



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **25 janvier 2019**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **MARQUEZ Aurélie**

Titre de la thèse : « *Gestion de populations de rongeurs dans un contexte leptospirosique* »



Résumé

L'objectif de cette thèse est de développer un nouvel instrument de chromatographie de partage centrifuge (CPC) dédié à la purification de molécules très polaires. La CPC est une technique préparative permettant la séparation des molécules grâce à l'utilisation d'un système solvant constitué de deux liquides non miscibles. Ce manuscrit expose dans un premier temps les différentes techniques de purification de protéines utilisées dans le cas d'un procédé industriel de production. Un focus est réalisé sur l'utilisation de systèmes biphasiques aqueux pour la purification des biomolécules, qui représente un réel avenir dans l'industrie du fait de son faible coût, de sa facilité de montée en échelle et surtout de l'environnement favorable qu'il fournit aux biomolécules. Ainsi en se basant sur les avantages de ces systèmes solvants dits Aqueous Two Phase Systems (ATPS), la CPC pourrait apporter une efficacité supplémentaire permettant de purifier les protéines à moindre coût. Pour pouvoir répondre à cet enjeu industriel, il est nécessaire de développer à la fois des méthodes chromatographiques innovantes et de nouveaux instruments dédiés. En effet, les instruments de CPC actuels ne sont pas compatibles avec les Bonne Pratique de Fabrication du fait de la présence de joints téflons qui empêche la possibilité de stériliser les instruments. La fabrication d'un nouvel instrument monobloc entièrement en titane a été réalisée grâce à la technologie de l'impression 3D pour répondre à cette problématique. L'objet de cette thèse est l'évaluation poussée des performances de cette nouvelle colonne afin de déterminer son applicabilité à la purification des biomolécules. Un focus sera également apporté à l'injection de volumes très faibles d'échantillon afin de faciliter le développement de méthodes.

La gestion de populations de rongeurs est importante car ils peuvent causer divers problèmes économiques, écologiques et sanitaires. Cette gestion s'appuie sur des méthodes de prévention, celles-ci étant des mesures architecturales, hygiéniques et des pratiques agricoles. Elle s'appuie également sur des méthodes de lutte biologique, chimique et mécanique. La lutte chimique se fait principalement avec l'utilisation de rodenticides anticoagulants qui agissent plusieurs heures après ingestion permettant d'éviter l'éviction alimentaire. L'utilisation excessive de ces molécules a entraîné la sélection de résistance chez certains individus rendant leur utilisation peu efficace. Il y a alors eu le développement de nouvelles molécules, mais celles-ci sont plus écotoxiques. Nous nous sommes intéressés dans ces travaux de thèse à la gestion de populations de rongeurs dans un cadre de risque sanitaire leptospirosique. Les rongeurs sont les principaux réservoirs de leptospires pathogènes, des bactéries Spirochètes responsables de la leptospirose. La leptospirose est une zoonose ré-émergente à répartition mondiale dont le nombre de cas annuel est évalué à approximativement un million et dont il y a eu une augmentation du nombre de cas ces dernières années. Elle est endémique en régions tropicales. C'est une maladie dont l'incidence réelle est sous-estimée en raison notamment de la grande variabilité de symptômes possibles allant du syndrome grippal à des formes rénales. Le taux de mortalité est élevé aux alentours de 10% mais pouvant aller jusqu'à 50% dans

certains cas avec des complications pulmonaires. De nombreux facteurs influent sur le cycle complexe de transmission de la leptospirose. Il peut y avoir un risque sanitaire lié à la présence de rongeurs porteurs de leptospires pathogènes, qui peut être difficile à contrôler si les rongeurs sont résistants aux rodenticides anticoagulants utilisés pour réguler leurs populations. De plus, il peut y avoir des problèmes d'exposition à des risques écotoxiques lors de mise en place de traitements chimiques.

Nous avons étudié plusieurs cas concrets montrant la difficulté dans la prise de décision liée à la gestion des rongeurs dans des contextes divers. Dans un contexte de problèmes économiques, nous avons analysé le portage de leptospires pathogènes par des campagnols des champs et des campagnols terrestres ainsi que la résistance de cible à la bromadiolone, molécule utilisée en lutte chimique à basse densité de population. Nous nous sommes intéressés à l'influence de la perception sociétale sur le risque sanitaire lié à des souris dans un élevage bovin dans lequel il y a des cas de leptospirose humaine et de leptospirose bovine. Dans le cadre d'un projet visant à étudier l'efficacité de gestion de populations de rongeurs commensaux en Martinique dans un contexte leptospirosique, nous avons regardé l'exposition des rongeurs aux AVKs et la résistance de cible aux AVKs.

Pour le portage de leptospires pathogènes par les campagnols nous avons trouvé des prévalences allant de 3% à 53% selon la zone étudiée. Il y avait 3 mutations sur le gène *vkorc1* amenant peu de résistance de cible à la bromadiolone. Dans l'élevage bovin nous avons notamment trouvé que la perception sociétale de l'éleveur sous-estimait le risque lié aux souris dont 41% étaient porteuses de leptospires pathogènes et 50% étaient porteuses de mutations du gène *vkorc1* amenant de la résistance de cible aux AVKs. En Martinique nous avons trouvé que 54% des individus analysés avaient été exposés à au moins une molécule AVKs et qu'il y avait plusieurs mutations du gène *vkorc1* dont certaines pas encore caractérisées amenant de la résistance de cible aux AVKs.

La gestion des rongeurs est un problème complexe avec plusieurs facteurs à prendre en compte que ce soient les risques liés à l'exposition aux rongeurs ou ceux liés à l'utilisation de rodenticides anticoagulants. De plus, la notion de risque est scientifique mais la perception qui est subjective participe à la prise de décision d'un moyen de gestion.