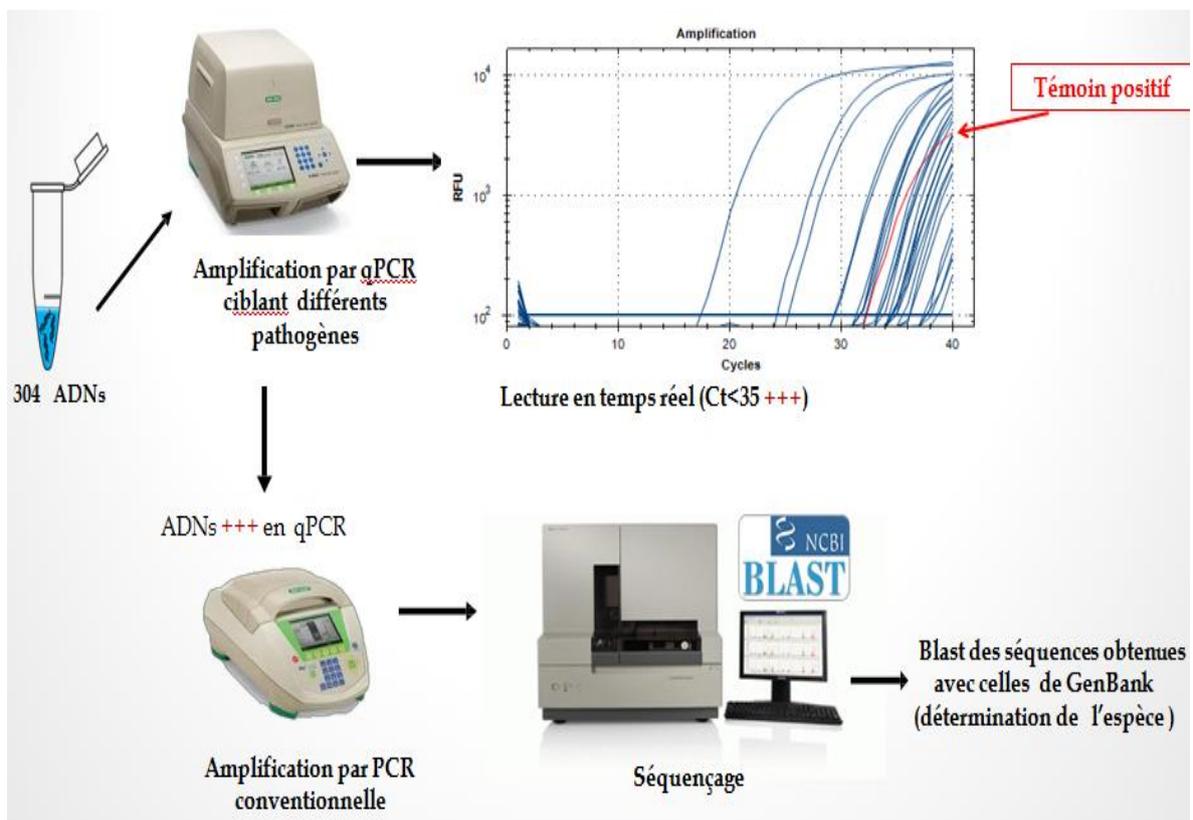
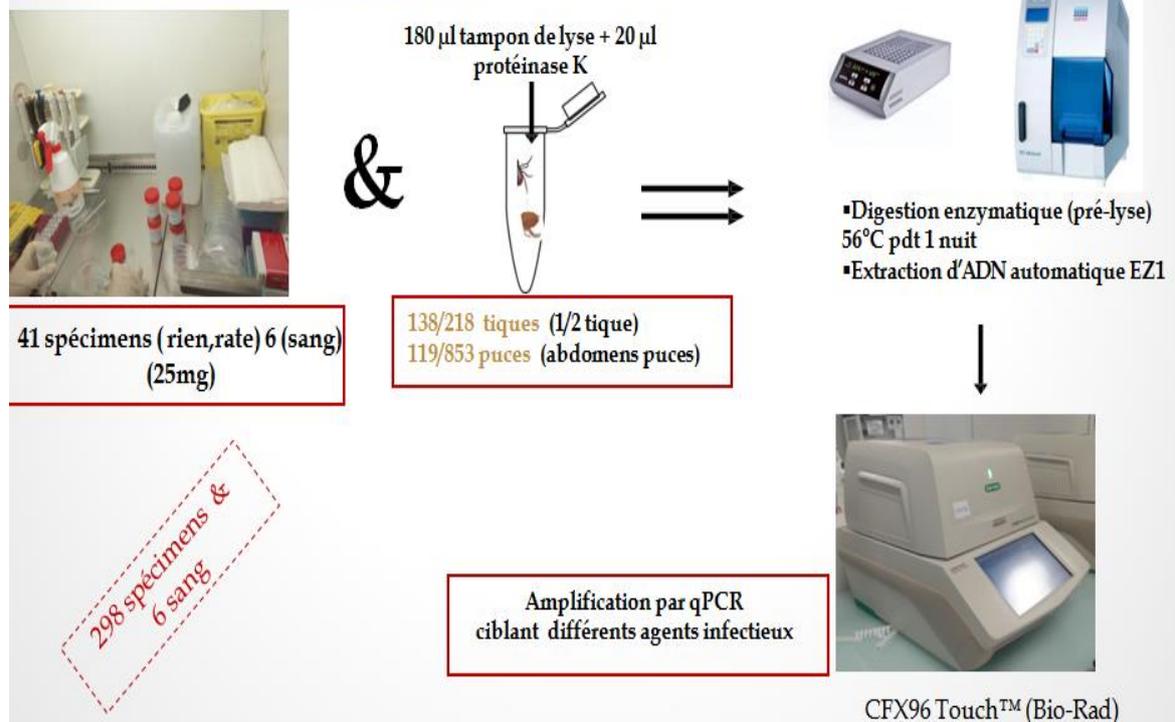
ANNEXE 02 : Résumé des étapes de MALDI-TOF/MS





ANNEXE 03 : Résumé des étapes de détection moléculaire

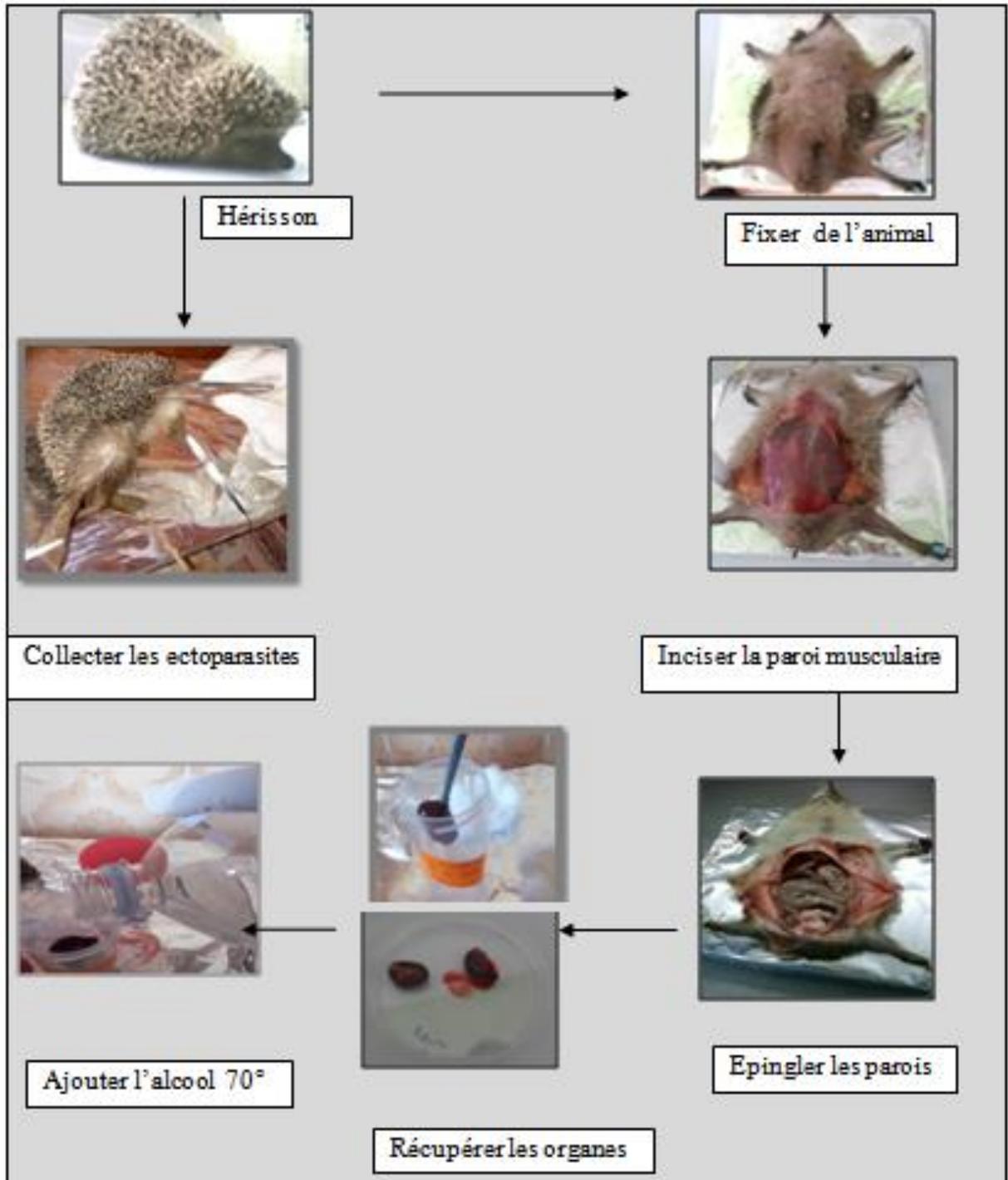
II. Détection Moléculaire des agents pathogènes



ANNEXE 04 : Photographie d'entretien des hérissons & ponction cardiaque



ANNEXE 05 : Protocole de dissection des carcasses des hérissons



ANNEXE 06 : Liste des ectoparasites collectés des cadavres des hérissons

N° Hérisson	Genre d'hérisson	Site de collection	Date de collection	<i>Archaeopsylla erinacei</i>	<i>Haemaphysalis erinacei</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>Rhipicephalus</i> spp.
1	♂	Thigmit (Ahl-El-Ksar)	29/11/2015	1 (1♀)	7 (7♂)	/	/
2	♀	H'lassa (Ouled Rached)	12/03/2016	8 (3 ♂ ,5♀)	4 (4♂)	6 (4♂, 2♀)	/
3	♀	H'lassa (Ouled Rached)	10/04/2016	/	2 (2♂)	/	/
4	♂	Thigmit (Ahl-El-Ksar)	20/04/2016	236 (86♂ ,150♀)	6 (6♂)	/	/
5	♀	H'lassa (Ouled Rached)	04/05/2016	2 (1♀ ,1♂)	4 (4♂)	/	/
6	♀	Thiliwa (Ahl-El-Ksar)	07/05/2016	500 (200 ♂ ,300 ♀)	3 (3♂)	39 (38♂, 1♀)	8♀
7	♂	Thigmit (Ahl-El-Ksar)	09/06/2016	3 (1 ♂ ,2♀)	3 (3♂)	70 (69♂,1♀)	12♀
8	♂	Bechloul	25/06/2016	1 (1♀)	/	12 (11♂,1♀)	1♀
9	♂	Thiliwa (Ahl-El-Ksar)	12/07/2016	/	/	/	/
10	♀	Thigmit (Ahl-El-Ksar)	06/08/2016	/	/	/	/
11	♀	Thiliwa (Ahl-El-Ksar)	12/08/2016	/	/	/	/
12	♂	Thiliwa (Ahl-El-Ksar)	12/08/2016	/	/	/	/
13	♀	Bechloul	12/08/2016	/	/	/	/
14	♂	Ahl-El-Ksar Centre	25/08/2016	/	1 (1♂)	13 (13♂)	6♀
15	♂	Ighil Mehallah (Ahl-El-Ksar)	25/02/2016	/	/	/	/
16	♂	Thalamine (Ahl-El-Ksar)	29/08/2016	/	/	/	/
17	♂	Thalamine (Ahl-El-Ksar)	29/08/2016	/	/	/	/
18	♀	Oued eddous (Bouira)	02/09/2016	45 (19♂, 26♀)	/	1 (1♂)	/
19	♂	Thiliwa (Ahl-El-Ksar)	06/02/2017	/	/	/	/
20	♀	Thiliwa (Ahl-El-Ksar)	17/05/2017	55 (20♂, 35♀)	7 (7♂)	/	1♀
21	♂	H'lassa (Ouled Rached)	10/06/2017	2 (1♂, 1♀)	2 (2♂)	10 (10♂)	/
Total				853	39	151	28

ANNEXE 07 : Résumé graphique des Co-infections

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
<i>Coxiella burnetii</i>	Green		Yellow			Yellow	Green	Red	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow	Yellow			Yellow		Red	Yellow	Green	Yellow
<i>Leptospira spp.</i>		Yellow				Yellow	Green			Yellow	Yellow			Yellow					Yellow		
<i>Leptospira interrogans</i>																	Yellow			Yellow	
<i>Bartonella spp.</i>						Red	Green					Yellow		Green				Green		Green	Green
<i>Rickettsia spp.</i>	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Green						Green						Green	
<i>Rickettsia felis</i>		Green		Green	Green	Green	Green							Green				Green		Green	Green
<i>Rickettsia massiliae</i>		Green				Green	Green	Green						Green						Green	Green
<i>Borrelia spp.</i>																					
Anaplasmataceae				Red		Green	Red	Red	Yellow										Red	Yellow	
<i>Wolbachia spp.</i>		Green		Green	Green	Green	Green							Green					Green		Green
<i>Ehrlichia spp.</i>				Green			Green														

Hérissons avec ectoparasites

Seuls les organes(+)

Seuls les arthropodes(+)

Organes et arthropodes(+)

ANNEXE 08: Numéro d'accès à GENBANK & Résultats de détection des microorganismes dans les organes des hérissons et ses ectoparasites associés

(-) : échantillon négatif ; (/) Non testé.

Espèce	Gène séquencé	Nombre des sequences déposées	Numéro d'Accès à GenBank
<i>Haemaphysalis erinacei</i>	16S	6	MW805245-MW805250
<i>Rhipicephalus sanguineus s.l.</i>	16S	10	MW805768-MW805777
<i>Archaeopsylla erinacei</i>	ITS1	23	MW795568-MW795590
BACTERIES			
<i>Bartonella</i> spp.	<i>gltA</i>	2	MZ042796, MZ042797
		4	
<i>Ehrlichia</i> spp.	<i>ftsZ</i>		MZ042792 - MZ042795
	23S <i>Anaplasmataceae</i>	4	MZ026791 - MZ026794
		3	
	<i>groEL</i>		MZ042798 - MZ042800
<i>Leptospira</i> spp.	<i>rpoB</i>	2	MZ055375, MZ055376
<i>Rickettsia</i> spp.	<i>ompA</i>	2	MZ064523, MZ064524
<i>Wolbachia</i> spp.	23S <i>Anaplasmataceae</i>	9	MZ092868 - MZ092876

Bactérie% (Positive/Testée)	Rate	Reins	<i>Archaeopsylla erinacei</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>Haemaphysalis erinacei</i>	Total
<i>Rickettsia</i> sp.	-	-	87/119	58/106	21/32	55.7% (166/298)
<i>Rickettsia felis</i>	/	/	68/87	/	/	22.8% (68/298)
<i>Rickettsia massiliae</i>	/	/	/	40/58	/	13.4% (40/298)
<i>Uncultivated Rickettsia</i> spp.	/	/	/	-	2/32	0.67% (2/298)
<i>Leptospira</i> sp.	1/20	7/21	-	2/78	-	3.3% (10/298)
<i>Leptospira interrogans</i>	-	2/7	/	-	/	0.7% (2/298)
Anaplasmataceae	5/20	2/21	62/119	3/78	4/32	25.5% (76/298)
<i>Wolbachia</i> sp.	/	/	62/62	-	-	20.8% (62/298)
<i>Ehrlichia</i> sp.	/	/	/	1/3	3/4	1.3% (4/298)
<i>Coxiella burnetii</i>	6/20	11/21	4/119	9/78	15/32	15.1% (45/298)
<i>Bartonella</i> sp.	2/20	-	6/119	-	-	2.7% (8/298)
<i>Uncultivated Bartonella</i> spp.	1/20	/	1/119	/	/	0.7% (2/298)

ANNEXE 9 : Amorces et sondes utilisées pour la PCR en temps réel et standard.

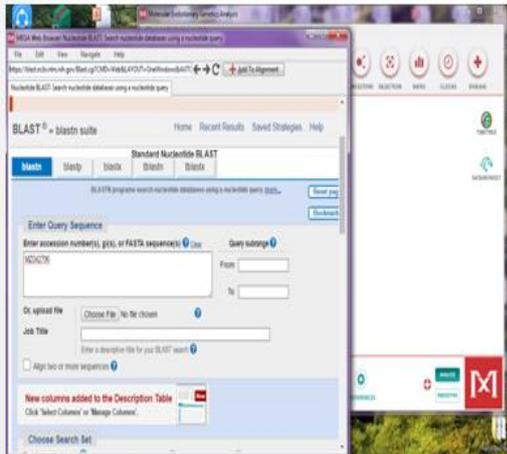
Microorganismes	Fragment ciblé	Amorces F, R (5'-3') et sondes P (5'-6FAM-3'-TAMRA)
<i>Rickettsia</i> spp. (Spotted fever group)	<i>gltA</i> (<i>RKND03</i>)	F_GTGAATGAAAGATTACACTATTTAT R_GTATCTTAGCAATCATTCTAATAGC P_CTATTATGCTTGCGGCTGTTCGGTTC
<i>Rickettsia felis</i>	<i>Phosphatase gene</i>	Rfel_phosp_MBF_GCAAACATCGGTGAAATTGA Rfel_phosp_MBR_GCCACTGTGCTTCACAAACA Rfel_phosp_MBP_CCGCTTCGTTATCCGTGGGACC
<i>Rickettsia typhi</i>	<i>Glycosyl-transferase</i>	Rpr331F_TGCTTCATGGGCAATGTCTG Rpr331R_TTGAGCATAAACTGCCCTGC Rpr331P_CGCTGGATTATCAAAGAATTAGCACG
<i>Rickettsia massiliae</i>	<i>Hypothetical protein</i>	R.massi 9666-F_CCAACCTTTTGTGTTGCAC R.massi 9666-R_TTGATCAGTGTGACGGACT R.massi 9666-P_CACGTGCTGCTTATAACCAGCAAACA
<i>Rickettsia conorii</i>	<i>Hypothetical protein RC0743</i>	F_TTTTGGGGTAGCACATTTTCAA R_TTCGCCGTAACGTGCTGTAG P_GGAAGATTTGCAGCAAATGCTTGGTG
<i>Rickettsia aeschlimannii</i>	<i>Sca1</i>	R_aesSca1 F_AAGCGGCACTTTAGGTAAAGAAA R_aesSca1 R_CATGCTCTGCAAATGAACCA R_aesSca1 P_TGGGGAAATATGCCGTATACGCAAGC
<i>Bartonella</i> spp.	<i>Barto ITS2</i>	F_GATGCCGGGGAAGGTTTTTC R_GCCTGGGAGGACTTGAACCT P_GCGCGCGCTTGATAAGCGTG
<i>Borrelia</i> spp.	<i>Bor ITS4</i>	F_GGCTTCGGGTCTACCACATCTA R_CCGGGAGGGGAGTGAAATAG P_TGCAAAGGCACGCCATCACC
<i>Leptospira</i> spp.	<i>16S</i>	F_CCCGCGTCCGATTAG R_TCCATTGTGGCCGRACAC P_CTCACCAAGGCGACGATCGGTAGC
<i>Coxiella burnetii</i>	<i>IS1111</i>	F_CAAGAAACGTATCGCTGTGGC R_CACAGAGCCACCGTATGAATC P_CCGAGTTCGAAACAATGAGGGCTG

	<i>IS30A</i>		F_CGCTGACCTACAGAAATATGTCC R_GGGGTAAGTAAATAATACCTTCTGG P_CATGAAGCGATTTATCAATACGTGTATG
Anaplasmataceae	<i>23S rRNA</i>		F_TGACAGCGTACCTTTTGCAT R_TGGAGGACCGAACCTGTTAC P_GGATTAGACCCGAAACCAAG
Wolbachia spp.	<i>23S</i>		F_CCAAATTACAGCTAAGTGG R_AGTGAGCTGTTACGCTTTCT P_AGTGAGCTGTTACGCTTTCT
Standard PCR			
Rickettsia spp.	<i>ompA</i> (632 bp)		190-70_F_ATGGCGAATATTTCTCCAAAA 190-701_R_GTTCCGTTAATGGCAGCATCT
Bartonella spp.	<i>gltA</i> (200 bp)		F_ACGTCGAAAAGAYAAAAATG R_GTAATRCCAGAAATARAAATC
	<i>ftsZ</i> (333 bp)		F_FTSZDIR_CCGTGAATAATATGATTAATGC R_FTSZREV_TTGAAATGGCTTTGTCACAAC
Leptospira spp.	<i>rpoB</i> (592 bp)		Lept 1900F_CCTCATGGGTCCAACATGCA Lept 2500 R_CGCATCCTCRAAGTTGTAWCCTT
Anaplasmataceae	<i>23S rRNA</i> (485 bp)		F_GTTGAAAARACTGATGGTATGCA R_TGCAAAGGTACGCTGTCAC
Ehrlichia spp.	<i>groEL</i> (590 bp)		Ehr-groEL-F_GTTGAAAARACTGATGGTATGCA Ehr-groEL-R_ACACGRTCTTTACGYTCYTAAAC
Tiques	<i>16S</i> (460 bp)		F_CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT R_GC TCAATGATTTTTTAAATTGCTGT
Puces	<i>ITS1</i> (1000 bp)		F_GTA CAC ACC GCC CGT GCG TAC T R_GCT GCG TTC TTC ATC GAC CC Sen-ITS2

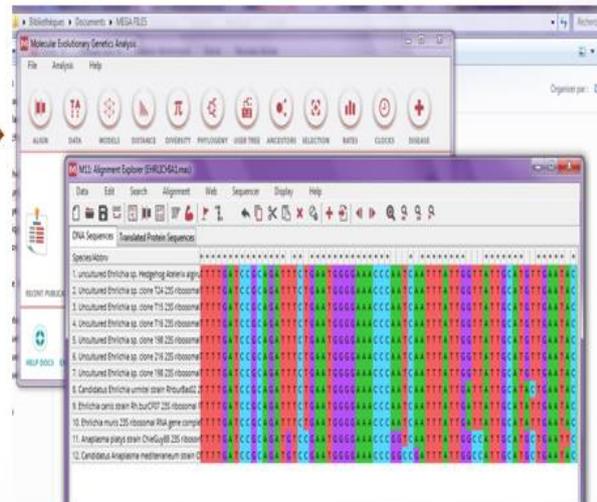
ANNEXE 10: Résumé des étapes de construction de l'arbre phylogénétique

III. Analyse phylogénétique (Molecular Evolutionary Genetics Analysis (Software))

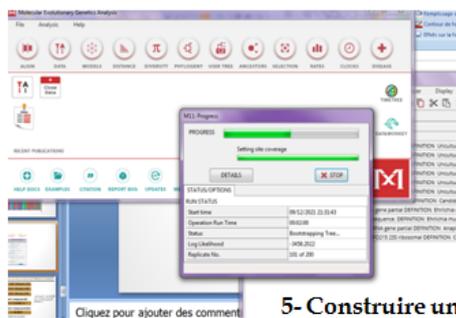
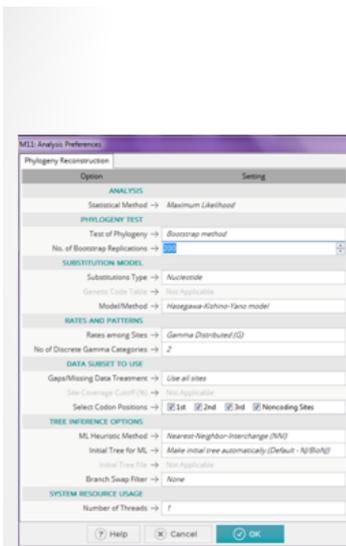
1-Exporter les séquences FASTA de NCBI vers le logiciel MEGA x



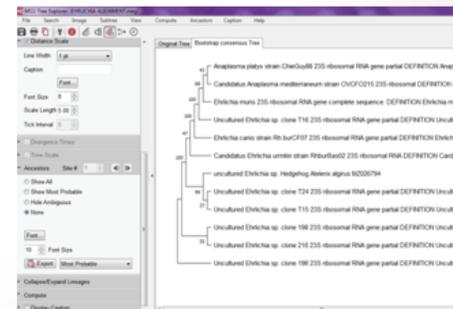
2-Aligner les séquences exportées & inspecter l'alignement



3-Couper les séquences en excès & enregistrer l'alignement



5- Construire un cladogramme



Arbre phylogénétique

4-Définir les paramètres de construction de l'arbre

- Méthode de correction de distance: Maximum like-hood
- Bootstrap méthode (200 réplactions)
- Type de modèle (kimura -2 parameter)
- Valeurs de bootstrap : sup 60%

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Article I

Contribution to the Monitoring of *Leptospira* in Wild Animals (Hedgehog of Bouira District)

Auteurs: Nawal Aouadi, Raouf Mensah Tonyi, Sadjia Abbas, Idir Bitam, Karim Arab

Acta Scientific Nutritional Health (ASNH)

IF: 1.034



Contribution to the Monitoring of *Leptospira* in Wild Animals (Hedgehog of Bouira District)

Aouadi Nawal^{1*}, Mensah Tonyi Raouf², Abbas Sadjia⁴, Bitam Idir³ and Arab Karim¹

¹Department of Biology, VALCORE Research Laboratory, University of M'hamed Bougara Boumerdès, Algeria

²Ecole Supérieure des Techniques Biologiques de l'université de Lomé, Togo

³Higher School of Food Sciences and Agri-Food Industries (ESSAIA), El Harrach, Algiers, Algeria, Aix Marseille Univ, IRD, VITROME, IHU Mediterranee Infection, Marseille, France

⁴Department of biology, University of M'hamed Bougara, Algeria

*Corresponding Author: Aouadi Nawal, Department of Biology, VALCORE Research Laboratory, University of M'hamed Bougara Boumerdès, Algeria.

Received: March 25, 2021

Published: April 27, 2021

© All rights are reserved by Aouadi Nawal, et al.

Abstract

Leptospirosis is an anthroponotique disease of worldwide distribution with tropical dominance. It is caused by a pathogenic bacterium *Leptospira interrogans* which her primary reservoirs are rodents that shed the bacteria in the urine. *Leptospira* is wide-spread in the environment (freshwater, moist soil, sludge...).

This study was carried out at Pasteur Institute of Algiers PIA's laboratory, the ecology of vector systems department in different regions of Bouira district focused on the detection of *leptospira* spp in different samples: blood, organs, and urine of wild-caught animals (hedgehogs).

After analysis of various samples (9 hedgehogs) in regions M'chedallah, Raffour, and Ahl- el -Ksar in 2012, we were able to isolate *leptospira* by the bacteriological test (culture of urine, liver, and kidney) 22.22% of positivity, Test of thermo- resistant antigen (33.33% of positivity) and Microscopic-Agglutination-Test (0%). These diagnostic approaches appear to be complementary

Keywords: Leptospirosis; Anthroponosis; Hedgehog; Bacteriological Test; Serological Test; Environment

Abbreviations

TR test: Test of Thermo-Resistant Antigen/Macro-agglutination Test; MAT: Microscopic-Agglutination-Test; EMJH: Ellinghausen, Mc Cullough, Johnson et Harris MEDIUM; DFM: Dark Field Microscopy

Introduction

Leptospirosis is a neglected anthroponosis disease of global distribution, contagious affecting animals and humans and caused by the spirochetal bacterium "*Leptospira*" [1,2].

The collected Ticks and fleas are stored in tubes containing Ethanol 70° to avoid dryness that weakens strongly the specimens. We mention the area where ticks and fleas were collected and the collection date, on each tube.

Samples' collection

We perform a cardiac puncture to collect blood in a sterile dry tube. This will allow us to do a serological study, after the death of the animal with Ether soaked cotton, we withdraw 0.5 ml or more of urine than we retrieve the kidneys, the liver, and a total of 36 specimens were recuperated from 9 hedgehogs.

Bacterial culture

We proceed on direct reading of drop of urine with the dark field microscopy (DFM) to search for *Leptospira*, and then we inoculate the organs (kidneys and liver) in the EMJH medium followed by homogenization by the vortex, we Incubate at 29°C in the dark due to the sensitivity of this bacterium to light, the observations of the cultures are weekly and this on dark-field microscopy (magnification x40).

Microscopic examination of a drop is enough to recognize the germ by their mobility and morphology (thin filaments). A two-month observation period is required before concluding the negativity of the culture.

Test of thermo-resistant antigen

It is a microscopic agglutination reaction on slide that uses a thermo-resistant antigen manufactured and marketed by Bio-Rad (France). On a clean slide, drop 35 µl of pure serum to be tested with 35 µl of a thermo-resistant antigen reactive then carefully mix the serum and the antigen by animating the blade of a rotary motion for about 4 minutes. The positive reaction is concluded by the observation of more or less large clusters on the periphery of serum, the absence of this agglutination suggest a negative result.

Test of reference (MAT)

MAT is a suitable tool for epidemiological surveys, it help determine the infection sarovars during outbreak [18]. It consists in searching agglutination between Antigen (*Leptospira* strain

and Antibody (serum hedgehogs). The experiment consists of two parts: qualitative and quantitative MAT.

We execute a quantitative MAT to determine the serum titer of each of the concerned antigens, in the case of a positive reaction with the qualitative MAT [19].

Molecular test

It includes DNA extraction from kidneys samples, Verification of purity and the reliability of the extraction technique by simple electrophoresis without PCR amplification followed by PCR and finishes with a revelation of the DNA bands by a trans-illuminator. A total volume of 100 µl of DNA was extracted from 9 kidney samples according to the manufacturer's recommendations (QIA amp de QIAGEN (QIAGEN- Germany). The primers sequences and fusion temperature of genes amplified by PCR are illustrated in table 1.

Bacterium	Gene (ampli-con size)	Primers	Sequence	Tm
<i>Leptospira</i>	16Srrs2 taille :542 pb	Lepto F	5' GCG-GCG-AAC-GGG-TGA-CTA-A 3'	54°C
		Lepto R	5' GGA-AAG-TTA-TCC-CAG-ACT-C 3'	

Table 1: Details of the targeted sequence (Invitrogen-France).

Lepto F: Primer forward; Lepto R: Primer reverses.

Results and Discussion

The nine hedgehogs were captured in the fields and their surrounding are randomly selected. All the sampled hedgehogs belongs to *Atelerix algirus* (3 females sand 6 males). This study found that the hedgehog is a richly parasitized animal where 180 fleas and 130 ticks were counted in the three regions of Bouira district: Ahl el-Ksar, Raffour and Ilyithène cause they are a perfect hosts for arthropods (Table 2 and figure 4) [20]. The regions of Ahl-el- Ksar and Ilyithène were more parasitized than Raffour because both regions were characterized by a strong rurality, a major river system and the presence of various wild and domestic animals.

Direct observations of the urine of nine Hedgehogs are all negative. This result may be due to a premature urine collection rela-

Hedgehog's region	Number of sampled hedgehogs	Ticks number	Fleas number
Ahl-el-ksar	3	75	23
Raffour	3	26	9
ilyithène	3	29	148
Total	9	130	180

Table 2: The number of the collected arthropods.

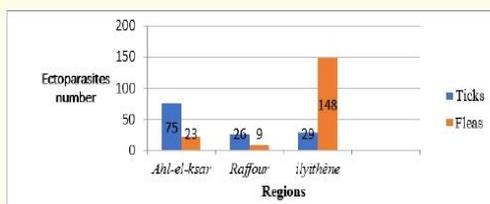


Figure 4: Distribution of ectoparasites compared to regions studied.

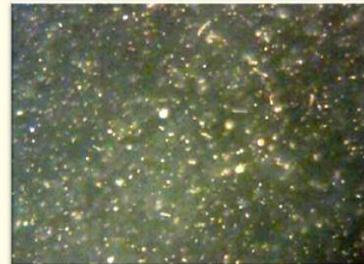


Figure 5: Spirochetes in kidney culture of hedgehog n°7 seen by DFM (G× 40).

This low rate of positivity found is perhaps due to the filtrations we carried out during the cultures; also it could be regeneration time that the bacteria need after changing the medium, this unsure and time consuming technique is hardly reliable for an exact detection [24].

tive to the disease progression [21], or because the *Leptospira* are eliminated intermittently in urine and contaminate the external environment, or it is due to the acidity of urine (pH measured in all urine samples to vary between 4.8 and 6.2).

These results do not prove the definitive absence of *Leptospira* because it takes two months to three of culture to confirm the presence of the latter [22]. Over the two months (8 weeks) of culture, we note the presence of different bacteria. The weekly reading of each culture takes place for two months from the 1st week to 8th. This observation under dark field microscopy magnification (G × 40) helped see spirochetes form of long and very fine filaments and sometimes *bacilli* and *coccobacilli* from 5th and 6th week of kidney and liver culture whom belonged respectively to hedgehogs 7 and 8; the positivity rate is 22% on 09 hedgehogs, indicates the presence of *Leptospira* (Figure 5).

These results are consistent with those from France where they had 5 positive kidney cultures out of 26 samples [23].

The positivity rate of 33.33% for the Macro-agglutination test (TR) does not seem very significant perspective of specificity (Table 3). In fact there is a rapid test for several common serogroups, his lack of sensitivity and specificity does make him a presumptive test [25], which makes it suitable for an accurate diagnosis [26]. Hence this result needs to be confirmed with the MAT test.

Hedgehog's number	Result of TR
1	Positive
2	Negative
3	Negative
4	Positive
5	Negative
6	Negative
7	Negative
8	Negative
9	Positive

Table 3: Results of macro-agglutination test.

All the hedgehogs' sera were negative to the qualitative MAT (no agglutination) (Figure 6). However, it remains the most appropriate test for sero-epidemiological surveys. According to the WHO, the positivity threshold for the MAT reaction is 1/100 [21].

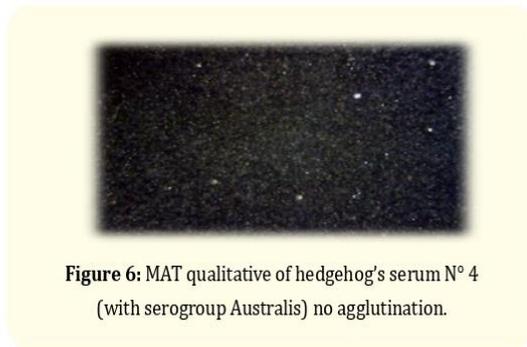


Figure 6: MAT qualitative of hedgehog's serum N° 4 (with serogroup Australis) no agglutination.

According to Ayrál, *et al.* [27] the hedgehog is a carrier of *L. interrogans* Australis, and one can assume that this insectivore is one of the main reservoirs. However, the absence of positive case of this research may be due to the early recovery of the animal serums, as the MAT to become positive 8-10th days after infection [24]. During the 1st week, 2nd to 4th week of infection, MAT's sensibility recorded to be 41%, 96% respectively [28,29]. We should note that the source of water is treated by the leaders of these municipalities which can also prevent contamination of hedgehogs.

Despite the good quality and reliable DNA positive witness, this study could not get a result on the molecular diagnostic PCR, fault of a poor choice of hybridization temperature, Polymerase Chain Reaction is the most useful and effective tool for a rapid and successful detection of *Leptospira*, thanks to this technique a Chinese study reported the presence of this bacterium in hedgehogs' kidney tissues which confirm the role of hedgehogs as host reservoirs of *Leptospira interrogans* [30].

In general, from the positive results of cultures, we can speak of the presence of spirochetes in the tested animals. Serological examination (Macro-agglutination Test), also showed agglutination,

synonymous with the presence of spirochetes without proving that these are *Leptospira*. The Micro-Agglutination Test which is a confirmatory test shows negative results, it can be explained by a less sensitive of this test in early stage of the disease [24]. Therefore, we deduce the absence of *Leptospira* in the tested hedgehogs, perhaps the positive cases it could be *Treponema* that has almost the same features as *Leptospira*.

These results may be due to the mismatch between the period of our research and the seasonal activity of the bacteria. According to the publication of Ward [31], there is a very marked seasonal peak of Leptospirosis from July to November associated with the rainfall season while our research was carried out from December to June [32,33].

Similarly, regular rat eradication campaigns of the municipalities reduce the risk of proliferation of the bacteria in these regions, where the number of hedgehogs' analyzed samples remains inadequate and unrepresentative; this study could be enhanced by another approach by detecting of *Leptospira spp* in hedgehog's arthropods to confirm the role of host reservoir and vector of hedgehogs.

Conclusion

Leptospirosis is the most worldwide spread zoonosis. Potentially deadly, it evolves in an endemo- epidemic mode associated with weather events especially the rainy ones. This work carried out for six months at the Pasteur Institute of Algeria is an epidemiological approach to monitoring the spread of the disease in the one of Algerian provinces through animal reservoirs (hedgehogs) in the environment.

This study was done in the province of Bouira on the three areas is not an accurate reflection of the spread of the disease in it. However due to the severity of the disease and its evolutionary potential related to possible global warming, monitoring remains to be continued in the provinces at risk and also in others, given that the country is endemic for leptospirosis and human cases occur almost every year.

Acknowledgements

The authors wish to thank Mrs Amara-khorba for her contribution and professional assistance during the study as well as we gratefully thank all the member of Pasteur institute of Algiers annex Hamma especially department of ecology of vectors systems.

Conflict of Interest

None.

Bibliography

1. J Koko., *et al.* "Leptospirosis in children in Libreville : First case report , a difficult diagnosis L eptospirose de l ' enfant à Libreville : difficultés diagnostiques , à propos d ' un cas". *Bulletin de la Société de pathologie exotique* 95 (2002): 394-396.
2. C Goarant. "Leptospirosis : risk factors and management challenges in developing countries". *Research and Reports in Tropical Medicine* 7 (2016): 49-62.
3. P N Levett. "Leptospirosis Leptospirosis". *Clinical Microbiology Reviews* 14.2 (2001): 296-326.
4. N Philip., *et al.* "Leptospira interrogans and Leptospira kirschneri are the dominant Leptospira species causing human leptospirosis in Central Malaysia". *PLOS Neglected Tropical Diseases* 265 (2020): 1-14.
5. J Guglielmini., *et al.* "Genus-wide Leptospira core genome multilocus sequence typing for strain taxonomy and global surveillance". *PLOS Neglected Tropical Diseases* 13.4 (2019): 1-23.
6. C Coudert., *et al.* "La leptospirose humaine en polynésie Française: Aspects épidémiologiques, cliniques et bactériologiques". *Tropical Medicine* 67.2 (2007): 137-144.
7. H Mohammed and B Reikia. "Diagnostic de la Leptospirose Humaine : Méthodes de Détection de la Maladie Diagnosis of Human Leptospirosis : Methods for Detection of Disease Diagnostic clinique Diagnostic non spécifique". *Les Technol. Lab* 6 (2011).
8. M Haraji., *et al.* "Forme ictérique de la Leptospirose Humaine : présentation d ' un cas à El Jadida, Maroc". *Les Technol. laboratoire* (2011).
9. D Laurent., *et al.* "La leptospirose: Étude clinique et microbiologique à propos de 11 cas". *Médecine et Maladies Infectieuses* 34.1 (2004): 42-47.
10. A R Bharti., *et al.* "Leptospirosis: A zoonotic disease of global importance". *Lancet Infectious Diseases* 3.12 (2003): 757-771.
11. M Afiri., *et al.* "Aspects épidémiologiques, cliniques et évolutifs de 173 cas de leptospirose". *Bulletin de la Société de pathologie exotique* (2013).
12. M Afiri., *et al.* "Renal manifestations of leptospirosis: 88 cases". *Médecine et Santé Tropicales* 23.2 (2013): 234-235.
13. S Derdour., *et al.* "Prevalence of the main infectious causes of abortion in dairy cattle in Algeria". *Journal of Veterinary Research* 61.3 (2017): 337-343.
14. S Zaidi., *et al.* "Urinary shedding of pathogenic Leptospira in stray dogs and cats , Algiers : A prospective study". (2018): 1-11.
15. J Skuballa., *et al.* "European hedgehogs as hosts for *Borrelia* spp., Germany 8". *Emerging Infectious Diseases* 13.6 (2007).
16. J Skuballa., *et al.* "Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) and its ticks". *Vector-Borne and Zoonotic Disease* 10.10 (2010): 1055-1057.
17. J Skuballa., *et al.* "Occurrence of different *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies including *B. afzelii*, *B. bavariensis*, and *B. spielmanii* in hedgehogs (*Erinaceus* spp.) in Europe". *Ticks and Tick-borne Diseases* 3.1 (2012): 8-13.
18. R Niloofa., *et al.* "Diagnosis of leptospirosis: Comparison between microscopic agglutination test, IgM-ELISA and IgM rapid immunochromatography test". *PLoS One* 10.6 (2015).

19. PN Levett. "Usefulness of serologic analysis as a predictor of the infecting serovar in patients with severe leptospirosis". *Clinical Infectious Diseases* 36.4 (2003): 447-452.
20. G Földvári, *et al.* "Ticks and the city: Ectoparasites of the Northern white-breasted hedgehog (*Erinaceus roumanicus*) in an urban park". *Ticks and Tick-borne Disease* 2.4 (2011): 231-234.
21. S Obertin. "Etude clinique et microbiologique à propos de onze cas de leptospirose observés au C.H.U de Nancy entre 1996 et 2003". UHP - Université Henri Poincaré (2006).
22. T Gaillard, *et al.* "Moyens biologiques et stratégie diagnostique de la leptospirose neuroméningée. À propos d'un cas". *Revue de Médecine Interne* 30.4 (2009): 361-364.
23. F Aviat, *et al.* "La leptospirose, zoonose de loisir et zoonose professionnelle: rôle des rongeurs et de l'eau". *Epidémiol santé anim* 45 (2004): 55-60.
24. S V Budihal and K Perwez. "Leptospirosis diagnosis: Competency of various laboratory tests". *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 8.1 (2014): 199-202.
25. M Afiri, *et al.* "Leptospirosis epidemic: 48 cases". *Médecine et Santé Tropicales* 23.2 (2013): 234.
26. PN Levett. "Leptospirosis". *Clinical Microbiology Reviews* 14.2 (2001): 296-326.
27. F Ayrat, *et al.* "Hedgehogs and mustelid species: Major carriers of pathogenic *Leptospira*, a survey in 28 animal species in France (20122015)". *PLoS One* 11.9 (2016).
28. S C Sehgal, *et al.* "LEPTO Dipstick: A rapid and simple method for serodiagnosis of acute leptospirosis". *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 93.2 (1999): 161-164.
29. D Musso and B La Scola. "Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge". *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 46.4 (2013): 245-252.
30. XJ Ma, *et al.* "Detection of *Leptospira interrogans* in Hedgehogs from Central China". *Vector-Borne and Zoonotic Disease* 20.6 (2020): 427-431.
31. M P Ward. "Seasonality of canine leptospirosis in the United States and Canada and its association with rainfall". *Preventive Veterinary Medicine* 56.3 (2002): 203-213.
32. S Pawar, *et al.* "Seasonality of leptospirosis and its association with rainfall and humidity in Ratnagiri, Maharashtra". *International Journal of Research in Health and Allied Sciences* 7.1 (2018): 37.
33. K P Hacker, *et al.* "Influence of rainfall on leptospira infection and disease in a tropical urban setting, Brazil". *Emerging Infectious Diseases* 26.2 (2020): 311-314.

Assets from publication with us

- Prompt Acknowledgement after receiving the article
- Thorough Double blinded peer review
- Rapid Publication
- Issue of Publication Certificate
- High visibility of your Published work

Website: www.actascientific.com/

Submit Article: www.actascientific.com/submission.php

Email us: editor@actascientific.com

Contact us: +91 9182824667

Article II

“Microorganisms associated with the North African hedgehog *Atelerix algirus* and its parasitizing arthropods in Algeria”

Auteurs: Nawal Aouadi, Linda Benkacimi, Adama Zan Diarra, Maureen Laroche, Jean-Michel Bérenger, Idir Bitam, Philippe Parola

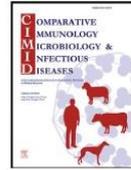
Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases (CIMID)

IF: 2.268



Contents lists available at ScienceDirect

Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cimid

Microorganisms associated with the North African hedgehog *Atelerix algirus* and its parasitizing arthropods in Algeria

Nawal Aouadi^{a,1}, Linda Benkacimi^{b,c,1}, Adama Zan Diarra^{b,c}, Maureen Laroche^{b,c}, Jean-Michel Bérenger^{b,c}, Idir Bitam^{c,d}, Philippe Parola^{b,c,*}

^a Laboratoire de Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques (VALCOR), Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara, Boumerdes, Algeria

^b Aix Marseille Univ, IRD, AP-HM, SSA, VITROME, Marseille, France

^c IHU Méditerranée Infection, 13005 Marseille, France

^d Ecole Supérieure en Sciences de l'Aliment et des Industries Agroalimentaires (ESSAIA), El Harrach, Alger, Algeria

ARTICLE INFO

Keywords:

Hedgehogs
Ticks
Fleas
Microorganisms
Zoonoses
Algeria

ABSTRACT

Hedgehogs are small mammals. They are potential reservoirs of various zoonotic agents. This study was conducted in Bouira, a north-central region of Algeria. A total of 21 *Atelerix algirus* corpses were picked up on roadsides and gardens. Hedgehog kidneys, spleens and ectoparasites were collected. Twelve hedgehogs were infested with ectoparasites, including *Archaeopsylla erinacei*, *Rhipicephalus sanguineus* s.l. and *Haemaphysalis erinacei*. Hedgehog organs and randomly selected arthropods were screened for microorganisms using molecular methods. *Coxiella burnetii* was detected in kidneys, spleens, *A. erinacei*, *Hae. erinacei* and *Rh. sanguineus* s.l. *Leptospira interrogans* was detected in kidneys. *Rickettsia felis* and *Rickettsia massiliae* were detected respectively in *A. erinacei* and in *Rh. sanguineus* s.l. DNA of an uncultivated *Rickettsia* spp. was found in *Hae. erinacei*. *Wolbachia* spp. DNA was detected in fleas. The DNA of potential new *Bartonella* and *Ehrlichia* species were found respectively in fleas and ticks. This study highlights the presence of DNA from a broad range of microorganisms in hedgehogs and their ectoparasites that may be responsible for zoonoses in Algeria.

1. Introduction

Hedgehogs are small spiny-coated mammals. They are a common synanthropic species living in burrows, not only in rural environments, but also in urban and suburban ones [1–3]. They are solitary, nocturnal and omnivorous animals belonging to the Erinaceidae family [1–3]. Five genera and about seventeen species are distributed on different continents, including six species living in the Mediterranean basin: *Atelerix algirus*, *Erinaceus concolor*, *E. europaeus*, *E. roumanicus*, *Hemiechinus auratus* and *Paraechinus aethiopicus*. They are all classified as Least Concern (LC) in the list of species threatened with extinction except *P. aethiopicus* which is classified as Data Deficient (DD) [1–3]. Hedgehogs are often parasitized by fleas, including *Archaeopsylla erinacei*, *Ctenocephalides canis*, *C. felis* and *Leptopsylla segnis* [2–5] and ticks, including *Rhipicephalus sanguineus* s.l., *Haemaphysalis erinacei*, *Hae. parva*, *Ixodes hexagonus*, *I. ricinus* and *Hyalomma excavatum* [2–4,6]. In recent decades, the development of molecular tools has made it possible to identify microorganisms infecting hedgehogs and their ectoparasites

[7]. Previous studies have reported the presence of *Anaplasma phagocytophilum*, the agent of Granulocytic Anaplasmosis in European hedgehogs (*Erinaceus europaeus*), northern white-breasted hedgehogs (*Erinaceus roumanicus*) and their ticks [6,8,9]. Furthermore, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, an emerging tickborne pathogen responsible for a severe atypical infection in humans and hitherto associated only with rodent reservoirs, has been detected in urban *E. roumanicus* hedgehogs from Budapest, Hungary [10]. *Borrelia burgdorferi* s.l., the agent of Lyme disease, has also been detected in *E. roumanicus* and their ticks and in *E. europaeus* [9,11]. Recently, spotted fever group rickettsial agents (*Rickettsia conorii*, *R. massiliae*, *R. siberica* and *R. helvetica*) have been detected in hedgehogs and their ticks [2,9,12–14] and *R. felis* has been reported in fleas collected from hedgehogs in different countries [2,12,14,15]. Other bacteria, such as *Coxiella burnetii*, *Salmonella* spp., *Mycobacterium marinum*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* and *Chlamydia psittaci* [7] as well as some protozoa (*Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii* and *Cryptosporidium*) have also been found in hedgehogs [7,16].

* Correspondence to: Institut Hospitalo-Universitaire Méditerranée Infection, 19–21 Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France.

E-mail address: philippe.parola@univ-amu.fr (P. Parola).

¹ Equal contributors.

<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101726>

Received 22 June 2021; Received in revised form 20 November 2021; Accepted 24 November 2021

Available online 27 November 2021

0147-9571/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.

In Algeria, two different species of hedgehogs have been recorded: The North African hedgehog *Atelerix algirus* and the desert hedgehog *Paraechinus aethiopicus*. They have a different distribution; *A. algirus* lives mainly in the north of the country while *P. aethiopicus* is found most often in the highlands area [17]. Nevertheless, both species can sometimes coexist in the same area, especially in the north of the country. Indeed, in a study conducted by Khaldi et al., 2012 both species have been captured in M'sila a North-eastern region of Algeria [2,18]. A previous study reported the presence of DNA and antibodies against *Leishmania major*, the agent of cutaneous leishmaniasis in *A. algirus* and *P. aethiopicus*, suggesting that these hedgehogs could be a natural reservoir of this zoonosis in Algeria [16]. In addition, *R. felis* DNA has been detected in *A. erinacei* and *C. felis* collected from *A. algirus* and in *A. erinacei* from *P. aethiopicus* [2,5,19], and that of *R. massiliae* and *R. conorii* in *Rh. sanguineus* s.l. sampled from hedgehogs [2,20]. Moreover, *Bartonella elizabethae* and *B. clarridgeiae* have been reported in *A. erinacei* collected on hedgehogs from western Algeria (Oran and Mascara) [21].

Algeria being an endemic region for rickettsioses of the spotted fever group (SFG) as well as for various other zoonoses [2,22], the identification of potential reservoirs and arthropod vectors therefore represents an important step in the prevention of these diseases.

The aim of this work was to investigate the presence of various zoonotic microorganisms in hedgehog organs and in their associated hematophagous arthropods in a north-central region of Algeria.

2. Materials and methods

2.1. Ethical statement

Consent for this study was provided by the University of M'Hamed Bougara, Boumerdes, Algeria. No specific approval of any Institutional Animal Care and Use Committee was needed for this study since the hedgehogs were already dead when picked up and no anesthetic substances were used for animal handling procedures. Prior import authorization of animal samples intended for research from outside the European Union (Algeria) to France has been obtained under the number ER21/17.

2.2. Study areas and collection period

The study was carried out over a period of approximately 3 years (from August 2014 to June 2017) in several villages located in 4 different municipalities of Bouira province in the North-central region of Algeria: Ahl -El-Ksar (Ahl-el-ksar center, Thiliwa, Thigmit, Thalamine and Ighil Mehallah) (36°15'11"N, 4°2'22"E), Ouled Rached (H'lassa and Assif el Khemis) (36°12'43"N, 4°6'38"E), Bechloul (Bechloul center) (36°19'00"N, 4°04'00"E) and Bouira (Oued eddous) (36°22'0"N, 3°52'60"E) (Fig. 1). These municipalities are located at different altitudes (414 m for Bechloul, 489 m for Oued Eddhous, 612 m for Ahl-el-ksar and 918 m for Ouled Rached) and are characterized by significant agricultural activity and the presence of forests. Bouira province has a



Fig. 1. Hedgehog capture sites in Bouira province (Algeria).

Mediterranean climate (Köppen climate classification: Csa) which is characterized by hot, dry summers and mild, wet winters.

2.3. Hedgehog collection and sampling of organs and ectoparasites

Hedgehog corpses were collected by hand either on roadsides for those which were hit by vehicles, in forests or gardens for those which died accidentally poisoned by farmers. They were transported to the biology laboratory of the University Akli Mohand Oulhadj of Bouira where they were identified and thoroughly inspected for ectoparasites by separating their quills. Arthropods were collected from hedgehogs using tweezers in a large, light-colored plastic basin. They were sorted by group, counted, and each group of arthropods from the same hedgehog was immediately placed in the same tube containing 70% ethanol. The spleens and kidneys of each hedgehog were collected and immediately placed separately in sterile vials containing 70% ethanol. All samples were stored at room temperature before being sent to the VITROME laboratory at the IHU Méditerranée Infection, (Marseille, France) for analysis.

2.4. Morphological identification of arthropods

All collected arthropods were morphologically identified to the species level initially in Algeria, using the OPTIKA ST-30, FX-EU 20X binoculars (Via Rigla, Ponteranica BG, Italia) and identification keys [23–25]. Morphological identification was verified at the IHU Méditerranée Infection (Marseille, France) using a Zeiss Axio Zoom V16 stereomicroscope (Zeiss, Marly le Roi, France), a VHX-7000 digital microscope (Keyence, Osaka, Japan) and identification keys [25,26]. Some randomly selected flea specimens were submitted to KOH clearing and a bath of Amman's lactophenol before being mounted in Euparal mounting medium in order to make the morphological criteria more visible. All the information about arthropod species, hedgehog number, gender, collection site and date were codified, marked on sample tubes and summarized in a table (Supplementary Data 1).

2.5. DNA extraction

All hedgehog kidney and spleen samples, 138/218 ticks (including the 28 engorged specimens) and 119/853 fleas have been randomly selected, rinsed in a bath of ethanol followed by distilled water, dissected and subjected to DNA extraction. A piece of approximately 25 mg from each organ, the flea abdomens, half of the unengorged and approximately ¼ of the engorged tick bodies have been transferred individually into 1.5 ml Eppendorf tubes and incubated overnight at 56 °C in 180 µl G2 lysis buffer and 20 µl proteinase K (Qiagen, Hilden, Germany) to allow tissue lysis [27]. DNA was extracted from 200 µl of each sample in a 100 µl eluate using the EZ1 DNA tissue kit (Qiagen) together with the EZ1 robot (Qiagen) according to the manufacturer's instructions. The DNA was either used immediately or stored frozen at – 20 °C until use.

2.6. MALDI-TOF MS identification of collected arthropods

In order to support the morphological identification of arthropods, 92/138 ticks (including 28 engorged specimens) and 26/119 fleas were randomly selected. Tick legs and flea heads and thoraxes with legs were subjected to MALDI-TOF MS analysis, applying previously described protocols for specimens preserved in alcohol [27,28]. one µl of the supernatant of each sample was deposited in quadruplicate on a MALDI-TOF MS steel plate (Bruker Daltonics, Wissembourg, France) and covered after drying with 1 µl of a matrix solution [29]. The target plate was then introduced into the Microflex LT MALDI-TOF mass spectrometer (Bruker Daltonics) to obtain spectra according to the parameters already described [30]. The quality of the obtained spectra (reproducibility, overall intensity and absence of background noise) was evaluated

using Flex analysis v.3.3 (Bruker Daltonics, Germany).

The high-quality spectra were blind tested using MALDI Biotyper v.3.0 software against our in-lab database containing reference spectra of several arthropod species [31] and updated with 2–4 selected reference spectra of each arthropod species [30]. The log score values (LSVs) and MALDI-TOF MS species identification resulting from the database queries were recorded for each tested specimen, to be compared to morphological identification results (Table 1).

2.7. Molecular identification of arthropods

The DNA from twenty-eight engorged and sixteen unengorged tick specimens and twenty-six fleas was randomly selected and subjected to conventional PCR, followed by sequencing in an automated thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), amplifying a fragment of approximately 1000 base pairs of the *ITS1* (internal transcribed spacer) gene and a fragment of 460 base pairs of the tick *16S RNA* gene respectively for the identification of fleas and ticks, as previously described [32,33]. DNA from unambiguously identified specimens of *Rh. sanguineus* s.l. and *Ctenocephalides felis* bred in our laboratory were used as positive controls. A DNA-free PCR mixture was used as a negative control.

2.8. Molecular screening of microorganisms in hedgehogs and their ectoparasites

DNA previously extracted from hedgehog kidneys and spleens, 119 fleas and 138 ticks randomly selected were subjected to quantitative polymerase chain reactions (qPCR) using primers targeting *gltA* for *Rickettsia* spp., *ITS2* for *Bartonella* spp., *ITS4* for *Borrelia* spp., *16S RNA* for *Leptospira* spp., *IS30A* for *Coxiella burnetii* and *23S* for Anaplasmataceae and performed in a CFX96 Touch™ Detection system (Bio-Rad Laboratories, Foster City, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. The reaction mixture composition and the qPCR conditions were the same as those previously described [34]. Each reaction contained negative controls (DNA-free PCR mixture and DNA from a laboratory-bred flea or tick specimen) and a positive control (DNA from bacterial strains cultured in our laboratory). Samples were considered positive when the cycle threshold (Ct) cut-off values were ≤ 35. All positive fleas for the *Rickettsia* spp. *gltA* gene were submitted to a specific qPCR using primers and probe targeting *R. felis* and others targeting *R. typhi*. All *Rickettsia* spp. positive ticks were submitted to specific qPCRs targeting either *R. aeschlimannii* or *R. massiliae* followed by *R. conorii* (depending on the tick species). Similarly, all positive arthropods for the Anaplasmataceae *23S* gene were tested for *Wolbachia* spp., and *C. burnetii* *IS30A* positive samples were subjected to a second test targeting the *C. burnetii* *IS1111* specific gene fragment. Positive samples whose bacterial species could not be confirmed by specific qPCR were subjected to conventional PCR and sequencing for species determination as previously described [31]. Negative and positive controls were used as described above. The sequences of the used primers and probes are listed in Table 2.

Using ChromasPro software version 1.7.7 (Technelysium Pty. Ltd., Tewantin, Australia), the obtained sequences were assembled, analyzed, emended and then blasted against the NCBI GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) to be compared to available reference sequences.

2.9. Phylogenetic analysis

In order to carry out a specific identification, multiple sequence alignments analysis of the obtained partial sequences for *Leptospira* spp. *rpoB*, *Bartonella* spp. *ftsZ*, *Rickettsia* spp. *ompA*, Anaplasmataceae *23S* and *Ehrlichia* spp. *groEL* sequenced genes, together with their corresponding reference sequences available in GenBank, were performed using MEGA version X software (Kumar, Stecher, Li, Knyaz, and Tamura

Table 1
Arthropod morphological, molecular and MALDI-TOF MS identification results.

Arthropod	Morphological identification			Molecular Identification			MALDI-TOF MS identification						
	Species ID	Number of collected specimens	Number of specimens selected for this study	Tested specimens	Good quality sequences	Species ID (BLAST results)	1st Hit GenBank Accession Number (ID %)	Tested samples	Number of specimens with good quality spectra	Number of specimens used for database upgrade	Number of specimens used for blind test	Blind test Correct Species ID	LSV* obtained in blind test analysis
Fleas	<i>Archaeopsylla erinacei</i>	853	119	26	23/26	<i>A. erinacei</i>	LT627362 LT604112 LT576377 (99.77%–100%)	26	24/26	4	20	20/20	1.861 – 2.485
Ticks	<i>Haemaphysalis erinacei</i>	39	32	6	6/6 (100%)	<i>Hae. erinacei</i>	KX901846 KU880549 (97.44%–97.97%)	13	12/13 (92.31%)	2	10	10/10 (100%)	1.926 – 2.226 (average: 2.068)
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> s.l.	151	78	10	10/10 (100%)	<i>Rh. sanguineus</i> s.l.	MG855662 MH018852 KX793742 MW172416 JX997393 KT382469 (99.15%–100%)	51	48/51 (94.12%)	3	45	45/45 (100%)	1.415 – 2.362 (average: 1.916)
	<i>Rhipicephalus</i> spp. (Engorged ticks)	28	28	28	21/28 (75%)	<i>Rh. sanguineus</i> s.l.	KX793742 KT382469 MH630344 KT382465 JX997393 MH018852 (97.66%–100%)	28	28/28 (100%)	0	28	28/28 (100%)	1.451 – 2.085 (average: 1.856)
Total		1071	257	70	60/70 (85.71%)			118	112/118 (94.91%)	9	103	103/103 (100%)	1.415 – 2.485

(* LSV: Logarithmic Score Value.

Table 2
Primers and probes used for real-time and conventional PCR.

Microorganisms	Targeted fragment	Primers F, R (5'–3') and Probes P (5'–6FAM-3'-TAMRA)	References
Real-Time PCR			
<i>Rickettsia</i> spp. (Spotted fever group)	<i>gltA</i> (<i>RKND03</i>)	F_GTGAATGAAAGATTACACTATTTAT R_GTATCTTAGCAATCATTCTAATAGC P_CTATTATGCTTGCGGCTGCGGTTTC	[89]
<i>Rickettsia felis</i>	<i>Phosphatase gene</i>	Rfel_phosp_MBF_GCAAACATCGGTGAAATTGA Rfel_phosp_MBR_GCCACTGTGTTTACAAACA Rfel_phosp_MBP_CCGCTTCGTTATCCGTTGGGACC	[68]
<i>Rickettsia typhi</i>	<i>Glycosyl- transferase</i>	Rpr331F_TGCTTCATGGGCAATGTCTG Rpr331R_TTGAGCATAAAAAGTCCCTGCG Rpr331P_CGCTGGATTATCAAAAAGATTAGCAGG	[90]
<i>Rickettsia massiliae</i>	<i>Hypothetical protein</i>	R.massi_9666-F_CCAACCTTTTGTGTTGTCAC R.massi_9666-R_TTGATCAGTGTGACGGACT R.massi_9666-P_CACGTGCTGTTATACCGAAACA	[91]
<i>Rickettsia conorii</i>	<i>Hypothetical protein RC0743</i>	F_TTTGGGGTAGCACATTTTCAA R_TTCGCGTAACTGCTGTAG P_GGAAGATTGCGCAAAAAGTCCCTGGTG	[89]
<i>Rickettsia aeschlimannii</i>	<i>Sca1</i>	R_aesSca1_F_AAGCGCACTTTAGTAAAGAAA R_aesSca1_R_CATGCTCTGCAATGAACCA R_aesSca1_P_TGGGAAATATGCGGTATACGCAAGC	[91]
<i>Bartonella</i> spp.	<i>Barto ITS2</i>	F_GATGCCGGGAAGGTTTTTC R_GCCTGGGAGGACTTGAACCT P_GCGCGCGCTTGATAAGCGTG	[92]
<i>Borrelia</i> spp.	<i>Bor ITS4</i>	F_GGCTTCGGGTCTACCACATCTA R_CCGGGAGGGAGTGAAATAG P_TGCAAAAAGGCACGCCATCACC	[91]
<i>Leptospira</i> spp.	<i>16S</i>	F_CCGCGTCCGATTAG R_TCCATTGTGGCGGRACAC P_CTCACCAAGGCGACGATCGGTAGC	[93]
<i>Coxiella burnetii</i>	<i>IS1111</i>	F_CAAGAAACGTATCGCTGTGGC R_CACAGAGCCACCGTATGAATC P_CCGAGTTCGAAAACATGAGGGCTG	[94]
	<i>IS30A</i>	F_CGCTGACCTACAGAAATATGTCC R_GGGTAAGTAAATAACCTTCTGG P_CATGAAGGATTTATCAATACGTGTATG	[94]
<i>Anaplasmataceae</i>	<i>23S rRNA</i>	F_TGACAGCGTACCTTTTGCAT R_TGGAGGACCGAACCTGTAC P_GGATTAGACCCGAAACCAAG	[95]
<i>Wolbachia</i> spp.	<i>23 S</i>	F_CCAAAATTACAGCTAAGTGG R_AGTGAGCTGTTACGCTTTCT P_AGTGAGCTGTTACGCTTTCT	[96]
Standard PCR			
<i>Rickettsia</i> spp.	<i>ompA</i> (632 bp)	190–70_F_ATGGCGAATATTTTCCAAAA 190–701_R_GTTCCGTTAATGGCAGCATCT	[97]
<i>Bartonella</i> spp.	<i>gltA</i> (200 bp)	F_ACGTCGAAAAGAYAAAAATG R_GTAATRCAGAAATARAATC	[96]
	<i>ftsZ</i> (333 bp)	F_FTSZDIR_CCGTGAATAATGATTAAATGC R_FTSZREV_TTGAATGGCTTTGTCACAAC	[96]
<i>Leptospira</i> spp.	<i>rpoB</i> (592 bp)	Lept 1900F_CCTCATGGTTCCAACATGCA Lept 2500 R_CGCATCCTCRAAGTTGTAWCCTT	[98]
<i>Anaplasmataceae</i>	<i>23 S rRNA</i> (485 bp)	F_GTTGAAAARACTGATGGTATGCA R_TGCAAAAAGTACGCTGTAC	[85]
<i>Ehrlichia</i> spp.	<i>groEL</i> (590 bp)	Ehr-groEL-F_GTTGAAAARACTGATGGTATGCA Ehr-groEL-R_ACACGRTCTTACGYTCYTTAAC	[99]
Ticks	<i>16S</i> (460 bp)	F_CCGGTCTGAACCTCAGATCAAGT R_GC_TCAATGATTTTTAAATGTCTGT	[33]
Fleas	<i>ITS1</i> (1000 bp)	F_GTA_CAC_ACC_GCC_CGT_GCG_TAC_T R_GCT_GCG_TTC_ATC_GAC_CC_Sen-ITS2	[32]

2018) [100] prior to phylogenetic tree plotting.

The Models program of MEGA version X software (Kumar) was used to find the best DNA model for each alignment data. The model with the lowest Bayesian information criterion (BIC) was chosen for each phylogenetic tree plotting. The phylogenetic trees were inferred by using the maximum likelihood (ML) method under the Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) +G+I model for *Bartonella* spp. *ftsZ* gene, Tamura 3-parameter (T92) +G model for the Anaplasmataceae *23S* and *Rickettsia* spp. *ompA* genes, HKY +G model for the *Ehrlichia* spp. *groEL* gene and *Wolbachia* clades Anaplasmataceae *23S* gene and the Kimura 2-parameter (K2) +G model for the *Leptospira* spp. *rpoB* gene. Support for the topology was examined using bootstrapping (Felsenstein, 1985) over 200 replications for all phylogenetic trees.

3. Results

3.1. Hedgehog collection and sampling of organs and ectoparasites

A total of 21 dead hedgehogs (12 males and 9 females) were picked up by hand and were all morphologically identified as *A. algirus*. Twelve of the twenty-one hedgehogs (57.1%) were parasitized by arthropods; among them 2/12 (16.7%) were parasitized only by ticks, 0/12 (0%) were parasitized only by fleas and 10/12 (83.3%) were parasitized by both fleas and ticks. All details regarding capture sites, hedgehog sex, and the number and species of arthropods collected for each hedgehog are summarized in Fig. 1 and in a table in Supplementary Data 1. Spleens and kidneys were retrieved from all hedgehogs (20 and 21 respectively), except for one hedgehog for which spleen was in a state of putrefaction

too advanced to be considered for further analysis.

3.2. Morphological identification of arthropods

A total of 853 fleas and 218 ticks were collected from twelve hedgehogs. All fleas were morphologically identified as *A. erinacei*. Among the ticks, 151/218 (69.3%) were morphologically identified as *Rh. sanguineus* s.l., 39/218 (17.9%) as *Hae. erinacei* and 28 (12.8%) as *Rhipicephalus* spp. (engorged females lacking characteristics for definitive identification). Pictures of morphologically identified fleas and ticks are shown in the Figs. 2 and 3. A total of 10/21 (47.6%) hedgehogs were parasitized by *Hae. erinacei*, 7/21 (33.3%) by *Rh. sanguineus* and 5/21 (23.8%) were infested by *Rhipicephalus* spp. Eleven (91.7%) of the twelve parasitized hedgehogs were co-infested by at least 2 arthropod species (Supplementary Data 1).

3.3. MALDI-TOF MS identification of collected arthropods

In order to support morphological species identification, as well as to test the ability of MALDI-TOF MS to identify ticks and fleas, 26/853 *A. erinacei*, 13/39 *Hae. erinacei* and 51/151 *Rh. sanguineus* s.l. have been randomly selected from different hedgehogs for MALDI-TOF MS analysis. Similarly, so as to determine the species of the 28 engorged ticks morphologically identified to the genus level as *Rhipicephalus* spp., they have been also submitted to MALDI-TOF MS analysis. Twenty-four (92.3%) *A. erinacei*, 12 (92.3%) *Hae. erinacei*, 48 (94.1%) *Rh. sanguineus* s.l. and 28 (100%) engorged *Rhipicephalus* spp., provided high quality and reproducible spectra within each species (Supplementary Data 2). Blind test analysis of these spectra against our laboratory database containing several arthropod species [31] and updated with reference spectra of 2 *Hae. erinacei*, 3 *Rh. sanguineus* and 4 *A. erinacei* showed that 28/28 (100%) engorged *Rhipicephalus* spp. have been identified as *Rhipicephalus sanguineus* s.l. with log-score values (LSVs) ranging from 1.451 to 2.085 (average: 1.856). All the other specimens tested have been correctly identified at the species level with LSVs ranging from 1.926 to 2.226 (average: 2.068) for *Hae. erinacei*, 1.415–2.362 (average: 1.916) for *Rh. sanguineus* s.l. and 1.861–2.485 (average: 2.172) for *A. erinacei* (Table 1).

3.4. Molecular identification of the collected arthropods

In order to confirm the identification of the arthropods, the DNA of six *Hae. erinacei*, ten *Rh. sanguineus* s.l. and twenty-six *A. erinacei* previously identified morphologically and using MALDI-TOF MS has been randomly selected for molecular identification. To determine the species of the 28 engorged females *Rhipicephalus* spp., they have been also submitted to molecular identification. Good quality partial sequences were obtained for 100% (16/16) of the unengorged ticks (*Hae. erinacei* and *Rh. sanguineus* s.l.), 88.5% (23/26) of the tested fleas and 75% (21/28) of the engorged *Rhipicephalus* spp. ticks.

The BLAST analysis revealed that unengorged *Rh. sanguineus* s.l. 16S sequences had identities ranging from 99.15% to 100% with *Rh. sanguineus* reference sequences available in GenBank (Accession Numbers: MG855662, MH018852, MW172416, JX997393 and KT382469) including sequences of *Rh. sanguineus* IIa haplotype of the temperate lineage from Algeria, Malta and Croatia (Accession Numbers: KX793742, KX793735, KX793726 and KX793724) [35]. Those of *Rhipicephalus* spp. engorged ticks showed identities ranging from 97.66% to 100% with *Rh. sanguineus* reference sequences (Accession Numbers: KX793742, KT382469, MH630344, KT382465, JX997393, MH018852). Among these *Rhipicephalus* spp. engorged specimens, sixteen had identities with reference sequences of *Rh. sanguineus* IIa haplotype of the temperate lineage and five had similarities with sequences of IIb haplotype of the same lineage. The 16S sequences obtained for *Hae. erinacei* had a query cover ranging from 95% to 100% and identities ranging from 97.44% to 97.97% with the *Hae. erinacei* 16S reference sequences from GenBank (Accession Numbers: KX901846 and KU880549). As for BLAST results of the flea *ITS1* sequences, they had an identity ranging from 99.77% to 100% with those of *A. erinacei* available in GenBank (Accession Numbers: LT627362, LT604112 and LT576377). These molecular results support the morphological and MALDI-TOF MS identification previously performed (Table 1). All the sequences obtained for arthropods are available in Supplementary Data 3.

The tick (*Hae. erinacei* and *Rh. sanguineus* s.l.) 16S RNA partial sequences and the flea (*A. erinacei*) *ITS1* partial sequences have been deposited in GenBank and the accession numbers are summarized in a table in Supplementary Data 4.



Fig. 2. Photographs of *Archaeopsylla erinacei* fleas collected from an *Atelerix algirus* hedgehog taken with a Zeiss Axio Zoom V16 stereomicroscope (Zeiss, Marly le Roi, France). a) Overall view of female *A. erinacei* flea mounted in Euparal mounting medium after KOH clearing; b) Head of *A. erinacei* flea specimen mounted in Euparal mounting medium after KOH clearing: The spines of the genal and pronotal ctenidia are indicated by arrows; c) Overall view of female *A. erinacei* flea without KOH clearing.



Fig. 3. Photographs of the dorsal and ventral sides of each tick species taken with a Zeiss Axio Zoom V16 stereomicroscope (Zeiss, Marly le Roi, France) and a VHX-7000 digital microscope (Keyence, Osaka, Japan): a), b), c) and d) a male specimen of *Haemaphysalis erinacei*; e), f) and j) a female specimen of *Rhipicephalus sanguineus* s.l.; g), h), i) and k) a male specimen of *Rhipicephalus sanguineus* s.l.

3.5. Molecular screening for microorganism detection

Overall, 45 samples, including eleven (52.4%) kidneys, six (30%) spleens, fifteen (46.9%) *Hae. erinacei*, nine (11.5%) *Rh. sanguineus* s.l. and four (3.4%) *A. erinacei* collected from 15 hedgehogs were positive in qPCR for *Coxiella burnetii*, targeting both genes (*IS1111* and *IS30A*). Nine hedgehogs had positive organs only (1 had positive spleen only, 5 had positive kidney only and 3 had both positive organs), three for which only the collected arthropods were positive and three others for which both arthropods and organs were positive (1 had both organs and *Rh. sanguineus* positive, 1 had both organs, *A. erinacei* and *Hae. erinacei* positive and 1 had kidney, *A. erinacei* and *Rh. sanguineus* positive).

Ten samples (7 kidneys, 1 spleen and 2 *Rh. sanguineus* s.l. ticks) were positive for *Leptospira* spp. qPCR. These positive samples belonged to 9 hedgehogs, among them 8 for which only the organs tested positive (1 had positive spleen only and 7 had positive kidney only) and 1 for which only the *Rh. sanguineus* s.l. ticks tested positive. All the tested fleas were negative. The ten positive samples were then subjected to conventional

PCR amplification of a 592 base pairs fragment of the *Leptospira* spp. *rpoB* gene. Only 3 kidneys were positive, and good quality sequences were obtained for two of them. The results of BLAST analysis showed 100% similarity of our sequences with *Leptospira interrogans* detected in a human from China (Accession number: CP044513). The phylogenetic analysis using published reference sequences only revealed that our sequences clustered with the group of *L. interrogans* reference sequences (Fig. 4), confirming their identification as *L. interrogans*.

A total of 166 arthropods (87 *A. erinacei*, 56 *Rh. sanguineus* s.l., 21 *Hae. erinacei* and 2 engorged *Rhipicephalus* spp.) sampled from twelve hedgehogs were positive for *Rickettsia* spp. by qPCR. However, all the tested organs (kidneys and spleens) were negative. Following a specific qPCR, 68/87 (78.2%) of the *Rickettsia* spp. found in *A. erinacei* fleas were confirmed to be *Rickettsia felis*. These fleas were collected on 10/21 hedgehogs. *Rickettsia* spp. qPCR positive fleas which were negative for *R. felis* were submitted to *R. typhi* specific qPCR and were all negative. Thirty-eight *Rh. sanguineus* s.l. and the two *Rhipicephalus* spp. engorged ticks, collected from 7/21 hedgehogs, were positive for *R. massiliae* by

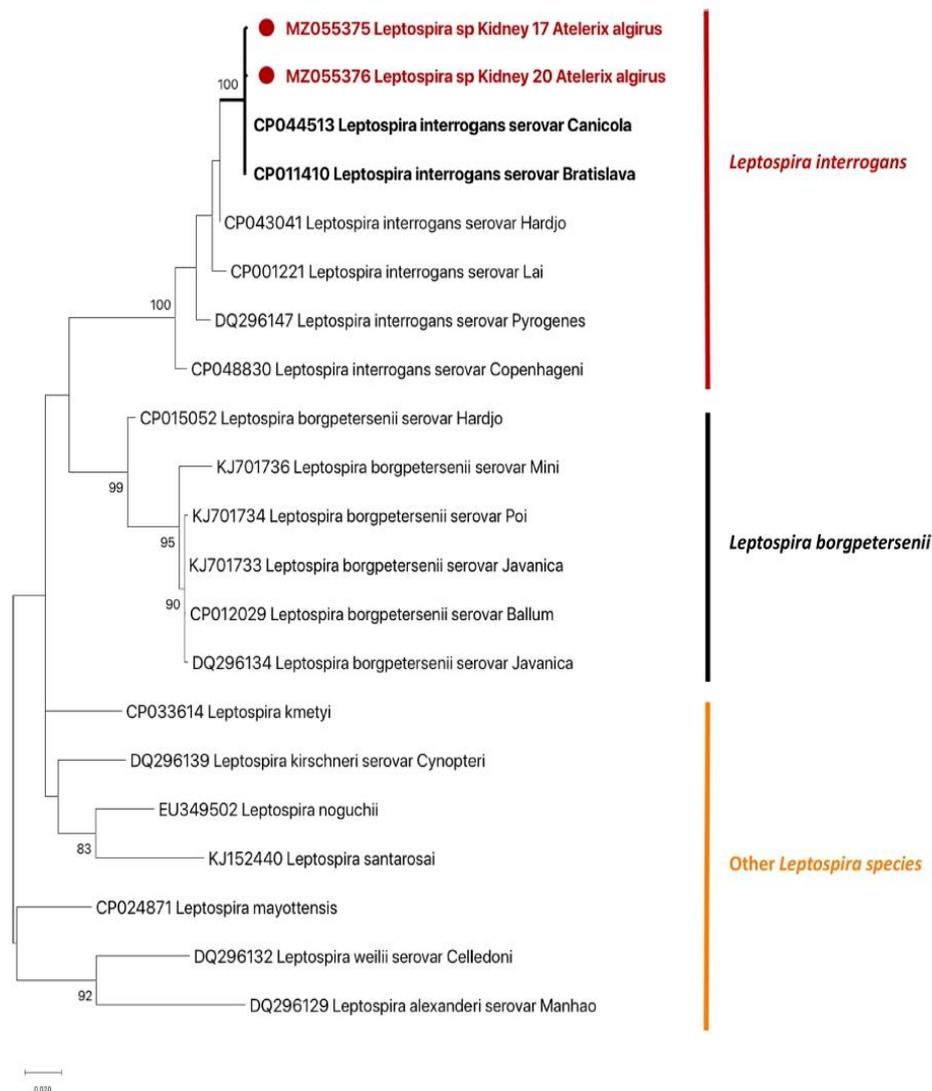


Fig. 4. Phylogenetic tree of *Leptospira* spp. based on *rpoB* partial gene inferred using maximum-likelihood (ML) method under Kimura 2-parameter (K2) +G model. Support for the topology was examined using bootstrapping (Felsenstein, 1985) over 200 replications. Bootstrap values lower than 60% are not shown. The sequences obtained in this study are indicated by circles.

specific qPCR, and all were negative for *R. conorii*. All positive *Hae. erinacei* tested negative for *R. aeschlimannii*.

The 58 qPCR positive specimens for which *Rickettsia* species was not confirmed by specific qPCR, (19 *A. erinacei*, 18 *Rh. sanguineus* s.l. and 21 *Hae. erinacei*) were subjected to conventional PCR and sequencing targeting a 630 base pairs fragment of the *ompA* gene for *Rickettsia* spp. Only six samples were positive (1 *Rh. sanguineus* s.l. from one hedgehog and 5 *Hae. erinacei* from 4 other hedgehogs) and good quality sequences were obtained for 2/6 samples (2 *Hae. erinacei*).

BLAST analysis indicated that the two obtained sequences were

identical and showed 100% similarity with an uncultured *Rickettsia* spp. (Accession Number: MG228270) previously detected in *Dermacentor nuttalli* ticks from China. Phylogenetic analysis (Fig. 5) did not provide additional information on the identification of this species of *Rickettsia*, since it clustered with other uncultured *Rickettsia* spp.

Bartonella spp. was detected in 8/298 (2.7%) tested samples (2/20 (10%) spleens and 6/119 (5.04%) *A. erinacei* fleas) from 7/21 (33.3%) different hedgehogs. All the kidneys and tick specimens tested negative. These qPCR positive samples were afterward subjected to conventional PCR, amplifying a 200 base pairs fragment of the *gltA* gene for *Bartonella*

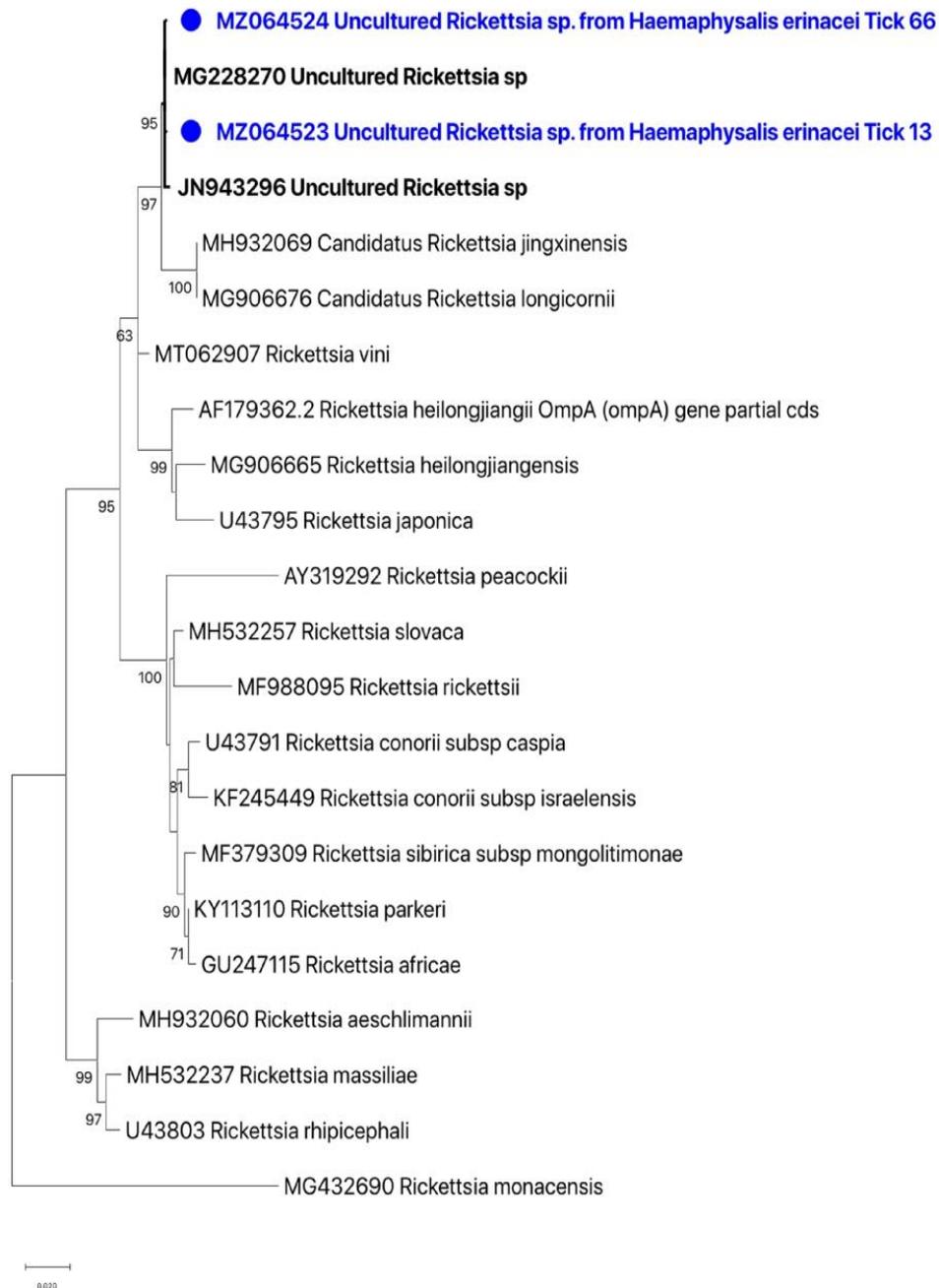


Fig. 5. Phylogenetic tree of *Rickettsia* spp. based on *gltA* partial gene inferred using maximum-likelihood (ML) method under Tamura 3-parameter (T92) +G model. Support for the topology was examined using bootstrapping (Felsenstein, 1985) over 200 replications. Bootstrap values lower than 60% are not shown. The sequences obtained in this study are indicated by circles.

spp.

Four samples were successfully amplified, and two good quality sequences were obtained (1 from a spleen and 1 from an *A. erinacei* flea). BLAST analysis results indicated 98.02% identity with an uncultivated *Bartonella* spp., previously detected in a plateau pika (*Ochotona curzoniae*) from China (Accession Number: MN056885) for both sequences obtained from the spleen and *A. erinacei*.

Given the low identity percentages obtained for the *gltA* gene, a 333 base pairs fragment of the *ftsZ* gene was also amplified and sequenced for the qPCR positive samples. Four sequences (*A. erinacei* from 4 hedgehogs) were obtained. BLAST analysis of the sequences indicated for all of them 98% query cover and 97.22% identity with reference *Bartonella clarridgeiae* isolated from cats in France (Accession Number: FN645454).

The sequencing results based on two genes together with the phylogenetic analysis of the *ftsZ* gene suggest that the *Bartonella* detected in this spleen and these *A. erinacei* fleas is potentially a new species (Fig. 6).

A total of 7 organs sampled from 6 hedgehogs (4 had positive spleen only, 1 had positive kidney only and 1 had both positive organs), 7/138 ticks (4 *Hae. erinacei* collected from 2 hedgehogs and 3 *Rh. sanguineus* collected from 2 other hedgehogs) and 62/119 *A. erinacei* fleas sampled from 9 hedgehogs were positive in qPCR targeting the Anaplasmataceae 23S gene. All (62/62) positive fleas for Anaplasmataceae bacteria were positive for *Wolbachia* spp. by qPCR and all the ticks were negative. All the positive organs and ticks for Anaplasmataceae 23S qPCR and 42 randomly selected flea specimens positive for *Wolbachia* spp. qPCR were subjected to conventional PCR and sequencing targeting the Anaplasmataceae 23S gene amplifying a 485 base pairs fragment. All the tested organs (7/7) were negative. Good quality 23S gene sequences were obtained for 37/42 *Wolbachia* qPCR-positive fleas and were all identical. BLAST analysis of these sequences revealed identities of 99.56% with *Wolbachia pipientis* (Accession Number: CP037426) and *Wolbachia* endosymbiont of different arthropods, including *Drosophila simulans* and *D. melanogaster* (Accession Numbers: CP003884 and AE017196). Phylogenetic analysis revealed that our *Wolbachia* sequences detected in fleas are located within the *Wolbachia* "A" clade and would seem to belong to this clade (Fig. 7).

DNA from five ticks was successfully amplified (3 *Hae. erinacei* and 2 *Rh. sanguineus* s.l.) and 4 good quality sequences were obtained (3 *Hae. erinacei* and 1 *Rh. sanguineus* s.l.). BLAST results revealed 96.65–96.66% identity of the obtained sequences with uncultured *Ehrlichia* spp. detected in *Rhipicephalus complanatus* and *Haemaphysalis muhsami* collected from pigs in Democratic Republic of the Congo (Accession Numbers: MK942592, MK942591 and MK942590). Using primers amplifying a 590 base pairs fragment of the *Ehrlichia* spp. *groEL* gene, three good quality sequences were obtained (2 *Hae. erinacei* and 1 *Rh. sanguineus* s.l.). BLAST results revealed 94.89–95.08% identity with uncultivated *Ehrlichia* spp. detected in *Haemaphysalis concinna* from Russia (Accession Number: JX092091). The phylogenetic trees (Fig. 8) showed for both sequenced genes that our *Ehrlichia* spp. sequences clustered separately from the other *Ehrlichia* species, thus suggesting that they probably belong to a potential new *Ehrlichia* species.

All the tested samples were negative for *Borrelia* spp. *ITS4* gene fragment targeted in qPCR analysis. Microorganism detection results are summarized in Table 3 and Fig. 9. Consensus sequences obtained for the different microorganisms detected in hedgehogs and their associated arthropods have been deposited in GenBank database and all the accession numbers are detailed in a table in Supplementary Data 4. All FASTA sequences of the amplified gene fragments for the detected microorganisms are made available in Supplementary Data 5.

4. Discussion

In this study conducted in a north-central region of Algeria, the DNA of various microorganisms, including *C. burnetii*, *L. interrogans*,

Leptospira spp., *R. felis*, *R. massiliae*, *Rickettsia* spp., *Wolbachia* spp., Anaplasmataceae bacteria and potential new strains of *Bartonella* and *Ehrlichia* were detected in hedgehog organs and/or their ticks and fleas.

In the last decades, the development of new technologies, including molecular tools such as polymerase chain reaction (PCR) and sequencing, has enabled considerable progress in the study of infectious diseases and in the identification of their reservoirs. In this study, these methods allowed us using appropriate negative and positive controls to identify different microorganisms infecting hedgehogs and their ectoparasites.

The North African hedgehog (*A. algirus*) is an endemic species in the Mediterranean basin countries and islands, including North Africa (Algeria, Tunisia, Morocco and Libya) and southern Europe (Spain and France) [36]. In Algeria, these small mammals are on the protected species list (Presidential decree No. 06–405 of 22 Chaoual 1427, corresponding to the November 14, 2006 ratification of the protocol relating to specially protected areas and organic diversity in the Mediterranean, signed in Barcelona on June 10, 1995). Even though they have been suggested as a potential reservoir of various zoonotic diseases, they remain relatively understudied [7].

In this study, 57.1% (12/21) of the hedgehogs were infested with ectoparasites. This infestation rate is similar to that reported in a study on dead hedgehogs (*E. concolor*) from Turkey [37], but lower than that reported in a northeastern region of Algeria with the same hedgehog species captured alive [2]. This large difference in the infestation rate could be explained by the fact that in our study, hedgehogs were recovered dead, and it is known that when body temperature drops, arthropods tend to detach themselves to look for a new host. Nevertheless, two of the hedgehogs picked up in Ahl-El-Ksar were heavily infested by fleas with 500 and 236 specimens collected respectively on a hedgehog from Thiliwa village and another from Thignit.

In our study, the fleas and ticks collected from hedgehogs were morphologically identified as *A. erinacei*, *Rh. sanguineus* s.l. and *Hae. erinacei*. Twenty-eight engorged female ticks were identified only at the genus level as *Rhipicephalus* spp. for the reason that they were lacking characteristics for definitive morphological species identification.

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) is an innovative proteomic tool which has been successfully applied for identification of arthropods of medical interest. With an appropriate database, this tool represents a good alternative to the tedious methods habitually used for arthropod identification [42]. This inexpensive method allows to test readily a large number of samples compared to molecular biology which is a more expensive and time-consuming method. In the present study, this technology was used as a complementary tool to support the morphological and molecular identification of the collected arthropods. Our in-lab database did not contain any reference spectrum for *Hae. erinacei*, thus we had to implement it in order to allow for identification. The selected arthropod specimens were all identified to the species level using this tool. However, the obtained log scores values for a few specimens were low (<1.7). This may be explained by the fact that our samples were kept in alcohol for more than three years, and it has been demonstrated that this method of preservation alters the protein composition of the samples [43]. In order to perform molecular identification of the selected arthropods, *ITS1* and tick *16S RNA* gene fragments were amplified. The tick and flea obtained sequences all showed high similarity with reference sequences of *Rh. sanguineus* s.l., *Hae. erinacei* and *A. erinacei* available in GenBank. Regarding the engorged tick specimens, both MALDI-TOF MS and molecular biology identification results allowed their assignation to the *Rh. sanguineus* s.l. species. The number of selected ectoparasites to confirm their identification was randomly chosen, considering potential species diversity and the number of specimens. Fleas are small insects; thus, they are challenging to identify. The morphological criteria for identifying and distinguishing species are sometimes very subtle and difficult to observe even for people with entomological skills. Their identification often requires a KOH clearing

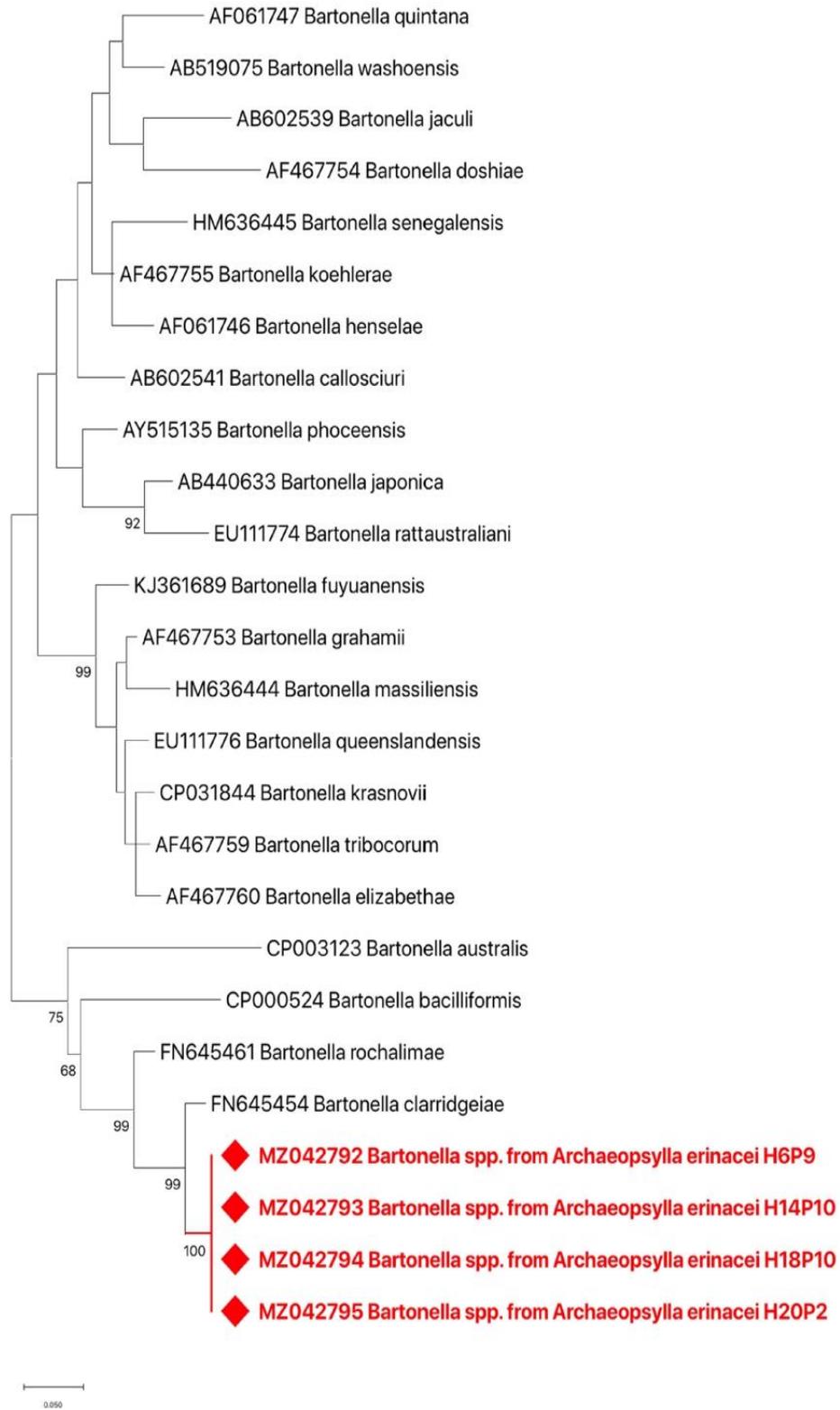
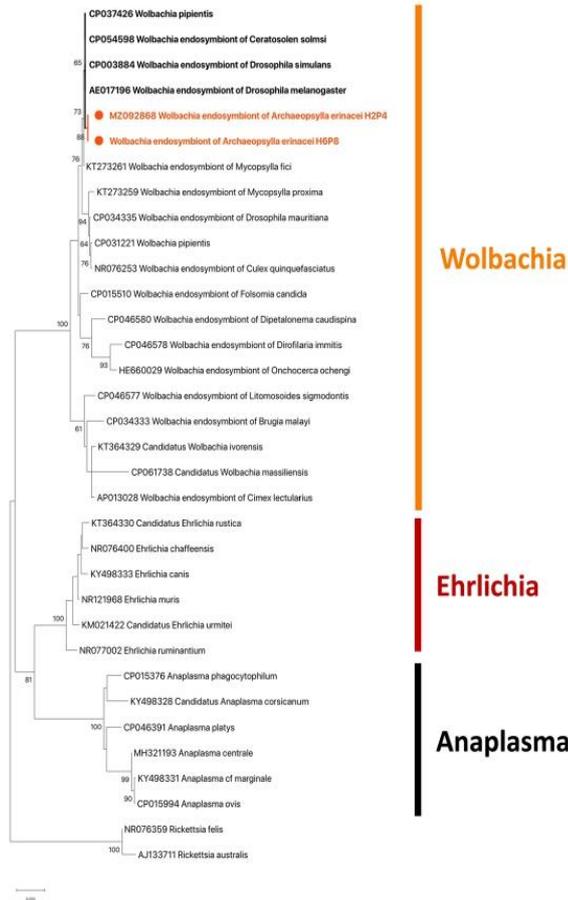
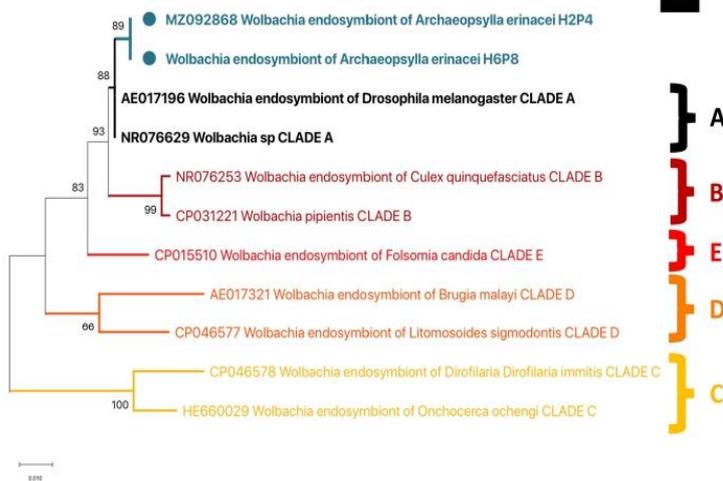


Fig. 6. Phylogenetic tree of *Bartonella* spp. based on *ftsZ* partial gene inferred using maximum-likelihood (ML) method under Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) +G+I model. Support for the topology was examined using bootstrapping (Felsenstein, 1985) over 200 replications. Bootstrap values lower than 60% are not shown. The sequences obtained in this study are indicated by rhombuses.



A

Fig. 7. A) Phylogenetic tree of *Wolbachia* spp. based on Anaplasmataceae 23S partial gene inferred using maximum-likelihood (ML) method under Tamura 3-parameter (T92) +G model. B) Phylogenetic tree based on Anaplasmataceae 23S partial gene representing *Wolbachia* clades inferred using Maximum-Likelihood (ML) method under Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) +G model. Clade F and H are not represented. Support for the topology was examined using bootstrapping (Felsenstein, 1985) over 200 replications. Bootstrap values lower than 60% are not shown. The sequences obtained in this study are indicated by circles.



B

followed by mounting in a medium between slide and coverslip in order to make the morphological criteria more visible. This mounting method makes the sample unusable for further analysis. Consequently, it cannot be applied on all the specimens. MALDI-TOF MS and molecular methods help in unambiguous species identification, for this reason, all the flea specimens selected for MALDI-TOF MS analysis have been also

submitted to molecular identification. Overall, in this study we used three different methods for arthropod identification (morphology, molecular biology and MALDI-TOF MS) and the identification results were concordant for these three methods. Nevertheless, the main purpose of this study was not to compare the performance of different identification methods, but we used them only to confirm and support the

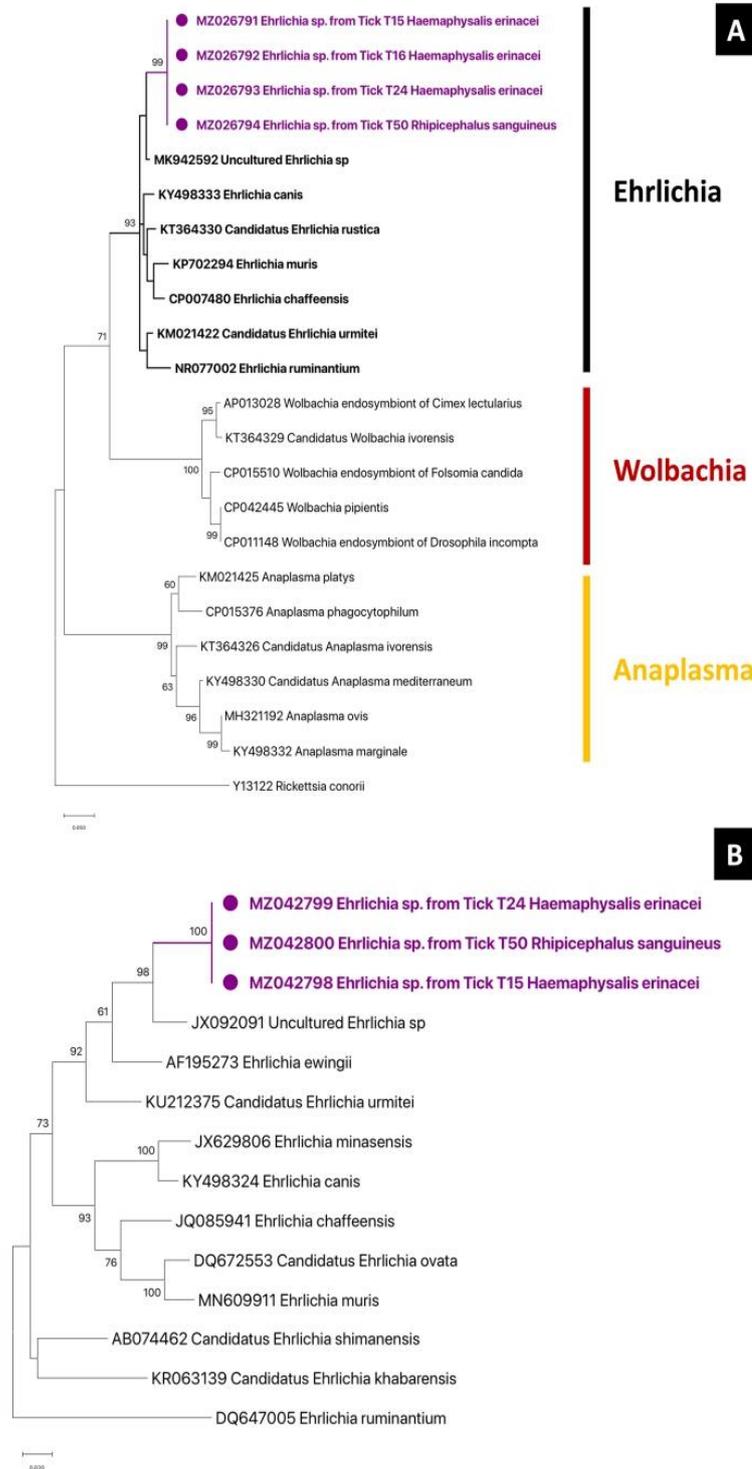


Fig. 8. A) Phylogenetic tree of *Ehrlichia* spp. based on Anaplasmataceae 23S partial gene inferred using maximum-likelihood (ML) method under Tamura 3-parameter (T92) +G model. B) Phylogenetic tree based on *Ehrlichia groEL* partial gene inferred using maximum-likelihood (ML) method under Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) +G model. Support for the topology was examined using bootstrapping (Felsenstein, 1985) over 200 replications. Bootstrap values lower than 60% are not shown. The sequences obtained in this study are indicated by circles.

morphological identification. The number of selected specimens is therefore not important, it must only be sufficient to allow unambiguous identification of the arthropods.

Archaeopsylla erinacei and *Hae. erinacei*, commonly called the hedgehog flea and the hedgehog tick, are often associated with hedgehogs [14,38], but this flea and tick species can also be found on other

animals, such as, felids, canids, foxes, hares, kestrel nests and birds respectively [14,39]. *Rhipicephalus sanguineus* s.l., the brown dog tick, is amply distributed worldwide. It is commonly associated with dogs; however, it can occasionally bite humans and other animal hosts [40]. The same arthropod species (*A. erinacei*, *Hae. erinacei* and *Rh. sanguineus* s.l.) have previously been collected from *A. algirus* hedgehogs in another

Table 3
Summary results of microorganism detection in hedgehog organs and their associated arthropods (ticks and fleas).

Bacterium % (Positives/Tested)	Spleen	Kidney	<i>Archaeopsylla erinacei</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>Haemaphysalis erinacei</i>	Total
<i>Rickettsia</i> sp.	-	-	87/119	58/106	21/32	55.7% (166/298)
<i>Rickettsia felis</i>	/	/	68/87	/	/	22.8% (68/298)
<i>Rickettsia massiliae</i>	/	/	/	40/58	/	13.4% (40/298)
Uncultivated <i>Rickettsia</i> spp.	/	/	/	-	2/32	0.67% (2/298)
<i>Leptospira</i> sp.	1/20	7/21	-	2/78	-	3.3% (10/298)
<i>Leptospira interrogans</i>	-	2/7	/	-	/	0.7% (2/298)
Anaplasmataceae	5/20	2/21	62/119	3/78	4/32	25.5% (76/298)
<i>Wolbachia</i> sp.	/	/	62/62	-	-	20.8% (62/298)
<i>Ehrlichia</i> sp.	/	/	/	1/3	3/4	1.3% (4/298)
<i>Coxiella burnetii</i>	6/20	11/21	4/119	9/78	15/32	15.1% (45/298)
<i>Bartonella</i> sp.	2/20	-	6/119	-	-	2.7% (8/298)
Uncultivated <i>Bartonella</i> spp.	1/20	/	1/119	/	/	0.7% (2/298)

(-): Negative sample; (/) Untested.

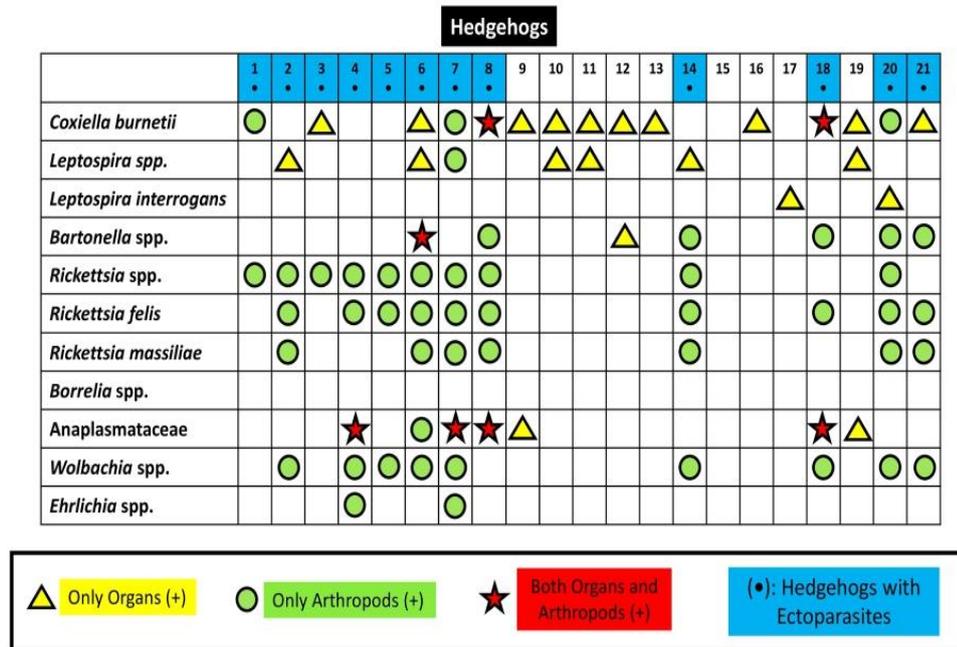


Fig. 9. Graphical table summarizing the microorganisms detected in each hedgehog, allowing visualization of the existing co-infections.

study conducted in Algeria [2]. These arthropod species have been also reported on other hedgehog species in Algeria and other countries, including the desert hedgehog (*P. aethiopicus*) [2,14,37,41].

Using molecular tools, DNA of all tested bacteria - except for *Borrelia* spp. - were detected in the hedgehog organs and/or their ectoparasites, therefore indicating that hedgehogs could be significant reservoirs of various zoonotic agents. Interestingly, 2 hedgehogs and/or their ectoparasites were co-infected with 8 different microorganisms at the same time, and 17 were co-infected with at least 2 microorganisms (Fig. 9).

Coxiella burnetii, the etiological agent of Q fever, is an obligate intracellular gram-negative bacterium. This neglected zoonotic disease can affect wild and domestic animals as well as humans. This bacterium spreads through the aerosol route and contact with infected animals or their products. Prior studies showed that *C. burnetii* can infect different arthropod species, mainly ticks and also fleas (*Xenopsylla cheopis* and *Ctenocephalides felis*) [44,45]. A serological study reported the presence of antibodies to *C. burnetii* in European hedgehogs from Austria [46], and it has recently been reported in *Erinaceus amurensis* hedgehogs and their *Haemaphysalis flava* ticks from China [47,48]. Herein, we report the presence of *C. burnetii* for the first time in *A. algirus* hedgehogs and their *A. erinacei* fleas and *Hae. erinacei* ticks in Algeria. Interestingly, in

our study, *C. burnetii* was detected in both hedgehog organs and all their associated arthropod species (*A. erinacei*, *Rh. sanguineus* s.l. and *Hae. erinacei*), suggesting that these arthropods may be potentially involved in the life cycle of this bacterium. However, this hypothesis cannot be confirmed, especially since this is not the usual mode of transmission of the disease, even if it has already been suggested in a previous study that tick species could facilitate the transmission of *C. burnetii* [49]. Also, it cannot be confirmed if this bacterium is associated with *A. erinacei* or if these fleas were infected by feeding on a bacteremic hedgehog or by co-feeding with infected ticks. Experimental studies are needed to clarify this.

Leptospirosis is a widespread zoonotic disease affecting humans and domestic and wild animals, caused by obligate aerobic spirochete bacteria belonging to the *Leptospira* genus. Human contamination occurs most often either after direct contact with the urine of infected animals or indirectly through contaminated water or soil [50]. In the present study, *Leptospira* spp. was detected in *Rh. sanguineus* s.l. ticks and in hedgehog kidneys and spleens. BLAST analysis of the sequences obtained from hedgehog kidneys revealed that they were similar to the reference sequences of two different species. Indeed, they have the same identity percentage with several reference sequences of *L. interrogans*

and two sequences of *L. borgpetersenii*. However, phylogenetic analysis based on the *rpoB* gene (Fig. 4) using only published reference sequences showed that our sequences clustered within the *L. interrogans* group. Accordingly, the identification of our sequences was validated as *L. interrogans*. In Algeria, there are few studies on leptospirosis, and the prevalence of this disease is still unknown. Nevertheless, this bacterium has been detected in the environment as well as in humans and certain animals, including dogs, cats and cattle [51–60]. Previous studies have already reported *L. interrogans* in hedgehogs from China, and also from different countries of the Mediterranean basin, including France and Italy [61]. *Leptospira* spp. was detected in *I. ricinus* from Poland [62] and in *Rh. sanguineus* s.l. collected on dogs in Lao PDR [63]. However, to our knowledge this bacterium has never been reported, neither in *A. algirus* hedgehogs nor in *Rh. sanguineus* ticks from Algeria. Our results suggest that hedgehogs and their ticks might potentially be considered a source of *Leptospira* spp. in Algeria. Humans and domestic animals could easily become infected by handling infected hedgehogs. Nevertheless, there is no evidence of the tick's ability to transmit this bacterium.

Rickettsiae are small obligate intracellular gram-negative bacteria belonging to the *Rickettsiaceae* family and the *Rickettsiales* order. Rickettsioses are emergent or re-emergent diseases. The main vectors are hematophagous arthropods [64,65]. Humans are considered accidental hosts [66]. At least 11 *Rickettsia* species have been detected in arthropods from Algeria [22].

Rickettsia felis is a causative agent of an emerging spotted fever group rickettsiosis [67]. This bacterium has been associated with many species of fleas. The cat flea (*Ctenocephalides felis*) is a recognized vector. Mosquitoes have been shown to be competent vectors in laboratory settings, while some booklice species were found to be naturally infected [67,68]. In this study, *R. felis* was detected in *A. erinacei* fleas collected from *A. algirus*. These results support the presence of this flea-borne spotted fever agent in Algerian fleas, including *A. erinacei* [14].

Rickettsia massiliae is also a causative agent of spotted fever group rickettsiosis in humans. The reservoir has not been clearly identified yet, but this bacterium is transmitted by *Rh. sanguineus* s.l. [69]. In this study, *R. massiliae* was detected in *Rh. sanguineus* s.l., confirming its presence in Algerian ticks. This rickettsial agent is commonly associated with ticks and was previously detected in *Rh. sanguineus* s.l. sampled from hedgehogs in Algeria [2,20] and in other countries [70].

In the present study, an uncultivated *Rickettsia* spp. was detected in 2 *Hae. erinacei*. This uncultivated *Rickettsia* spp. was similar to that found in *Dermacentor nuttalli* from China (unpublished); and close to the potential new *Rickettsia* spp. sequences found in *Hae. erinacei* and *Rh. sanguineus* s.l. ticks sampled from *A. algirus* hedgehogs reported in another study in Algeria [2]. All hedgehog organs tested negative for *Rickettsia* spp. by qPCR. Accordingly, this uncultivated *Rickettsia* spp. seems to be associated only with ticks, and there is no evidence of a potential transmission to hedgehogs or that these hedgehogs could be reservoirs. Some qPCR-positive fleas for *Rickettsia* spp. (*gltA* gene) were negative to *R. felis* and *R. typhi* specific qPCR and also to the conventional PCR targeting the *ompA* gene (contained in Spotted Fever Group Rickettsia). Thus, these samples have not been identified to the species level. Nevertheless, in a previous study, *Rickettsia felis*-Like organism has been detected in *A. erinacei* fleas sampled on hedgehogs but has not been amplified by the usual primers targeting the *ompA* gene because of variations in this gene in *R. felis* strains [71]. Therefore, considering the cited study as well as our PCR results, these *Rickettsia* spp. detected in fleas seem to be *Rickettsia felis*-Like organisms. Sequencing of other genes is necessary for confirmation.

Bartonellosis are worldwide emerging and re-emerging diseases characterized by intraerythrocytic bacteremia and caused by fastidious intracellular bacteria belonging to the *Bartonella* genus. Hematophagous arthropods such as sandflies, lice, louse flies and fleas are considered as vectors. Various mammals as well as humans have been reported to be reservoirs of *Bartonella* species [72,73]. Several studies reported different species of *Bartonella* in hedgehogs. In urban and suburban areas

of the Czech Republic, *Bartonella washoensis* and *B. melophagi* have been detected in *E. europaeus* hedgehogs [74]. The causative agent of cat scratch disease in humans *B. henselae* and a *Bartonella* spp. phylogenetically close to *B. taylorii* have been detected respectively in an *A. erinacei* flea and in muscle and skin samples collected on northern white-breasted hedgehogs *E. roumanicus* from Budapest, Hungary [9, 75].

In Algeria, different *Bartonella* species have already been reported, including *B. tribocorum* in *A. algirus* hedgehogs [76], *B. elizabethae* in hedgehogs and their *A. erinacei* fleas and *B. clarridgeae* in *A. erinacei* fleas sampled from hedgehogs [21,76]. In this study, we found *Bartonella* spp. DNA in hedgehog spleens as well as in their associated fleas (*A. erinacei*). The one detected in the fleas could potentially be a new species of *Bartonella*, phylogenetically close to *B. clarridgeae*. Other studies in the world reported the presences of potential new *Bartonella* species in hedgehogs. In Italy, a new clone of *Bartonella* spp. have been reported in spleen samples of 2 European hedgehogs *E. europaeus* from Basilicata region (Matera province) [77]. This clone presented phylogenetic proximity to *B. clarridgeae*. In a study carried out in Israel, the DNA of a *Bartonella* spp. was detected in a blood sample of a Southern white-breasted hedgehog *E. concolor*. The sequence obtained for this *Bartonella* spp. was different from all the known species. However, in phylogenetic analysis it clustered in the same clade with *B. clarridgeae* and *B. rochalimae* [78]. A Potential new species *Bartonella* spp. ERIN phylogenetically close to *B. clarridgeae* was also reported in 2 hedgehog species from Czech Republic (*E. europaeus* and *E. roumanicus*) and another species (*Bartonella* spp. SCIER) was detected in the same hedgehog species aforementioned [74]. The sequences obtained in these studies could not be compared to those we obtained for the reason that either they were from a different gene or because the primers used target different fragments of the same gene.

Bacteria belonging to the Anaplasmataceae family are the cause of emerging and endemic zoonotic diseases that have a great impact primarily on veterinary public health, such as *Anaplasma* spp. and *Ehrlichia* spp. [79]. They are obligate intracellular bacteria transmitted mainly by arthropods [79]. It also includes *Wolbachia* spp. bacteria, which are known as an endosymbiont of many arthropods [80].

In our study, the DNA of the Anaplasmataceae bacteria family was detected in hedgehog organs and their ectoparasites by qPCR. All qPCR-positive organs were negative in conventional PCR; thus, the bacterial species could not be confirmed. Those detected in fleas were all confirmed by qPCR and sequencing to be *Wolbachia* spp. These bacteria can be transmitted by transovarial and trans-stadial means through generations of invertebrates [81], and this could explain the significant number of positive fleas. Several studies have detected the presence of *Wolbachia* spp. in different flea species [82], including *A. erinacei* fleas collected on *E. europaeus* hedgehogs from Spain [83]. However, to our knowledge, this study represents the first report of this endosymbiont bacteria in *A. erinacei* fleas from Algeria.

Furthermore, our results highlight the presence of a potential new *Ehrlichia* species detected in *Rh. sanguineus* s.l. and *Hae. erinacei* ticks. Previous studies have reported the presence of *Ehrlichia* spp. in *Hae. erinacei* sampled from goats in Iran [84]. *Ehrlichia ewingii* has been detected in *Hae. flava* ticks sampled on hedgehogs from China [48]. In Algeria, previous studies reported *Ehrlichia* spp. in different animal hosts, including dogs [85,86] and in ticks [87]. However, to our knowledge this study represents the first report of *Ehrlichia* spp. in hedgehogs and *Hae. erinacei* ticks in this country.

Some qPCR-positive samples for *Leptospira* spp., *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp. and Anaplasmataceae were not identified to the species level either because they were not successfully amplified by conventional PCR or because the quality of the obtained sequences was too poor to be used for further analyses. This could be explained by the fact that real-time PCR may be more sensitive than conventional PCR [88].

Several studies have shown the presence of various pathogens in hedgehogs and their associated bloodsucking arthropods highlighting

their role as potential reservoirs for various infectious diseases, including some vector-borne ones. Despite this, their involvement in public health issues has rarely been investigated. Indeed, little is known about the role of hedgehogs in the transmission of these infectious diseases to humans even if in recent years they have become popular as pets and are also eaten as a traditional meal by some populations [3]. Added to that, the various interventions of humans in nature, such as intensive agriculture, deforestation and urbanization, are leading to the disturbance and degradation of hedgehog burrows and ecosystems [1]. This brings them to take refuge in gardens, looking for food and shelter, consequently living close to humans and exposing them to an increased transmission risk of various zoonotic agents.

5. Conclusion

Our results confirm the presence of several microorganisms associated with hedgehogs and their ectoparasites in Algeria. We report here two potentially new bacterial species, and also made it possible to expand the repertoire of the pathogens associated with hedgehogs and arthropods in this area.

Epidemiological investigations are lacking in Algeria and North Africa. Further studies are needed for better understanding the role of hedgehogs and their hematophagous arthropods in the transmission of zoonotic diseases to humans and their impact on public health.

CRedit authorship contribution statement

Conceptualization: PP and IB; Data curation: LB, AZD, ML and NA; Formal analysis: LB, AZD and ML; Funding acquisition: PP; Investigation: LB and NA; Methodology: LB, NA, AZD, ML, JMB and PP; Project administration: PP; Resources: NA, PP; Software: LB, AZD and ML; Supervision: PP, AZD, ML and IB; Validation: PP, AZD and ML; Writing - original draft: LB and NA; Writing - review & editing: LB, AZD, ML and PP. All authors reviewed and approved the final version.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

All data regarding this study are included in the manuscript and its supplementary data.

GenBank accession numbers of the sequences obtained in this study for arthropods and microorganisms are made available in Supplementary Data 4.

The FASTA sequences of all sequenced arthropod specimens and bacteria are available as Supplementary Data 3 and 5, respectively.

Acknowledgments

This study was supported by the Institut Hospitalo-Universitaire (IHU) Méditerranée Infection, the National Research Agency under the program "Investissements d'avenir", reference ANR-10-LAHU-03, the Région Provence Alpes Côte d'Azur and European funding FEDER PRIM1.

We thank Dr. F. Dahmoune, head of biology department (Akli Mohand Oulhadj University of Bouira) and Dr. N. Kaderi, domain manager (Akli Mohand Oulhadj University of Bouira) for granting us access to their laboratory in order to perform hedgehog dissections, arthropod sampling and initial identification. We thank Dr. Khalid el Karkouri, Younes Laidoudi PhD and Hacene Medkour PhD for their help in phylogenetic analysis. We thank Mehdi Boucheikhchoukh PhD for his help in tick identification.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Supplementary Data 1: Summary table of *Atelexis algirus* hedgehog collection sites and dates, gender and ectoparasites collection and identification results.

Supplementary Data 2: Representative MS profiles obtained for each arthropod species using the Flex analysis 3.3 software. a.u.: arbitrary units; m/z: mass-to-charge ratio; (A) *Haemaphysalis erinacei*, (B) *Rhipicephalus sanguineus*, (C) *Archaeopsylla erinacei*.

Supplementary Data 3: FASTA sequences of the amplified 16S rRNA and *ITS1* gene fragments obtained from ticks (*Haemaphysalis erinacei* and *Rhipicephalus sanguineus* s.l.) and fleas (*Archaeopsylla erinacei*) sampled from hedgehogs.

Supplementary Data 4: GenBank accession numbers of all sequences obtained from arthropods and bacteria.

Supplementary Data 5: FASTA sequences of the amplified gene fragments obtained from the different bacteria detected in hedgehog organs and arthropod samples.

Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.cimid.2021.101726.

References

- [1] H.J. Temple, A. Cuttelod, The Status and Distribution of Mediterranean Mammals, IUCN, Switzerland and Cambridge, UK, 2009.
- [2] M. Khaldi, C. Socolovschi, M. Benyettou, G. Barech, M. Biche, T. Kernif, D. Raoult, P. Parola, Rickettsiae in arthropods collected from the North African Hedgehog (*Atelexis algirus*) and the desert hedgehog (*Paraechinus aethiopicus*) in Algeria, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 35 (2012) 117–122, <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.11.007>.
- [3] A. Nematollahi, J.A. Helan, H. Golezard, N. Zaboli, M. Nouruzi, M. Azari, Parasitic Fauna of East European Hedgehog (*Erinaceus concolor*) and their pathological aspects in Iran, *Adv. Zool. Bot.* 2 (2014) 1–5, <https://doi.org/10.13189/azb.2014.020101>.
- [4] Y. Goz, A.B. Yilmaz, A. Aydin, Y. Dicle, Ticks and fleas infestation on east hedgehogs (*Erinaceus concolor*) in Van Province, eastern region of Turkey, *J. Arthropod-Borne Dis.* 10 (2016) 50–54.
- [5] H. Leulmi, A. Aouadi, I. Bitam, A. Bessas, A. Benakhlal, D. Raoult, P. Parola, Detection of *Bartonella tamiiae*, *Coxiella burnetii* and rickettsiae in arthropods and tissues from wild and domestic animals in northeastern Algeria, *Parasites Vectors* 9 (2016) 1–8, <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1316-9>.
- [6] J. Skuballa, T. Petney, M. Pfaffle, H. Taraschewski, Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) and its ticks, *Vector-Borne and Zoonotic Dis.* 10 (2010) 1055–1057, <https://doi.org/10.1089-vbz.2009.0150>.
- [7] P.Y. Riley, B.B. Chomel, Hedgehog zoonoses, *Emerg. Infect. Dis.* 11 (2005) 1–5, <https://doi.org/10.3201/eid1101.040752>.
- [8] C. Silaghi, J. Skuballa, C. Thiel, K. Pfister, T. Petney, M. Pfaffle, H. Taraschewski, L.M.F. Passos, The European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) – a suitable reservoir for variants of *Anaplasma phagocytophilum*? Ticks and Tick-Borne Dis. 3 (2012) 49–54, <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2011.11.005>.
- [9] S. Szekeres, A.D. van Leeuwen, E. Tóth, G. Majoros, H. Sprong, G. Földvári, Road-killed mammals provide insight into tick-borne bacterial pathogen communities within urban habitats, *Transbound Emerg. Dis.* 66 (2019) 277–286, <https://doi.org/10.1111/tbed.13019>.
- [10] G. Földvári, S. Jahfari, K. Rigó, M. Jablonszky, S. Szekeres, G. Majoros, M. Tóth, V. Molnár, E.C. Coipan, H. Sprong, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and *Anaplasma phagocytophilum* in Urban Hedgehogs, *Emerg. Infect. Dis.* 20 (2014) 496–498, <https://doi.org/10.3201/eid2003.130935>.
- [11] J. Skuballa, R. Oehme, K. Hartelt, T. Petney, T. Bücher, P. Kimmig, H. Taraschewski, European Hedgehogs as Hosts for *Borrelia* spp., Germany, *Emerg. Infect. Dis.* 13 (2007) 6–7, <https://doi.org/10.3201/eid1306.070224>.
- [12] J. Marié, B. Davoust, C. Socolovschi, D. Raoult, P. Parola, Molecular detection of rickettsial agents in ticks and fleas collected from a European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in Marseille, France, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 35 (2012) 77–79, <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.11.005>.
- [13] M. Chen, M.Y. Fan, D.Z. Bi, A molecular epidemiologic investigation of north Asia fever in scenic spots of Beijing suburb, *Zhonghua liu xing bing xue za zhi Zhonghua J. Epidemiol.* 18 (1997) 197–200.
- [14] V. Greigert, J. Brunet, B. Ouarti, M. Laroche, A.W. Pfaff, N. Henon, J. Lemoine, B. Mathieu, P. Parola, E. Candolfi, A. Abou-bacar, The tick of the hedgehog: case report and short review about *Archaeopsylla erinacei* (Siphonaptera: Pulicidae) in human health, *J. Med. Entomol.* XX (2019) 1–6, <https://doi.org/10.1093/jme/tjz157>.

- [15] R. De Sousa, P.-E. Fournier, M. Santos-Silva, F. Amaro, F. Bacellar, D. Raoult, Molecular detection of *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi* and two genotypes closely related to *Bartonella elizabethae*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75 (2006) 727–731.
- [16] M. Tomas-Pérez, M. Khaldi, C. Riera, D. Mozo-Leon, A. Ribas, M. Hide, G. Barech, M. Benyettou, K. Seghiri, S. Doudou, R. Fisa, First report of natural infection in hedgehogs with *Leishmania major*, a possible reservoir of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Algeria, *Acta Tropica* 135 (2014) 44–49, <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.03.018>.
- [17] G. Velo-Anton, Z. Boratynski, C.M. Ferreira, V.O. Lima, P.C. Alves, J.C. Brito, Intraspecific genetic diversity and distribution of North African hedgehogs (Mammalia: Erinaceidae), *Biol. J. Linn. Soc. XX* (2019) 1–8, <https://doi.org/10.1093/biolinean/blz030/5427976>.
- [18] K. Kowalski, B. Rzebił-Kowalska, *Mammals of Algeria*, Polish Academy of Sciences Press, 1991.
- [19] I. Bitam, P. Parola, K. Dittmar De La Cruz, K. Matsumoto, B. Baziz, J.-M. Rolain, M. Belkaid, D. Raoult, First molecular detection of *Rickettsia felis* in fleas from Algeria, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 74 (2006) 532–535.
- [20] I. Bitam, P. Parola, K. Matsumoto, J.M. Rolain, B. Baziz, S.C. Boubidj, Z. Harrat, M. Belkaid, D. Raoult, First molecular detection of *R. conorii*, *R. aeschlimannii*, and *R. massillae* in ticks from Algeria, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1078 (2006) 368–372, <https://doi.org/10.1196/annals.1374.073>.
- [21] I. Bitam, J.M. Rolain, V. Nicolas, Y. Tsai, P. Parola, V.A.K.B. Gundi, B.B. Chomel, D. Raoult, A multi-gene analysis of diversity of *Bartonella* detected in fleas from Algeria, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 35 (2012) 71–76, <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.11.002>.
- [22] T. Kernif, C. Socolovschi, I. Bitam, D. Raoult, P. Parola, Vector-borne rickettsioses in North Africa, *Infect. Dis. Clin. N. Am.* 26 (2012) 455–478, <https://doi.org/10.1016/j.idc.2012.03.007>.
- [23] A. Bouattour, Dichotomous identification keys of ticks (Acari: Ixodidae), livestock parasites in North Africa, *Arch. Inst. Pasteur Tunis* 79 (2002) 43–50.
- [24] A.R. Walker, A. Bouattour, J.L. Camicas, A. Estrada-Pena, I. Horak, A. Latif, R. G. Pegram, P.M. Preston, Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species, *Bioscience Reports*, Edinburgh Scotland, U.K., 2003.
- [25] J.-C. Beaucoeur, H. Launay, Les puces (Siphonaptera) de France et du bassin méditerranéen occidental, Paris, 1990.
- [26] A. Estrada-Pena, A.D. Mihalca, T.N. Petney, Ticks of Europe and North Africa: A Guide to identification of species, Springer International Publishing, 2018. (<https://books.google.fr/books?id=5JRDwAAQBAJ>).
- [27] A.Z. Diarra, L. Almeras, M. Laroche, J. Berenger, A.K. Kone, Z. Bocoum, A. Dabo, O. Doumbo, D. Raoult, P. Parola, Molecular and MALDI-TOF identification of ticks and tick-associated bacteria in Mali, *PLOS Negl. Trop. Dis.* 11 (2017) 1–25, <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005762>.
- [28] A. Zurita, R. Djeghar, R. Callejón, C. Cutillas, P. Parola, M. Laroche, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry as a useful tool for the rapid identification of wild flea vectors preserved in alcohol, *Med. Vet. Entomol.* 33 (2) (2018) 185–194, <https://doi.org/10.1111/mve.12351>.
- [29] A. Nebbak, B. El Hamzaoui, J.M. Berenger, I. Bitam, D. Raoult, L. Almeras, P. Parola, Comparative analysis of storage conditions and homogenization methods for tick and flea species for identification by MALDI-TOF MS, *Med. Vet. Entomol.* 31 (2017) 438–448, <https://doi.org/10.1111/mve.12250>.
- [30] A. Yssouf, C. Flaudrops, R. Drali, T. Kernif, C. Socolovschi, J.M. Berenger, D. Raoult, P. Parola, Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for rapid identification of tick vectors, *J. Clin. Microbiol.* 51 (2) (2013) 522–528, <https://doi.org/10.1128/JCM.02665-12>.
- [31] L. Benkacimi, G. Gazelle, B. El Hamzaoui, J. Berenger, P. Parola, M. Laroche, MALDI-TOF MS identification of *Cimex lectularius* and *Cimex hemipterus* bedbugs, *Infect. Genet. Evol.* 85 (2020) 1–14, <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104536>.
- [32] M. Vobis, J. D'Haese, H. Mehlhorn, N. Mencke, B.L. Blagburn, R. Bond, I. Denholm, M.W. Dryden, P. Payne, M.K. Rust, I. Schroeder, M.B. Vaughn, D. Bledsoe, Molecular phylogeny of isolates of *Ctenocephalides felis* and related species based on analysis of ITS1, ITS2 and mitochondrial 16S rDNA sequences and random binding primers, *Parasitol. Res.* 94 (2004) 219–226, <https://doi.org/10.1007/s00436-004-1201-x>.
- [33] P.H. Boyer, L. Almeras, O. Plantard, A. Grillon, K. Mcooy, B. Jaulhac, N. Boulanger, Identification of closely related Ixodes species by protein profiling with MALDI-TOF mass spectrometry, *PLOS One* 14 (2019) 1–22, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223735>.
- [34] M.L. Keita, H. Medkour, M. Sambou, H. Dahmana, O. Mediannikov, Tabanids as possible pathogen vectors in Senegal (West Africa), *Parasites & Vectors* 13 (2020) 1–15, <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04375-w>.
- [35] S. Hornok, A.D. Sándor, S. Tomanović, R. Beck, G. D'Amico, J. Kontschán, N. Takács, T. Görfö, M.L. Bendjeddou, G. Foldvári, R. Farkas, East and west separation of *Rhipicephalus sanguineus* mitochondrial lineages in the Mediterranean Basin, *Parasites & Vectors* 10 (2017) 1–11, <https://doi.org/10.1186/s13071-017-1985-z>.
- [36] G. Amori, R. Hutterer, B. Kryštufek, N. Yigit, G. Mitsain, L.J. Palomo, *Atelecria algirus*, North African Hedgehog, The IUCN Red List of Threatened Species 2008, e.T27926A9 (2008). <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T27926A9481697.en>.
- [37] A.O. Girisgin, B. Senlik, L. Aydin, V.Y. Cirak, Ectoparasites of hedgehogs (*Erinaceus concolor*) from Turkey, *Berliner Und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 128 (2015) 315–318.
- [38] A. Estrada-Pena, A.D. Mihalca, T.N. Petney, Ticks of Europe and North Africa: A Guide to Species Identification, Springer International Publishing, 2018. (<https://books.google.fr/books?id=5JRDwAAQBAJ>).
- [39] D. Tovornik, V. Cerný, Finding of *Haemaphysalis erinacei* *erinacei* Pavesi, 1884 on birds in Yugoslavia, *Folia Parasitol.* 21 (1974) 282.
- [40] F. Dantas-torres, The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control, in: *Vet. Parasitol.*, 2008, pp. 173–185, <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.030>.
- [41] O. Orkun, A. Çakmak, S. Nalbantoğlu, Z. Karaer, Molecular detection of a novel *Babesia* sp. and pathogenic spotted fever group rickettsiae in ticks collected from hedgehogs in Turkey: *Haemaphysalis erinacei*, a novel candidate vector for the genus *Babesia*, *Infect. Genet. Evol.* (2019), <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.01.028>.
- [42] M. Laroche, J.M. Béranger, P. Delaunay, R. Charrel, B. Pradines, F. Berger, S. Ranque, I. Bitam, B. Davoust, D. Raoult, P. Parola, Medical entomology: a reemerging field of research to better understand Vector-borne infectious diseases, *Clin. Infect. Dis.* 65 (2017) S30–S38, <https://doi.org/10.1093/cid/cix463>.
- [43] H. Benyahia, B. Ouarti, A.Z. Diarra, M. Boucheikhchoukh, M.N. Meguini, M. Behidji, A. Benakha, P. Parola, L. Almeras, Identification of lice stored in alcohol using MALDI-TOF MS, *J. Med. Entomol.* (2020), <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa266>.
- [44] C.A. Devaux, I. Omar Osman, M. Million, D. Raoult, *Coxiella burnetii* in Dromedary Camels (*Camelus dromedarius*): a possible threat for humans and livestock in North Africa and the Near and Middle East? *Front. Vet. Sci.* 7 (2020) 32, <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.558481>.
- [45] A.D. Loftis, W.K. Reeves, D.E. Szumlas, M.M. Abbassy, I.M. Helmy, J.R. Moriarity, G.A. Dasch, Surveillance of Egyptian fleas for agents of public health *Rickettsia* and *Yersinia pestis*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75 (2006) 41–48.
- [46] W. Sixl, M. Köck, H. Withalm, D. Stünzner, Serological investigations of the hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in Styria. 2. Report, *Geogr. Med. Supplement = Geographia Medica. Sonderband 2* (1989) 105–108.
- [47] X.-Q. Gong, X. Xiao, J.-W. Liu, H.-J. Han, X.-R. Qin, S.-C. Lei, X.-J. Yu, Occurrence and genotyping of *Coxiella burnetii* in hedgehogs in China, *Vector Borne Zoonotic Dis.* 20 (2020) 580–585, <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2589>.
- [48] L. Fang, S. Lei, Z. Yan, X. Xiao, J. Liu, X. Gong, H. Yu, X.-J. Yu, Detection of multiple intracellular bacterial pathogens in *Haemaphysalis flava* ticks collected from hedgehogs in Central China, *Pathogens* 10 (2021) 115.
- [49] M. Bellabidi, M.H. Benaissa, S. Bissati-bouafia, Z. Harrat, K. Brahmi, T. Kernif, *Coxiella burnetii* in camels (*Camelus dromedarius*) from Algeria: seroprevalence, molecular characterization, and ticks (Acari: Ixodidae) vectors, *Acta Tropica* (2020), 105443, <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105443>.
- [50] B. Adler, A. de la, P. Moctezuma, *Leptospira* and leptospirosis, *Vet. Microbiol.* 140 (2010) 287–296.
- [51] S. Zaidi, A. Bouam, A. Bessas, D. Hezil, H. Ghaoui, K. Ait-Oudhia, M. Drancourt, I. Bitam, Urinary shedding of pathogenic *Leptospira* in stray dogs and cats, Algiers: a prospective study, in: *PLOS One*, 13, 2018, pp. 1–11, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197068#e0AEditor>.
- [52] M. Mailloux, *Leptospira* in surface waters in Algeria. II. The waters of petite Kabylie; identification of 2 strains, *Archives de l'Institut Pasteur d'Algérie. Institut Pasteur d'Algérie*. 41 (1963), pp. 4–6.
- [53] M. Mailloux, *Leptospira* of surface waters in Algeria. I. Preliminary survey on the waters of the Algiers area and of the plain of Mitidja, *Archives de 40* (1962) 16–24.
- [54] A. Donatien, G. Gayot, L. Rampon, Bovine leptospirosis in Algeria, *Archives de 29* (1951) 18–19.
- [55] A. Donatien, G. Gayot, J. Poul, Leptospirosis of the dog in Algeria, *Archives de 29* (1951) 20–24.
- [56] C. Bernard, Ictero-hemoglobinuric syndrome of bovines observed in Algeria, *Archives de 28* (1950) 334–338.
- [57] P. Aubry, R. Bordahandy, T. Ferah, M. Mailloux, J. Thomas, An anatomy of ictero-hemorrhagic leptospirosis in a military group in Algeria, *Bulletin de la Société de pathologie exotique et de ses filiales* 68 (1975) 370–376.
- [58] M. Afiri, A. Amara Khorba, A. Ait Kaid, Renal manifestations of leptospirosis: 88 cases, *Medicine et sante tropicales* 23 (2013) 234–235, <https://doi.org/10.1684/mst.2013.0204>.
- [59] M. Afiri, F. Toudeft, K.D. Ait, Leptospirosis epidemic: 48 cases, *Medicine et sante tropicales* 23 (2013) 234, <https://doi.org/10.1684/mst.2013.0203>.
- [60] S. Derdour, F. Hafsi, N. Azzag, S. Tennah, A. Laamari, F. Ghalimi, Prevalence of the main infectious causes of abortion in dairy cattle in Algeria, *J. Vet. Res.* 61 (2017) 337–343, <https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0044>.
- [61] X. Ma, X. Gong, X. Xiao, J. Liu, H. Han, X. Qin, S. Lei, X. Gu, H. Yu, X. Yu, Detection of *Leptospira interrogans* in Hedgehogs from Central China, *Vector-Borne and Zoonotic Dis.* XX (2020) 1–5, <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2544>.
- [62] A. Wojcik-fatla, V. Zajac, E. Cisak, J. Sroka, A. Sawczyn, Leptospirosis as a tick-borne disease? Detection of *Leptospira* spp. in *Ixodes ricinus* ticks in eastern Poland, *Ann. Agric. Environ. Med.* 19 (2012) 656–659.
- [63] H.M. Nguyen, W. Theppannga, K. Vongphayloth, B. Douangneun, S.D. Blacksell, M.T. Robinson, Screening of ectoparasites from domesticated dogs for bacterial pathogens in Vientiane, Lao PDR, *Zoonoses Public Health* 67 (2020) 856–862, <https://doi.org/10.1111/zph.12753>.
- [64] B. Davoust, O. Mediannikov, J.-L. Marié, C. Socolovschi, P. Parola, D. Raoult, Are vertebrates reservoir hosts for rickettsia? *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* 163 (2010) 291–302.
- [65] C. Eldin, P. Parola, Rickettsioses, *La Revue du praticien* 70 (2020) 201–205.
- [66] A. Renvoisé, O. Mediannikov, D. Raoult, Old and new tick-borne rickettsioses, *Int. Health* 1 (2009) 17–25, <https://doi.org/10.1016/j.inhe.2009.03.003>.

- [67] E. Angelakis, O. Mediannikov, P. Parola, D. Raoult, *Rickettsia felis*: the complex journey of an emergent human pathogen, *Trends Parasitol.* xx (2016) 1–11, <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.04.009>.
- [68] C. Dieme, Y. Bechah, C. Socolovschi, G. Audoly, J. Berenger, O. Faye, D. Raoult, P. Parola, Transmission potential of *Rickettsia felis* infection by *Anopheles gambiae* mosquitoes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112 (2015) 8088–8093, <https://doi.org/10.1073/pnas.1413935112>.
- [69] P. Brouqui, P. Parola, P.E. Fournier, D. Raoult, Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 49 (2007) 2–12, <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2006.00138.x>.
- [70] G. Vitale, S. Mansueto, J.-M. Rolain, D. Raoult, *Rickettsia massilliae* human isolation, *Emerg. Infect. Dis.* 12 (2006) 174–175.
- [71] J. Gilles, C. Silaghi, F.T. Just, I. Pradel, K. Pfister, Polymerase chain reaction detection of *Rickettsia felis* – like organism in *Archaeopsylla erinacei* (Siphonaptera: Pulicidae) from Bavaria, Germany, *J. Med. Entomol.* 46 (2009) 703–707, <https://doi.org/10.1603/033.046.0338>.
- [72] E. Angelakis, D. Raoult, Pathogenicity and treatment of *Bartonella* infections, *Int. J. Antimicrob. Agents* XXX (2014) 1–10, <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.04.006>.
- [73] L. Halos, T. Jamal, R. Maillard, B. Girard, J. Guillot, B. Chomel, M. Vaysier-tausat, H. Boulouis, Role of Hippoboscidae flies as potential vectors of *Bartonella* spp. infecting wild and domestic ruminants, *Appl. Environ. Microbiol.* 70 (2004) 6302–6305, <https://doi.org/10.1128/AEM.70.10.6302>.
- [74] K. Majerova, R. Gutiérrez, M. Fonville, V. Hönig, P. Papežik, L. Hofmannová, P. M. Lesiczka, Y. Nachum-Biala, D. Ruzek, H. Sprong, S. Harrus, D. Modrý, J. Votýpka, Hedgehogs and squirrels as hosts of zoonotic *Bartonella* species, *Pathogens* 10 (2021) 1–16, <https://doi.org/10.3390/pathogens10060686>.
- [75] S. Hornok, G. Földvári, K. Rigó, M.L. Meli, M. Tóth, V. Molnár, E. Gönczi, R. Farkas, R. Hofmann-Lehmann, Vector-Borne agents detected in fleas of the northern white-breasted hedgehog, *Vector-Borne and Zoonotic Dis.* 14 (2014) 74–76, <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1387>.
- [76] I. Bitam, J.-M. Rolain, T. Kernif, B. Baziz, P. Parola, D. Raoult, *Bartonella* species detected in rodents and hedgehogs from Algeria, *Clin. Microbiol. Infect.* 15 (2008) 102–103, <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02180.x>.
- [77] G. Greco, A.A.K. Zarea, G. Sgroi, M. Tempesta, N. D'Alessio, G. Lanave, M. A. Bezerra-Santos, I. Roberta, V. Veneziano, D. Otranto, B. Chomel, Zoonotic *Bartonella* species in Eurasian wolves and other free-ranging wild mammals from Italy, *Zoonoses Public Health* 68 (2021) 316–326, <https://doi.org/10.1111/zph.12827>.
- [78] O. Marciano, R. Gutiérrez, D. Morick, R. King, Y. Nachum-Biala, G. Baneth, S. Harrus, Detection of *Bartonella* spp. in wild carnivores, hyraxes, hedgehog and rodents from Israel, *Parasitology* 143 (2016) 1232–1242, <https://doi.org/10.1017/S0031182016000603>.
- [79] P. Parola, B. Davoust, D. Raoult, Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses, *Vet. Res.* 36 (2005) 469–492, <https://doi.org/10.1051/vetres>.
- [80] L. Pruneau, A. Mounié, D.F. Meyer, I. Marcelino, T. Lefrançois, N. Vachéry, Understanding Anaplasmataceae pathogenesis using “Omics” approaches, *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 4 (2014) 1–7, <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00086>.
- [81] F. Landmann, The *Wolbachia* endosymbionts, BAI-0018-2019, *Microbiol. Spectr.* 7 (2019), <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.BAI-0018-2019>.
- [82] Z. Onder, A. Ciloglu, O. Duzlu, A. Yildirim, M. Okur, G. Yetismis, A. Inci, Molecular detection and identification of *Wolbachia* endosymbiont in fleas (Insecta: Siphonaptera), *Folia Microbiol.* 64 (2019) 789–796, <https://doi.org/10.1007/s12223-019-00692-5>.
- [83] A. Zurita, L. Benkacimi, K. El Karkouri, C. Cutillas, P. Parola, M. Laroche, New records of bacteria in different species of fleas from France and Spain, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 76 (2021), 101648, <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101648>.
- [84] A.J. Bekloo, H. Bakhschi, A. Soufizadeh, M.M. Sedaghat, R.J. Bekloo, M. R. Ranzgouyan, A.H. Chegeni, F. Faghghi, Z. Telmadarraiy, Ticks circulate *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Babesia* and *Theileria* parasites in North of Iran, *Vet. Parasitol.* 248 (2017) 21–24, <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.10.015>.
- [85] M. Dahmani, A. Loudahi, O. Mediannikov, F. Fenollar, D. Raoult, B. Davoust, Molecular detection of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from Kabylie, Algeria, *Ticks and Tick-Borne Dis.* 6 (2015) 198–203, <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.12.007>.
- [86] N. Azzag, E. Petit, C. Gando, C. Bouillin, F. Ghalmi, N. Haddad, H.-J. Boulouis, Prevalence of select vector-borne pathogens in stray and client-owned dogs from Algiers, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 38 (2015) 1–7, <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2015.01.001>.
- [87] R. Sadeddine, A.Z. Diarra, M. Laroche, O. Mediannikov, S. Righi, A. Benakhla, H. Dahmana, D. Raoult, P. Parola, Molecular identification of protozoal and bacterial organisms in domestic animals and their infesting ticks from north-eastern Algeria, *Ticks and Tick-Borne Dis.* (2019), <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101330>.
- [88] L. Kidd, R. Maggi, P.P.V.P. Diniz, B. Hegarty, M. Tucker, E. Breitschwerdt, Evaluation of conventional and real-time PCR assays for detection and differentiation of spotted fever group *Rickettsia* in dog blood, *Vet. Microbiol.* 129 (2008) 294–303, <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.11.035>.
- [89] C. Sokhna, O. Mediannikov, F. Fenollar, H. Bassene, G. Diatta, A. Tall, J.-F. Trape, M. Drancourt, D. Raoult, Point-of-care laboratory of pathogen diagnosis in rural Senegal, *PLOS Negl. Trop. Dis.* 7 (2013) 10, <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001999>.
- [90] A. Luce-fedrow, K. Mullins, A.P. Kostik, H.K.S. John, J. Jiang, A.L. Richards, Strategies for detecting rickettsiae and diagnosing rickettsial diseases, *Future Microbiol.* 10 (2015) 537–564, <https://doi.org/10.2217/fmb.14.141>.
- [91] C. Socolovschi, P. Reynaud, T. Kernif, D. Raoult, P. Parola, Rickettsiae of spotted fever group, *Borrelia valaisiana*, and *Coxiella burnetii* in ticks on passerine birds and mammals from the Camargue in the south of France, *Ticks and Tick-Borne Dis.* 3 (2012) 354–359, <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.10.019>.
- [92] J. Rolain, M. Franc, B. Davoust, D. Raoult, Molecular Detection of *Bartonella quintana*, *B. koehlerae*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *Rickettsia felis*, and *Wolbachia pipiensis* in Cat Fleas, France, 338, *Emerg. Infect. Dis.* 9 (2003) 338–342.
- [93] L.D. Smythe, I.L. Smith, G.A. Smith, M.F. Dohnt, M.L. Symonds, L.J. Barnett, D. B. McKay, A quantitative PCR (TaqMan) assay for pathogenic *Leptospira* spp, *BMC Infect. Dis.* 2 (2002) 1–7, <https://doi.org/10.1186/1471-2334-2-13>.
- [94] O. Mediannikov, F. Fenollar, C. Socolovschi, G. Diatta, H. Bassene, J.-F. Molez, C. Sokhna, J.-F. Trape, D. Raoult, *Coxiella burnetii* in Humans and Ticks in Rural Senegal, *PLOS Negl. Trop. Dis.* 4 (2010) 1–8, <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000654>.
- [95] M.L. Djiba, O. Mediannikov, M. Mbaye, Y. Thioungane, J.-F. Molez, M.T. Seck, F. Fenollar, D. Raoult, M. Ndiaye, Accepted, M. Ndiaye, Survey of Anaplasmataceae bacteria in sheep from Senegal, *Trop. Anim. Health Prod.* 45 (2013) 1557–1561, <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0399-y>.
- [96] A.Z. Diarra, A.K. Kone, S. Doumbo Niare, M. Laroche, G. Diatta, S.A. Atteynine, M. Coulibaly, A.K. Sangare, B. Kouriba, A. Djimde, A. Dabo, I. Sagara, B. Davoust, S. Ranque, M.A. Thera, D. Raoult, O.K. Doumbo, P. Parola, Molecular detection of microorganisms associated with small mammals and their ectoparasites in Mali, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 103 (2020) 2542–2551, <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0727>.
- [97] P.-E. Fournier, V. Roux, D. Raoult, Phylogenetic analysis of spotted fever group rickettsiae by study of the outer surface protein rOmpA, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48 (1998) 839–849, <https://doi.org/10.1099/00207713-48-3-839>.
- [98] B. La Scola, L.T.M. Bui, G. Baranton, A. Khamis, D. Raoult, Partial rpoB gene sequencing for identification of *Leptospira* species, *Fed. Eur. Microbiol. Soc.* 263 (2006) 142–147, <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00377.x>.
- [99] M. Dahmani, B. Davoust, F. Rousseau, D. Raoult, F. Fenollara, O. Mediannikov, Natural Anaplasmataceae infection in *Rhipicephalus bursa* ticks collected from sheep in the French Basque Country, *Ticks and Tick-Borne Dis.* (2016) 1–7, <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.09.009>.
- [100] S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, K. Tamura, MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms, *Molecular Biology and Evolution* 35 (6) (2018) 1547–1549.

Communications affichées

1. **Contribution to the Monitoring of Leptospira in Wild Animals (Hedgehog of Bouira District)**, Présentée aux deuxièmes journées scientifiques des sciences de la nature et de la vie, le 14 Décembre 2016 à l'Université d'Akli Mohand Oulhadj, Bouira, Algérie.
Auteurs: N. Aouadi, R. Mensah Tonyi, S. Abbas, I. Bitam, K. Arab
2. **L'identification des ectoparasites du hérissons d'Algérie *Atelerix algirus* utilisant des clés dichotomiques et MALDI-TOF/MS**, présenté aux cinquièmes journées d'étude nationale sur la zoologie appliquée et l'écophysiologie animale, le 22 et 23 Octobre 2019, Jijel, Algérie.
Auteurs : N.Aouadi, I. Bitam, P. Parola
3. **Detection of the q Fever agent in *atelerix algirus* hedgehogs and their ectoparasites**, présenté au Congrès International sur la Valorisation des Bio Ressources: Application et Impact sur le Développement Durable (CIVBAIDD), le 26 et 27 Novembre 2019, Boumerdès, Algérie.
Auteurs : N.Aouadi, I. Bitam, P. Parola

-----Résumé-----

Les hérissons sont de petits mammifères sauvages. Ce sont des réservoirs potentiels de divers agents zoonotiques. La présente étude a été menée à Bouira, une région du centre-nord de l'Algérie, elle vise à évaluer le risque de la transmission des maladies zoonotiques vers l'homme par le biais des hérissons d'Algérie (*Aterix algirus*). Les hérissons étaient infestés d'ectoparasites, dont *Archaeopsylla erinacei*, *Rhipicephalus sanguineus s.l.* et *Haemaphysalis erinacei*. Des organes de hérisson et des arthropodes choisis au hasard ont été dépistés de micro-organismes à l'aide de méthodes moléculaires. *Coxiella burnetii* a été détectée dans les reins, la rate, *A. erinacei*, *Hae. erinacei* et *Rh. sanguineus s.l.* *Leptospira interrogans* a été détecté dans les reins. *Rickettsia felis* et *Rickettsia massiliae* ont été détectés respectivement chez *A. erinacei* et chez *Rh. sanguineus s.l.* ADN d'une *Rickettsia spp* non cultivée a été trouvé à *Hae. erinacei*. L'ADN de *Wolbachia spp.* a été détecté dans les puces. L'ADN de nouvelles espèces potentielles de *Bartonella* et d'*Ehrlichia* a été trouvé respectivement chez les puces et les tiques. Cette étude met en évidence la présence d'ADN provenant d'une large gamme de micro-organismes chez les hérissons et leurs ectoparasites qui pourraient être responsables de zoonoses en Algérie.

Mots-clés : Hérissons ; tiques; puces; micro-organismes; zoonoses;Algérie.

-----ملخص-----

القنفاذ من الثدييات البرية الصغيرة. إنها خزانات محتملة للعديد من العوامل الحيوانية المنشأ. أجريت هذه الدراسة في البويرة ، وهي منطقة وسط شمال الجزائر ، وتهدف إلى تقييم مخاطر انتقال الأمراض الحيوانية المنشأ إلى الإنسان عن طريق قنفاذ القنفاذ الجزائرية (*Aterix algirus*).

كانت القنفاذ موبوءة بالطفيليات الخارجية ، بما في ذلك *Archaeopsylla erinacei* و *Rhipicephalus sanguineus s.l.* و *Haemaphysalis erinacei*. تم فحص أعضاء القنفاذ ومفصليات الأرجل المختارة عشوائياً بحثاً عن كائنات دقيقة باستخدام الطرق الجزيئية. تم اكتشاف بكتيريا *Coxiella burnetii* في الكلى والطحال و *A. erinacei* و *Hae. erinacei* و *Rh. sanguineus s.l.* تم اكتشاف *Leptospira interrogans* في الكلى. تم اكتشاف *Rickettsia felis* و *Rickettsia massiliae* على التوالي في *A. erinacei* و *Rh. sanguineus s.l.*

تم العثور على الحمض النووي *Rickettsia spp.* غير المزروعة في *Hae. erinacei* و كذلك تم الكشف عن الحمض النووي *Wolbachia spp.* في البراغيث. وكذلك العثور على الحمض النووي للأصناف الجديدة المحتملة من *Bartonella* و *Ehrlichia* في البراغيث والقراد.

تسلط هذه الدراسة الضوء على وجود الحمض النووي من مجموعة واسعة من الكائنات الحية الدقيقة في القنفاذ والطفيليات الخارجية التي قد تكون مسؤولة عن الأمراض الحيوانية المنشأ في الجزائر..

الكلمات الرئيسية: القنفاذ. القراد. البراغيث. الكائنات الدقيقة؛ أمراض حيوانية المصدر. الجزائر

-----Abstract-----

Hedgehogs are small wild mammals. They are potential reservoirs of various zoonotic agents; hence their great importance in the medical and veterinary fields. This study was conducted in Bouira, a north-central region of Algeria, and aims to assess the risk of the transmission of zoonotic diseases to humans through Algerian hedgehogs (*Aterix algirus*). The hedgehogs were infested with ectoparasites, including *Archaeopsylla erinacei*, *Rhipicephalus sanguineus s.l.* and *Haemaphysalis erinacei*. Hedgehog organs and randomly selected arthropods were screened for microorganisms using molecular methods. *Coxiella burnetii* was detected in kidneys, spleens, *A. erinacei*, *Hae. erinacei*, and *Rh. sanguineus s.l.* *Leptospira interrogans* was detected in kidneys. *Rickettsia felis* and *Rickettsia massiliae* were detected respectively in *A. erinacei* and in *Rh. sanguineus s.l.* DNA of an uncultivated *Rickettsia spp.* was found in *Hae. erinacei*. *Wolbachia spp.* DNA was detected in fleas. The DNA of potential new *Bartonella* and *Ehrlichia* species were found respectively in fleas and ticks. This study highlights the presence of DNA from a broad range of microorganisms in hedgehogs and their ectoparasites that may be responsible for zoonoses in Algeria.

Keywords: Hedgehogs; ticks; fleas; microorganisms; zoonoses; Algeria.