

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud MAMMERY Tizi-Ouzou
ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵉⵎⵎⵓⵔ ⵏ ⵜⴰⵣⵣⴰⵖⴰ ⵏ ⵜⴰⵣⵣⴰⵖⴰ

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département des Sciences Biologiques



En Vue De L'Obtention Du Diplôme

Master

Filière : Science Biologiques

Spécialité : Biologie des populations et des organismes

Thème

**Détection et caractérisation des arbovirus et de la bactérie *Wolbachia*
à partir des tiques de la région d'Azazga et Bouzguéne.**

Présenté par : Melle MESSAOUDENE Sarah

Mr. ZOURDANI Karim

Soutenu publiquement le 29/09/2025, devant le jury :

M^{me} DJIOUA Ouiza	MAA	UMMTO	Présidente
Mr. BENALLAL Kamal Eddine	Chargé de recherche	Institut Pasteur	Promoteur
M^{me} BRAHMI Karima	Professeur	UMMTO	Co-Promotrice
M^{me} TALBI-KHAMES Nassima	MAA	UMMTO	Examinatrice

Promotion : 2024 /2025

Remerciement

Nous remercions avant tout DIEU Tout-Puissant de qui émanent la force, la patience et la persévérance. C'est grâce à Sa volonté et à Sa miséricorde que nous avons pu mener à bien ce travail et surmonter toutes les difficultés rencontrées.

Nos sincères remerciements vont à notre promoteur, Mr. Benallal Kamal Eddine, pour son accompagnement constant et ses précieux conseils. Son implication, sa disponibilité et ses orientations pertinentes ont grandement enrichi ce travail et facilité notre progression à chaque étape de ce parcours.

Nous adressons nos remerciements à notre co-promotrice, Mme Brahmi Karima, pour avoir supervisé ce travail et pour l'honneur qu'elle nous a fait en encadrant ce mémoire.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à Mme Djioua Ouiza, présidente du jury, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant d'évaluer ce travail et pour l'intérêt porté à notre recherche.

Nos remerciements s'adressent à Mme Talbi-Khames Nassima en qualité d'examinatrice, pour avoir accepté de participer à l'évaluation de ce mémoire et pour l'intérêt porté à notre travail.

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude à toute l'équipe de l'Institut Pasteur, pour leur accueil chaleureux, leur disponibilité et leurs encouragements. Leur soutien et leurs échanges ont constitué pour nous une aide précieuse et un cadre favorable à l'avancement de ce travail.

Nous n'oublions pas toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Dédicace

À mes parents bien-aimés, qui sont la racine de ma vie et l'horizon de mes rêves.

À toi, ma douce maman, aucun mot ne pourra jamais traduire la profondeur de mon amour et de ma gratitude, tu as veillé sur moi avec tendresse, porté mes fardeaux en silence et guidé mes pas par tes prières et ton cœur immense ; chaque réussite est un reflet de tes sacrifices, chaque sourire que je porte est né de ton courage. Ce travail, je te le dédie comme le plus humble des cadeaux, car il est l'écho de ton amour infini.

À mes chers frères et sœurs, vous êtes ma force, ma fierté et mon refuge, chacun de vous, a contribué à m'apporter soutien, affection et motivation.

À ma chère Dyhia, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et ma profonde admiration, vous avez été une véritable guide, toujours présente pour m'accompagner avec vos conseils avisés, votre expérience précieuse et vos encouragements constants.

À ma chère tante, Ouardia, merci d'avoir toujours été là pour m'accompagner, me soutenir et m'encourager tout au long de mon parcours.

À toutes les personnes qui, par un geste, un sourire, un mot d'encouragement ou une simple présence, ont su raviver mon courage. À ceux qui ont essuyé mes larmes, qui m'ont tendu la main dans mes moments de faiblesse et qui m'ont supportée dans mes pires situations. Votre bienveillance restera à jamais gravée dans ma mémoire et dans mon cœur.

*À mon binôme et frère de cœur, **Zourdani Karim**, Ce travail est le fruit d'un chemin que nous avons parcouru ensemble, avec ses joies, ses doutes et ses difficultés, tu as été un ami fidèle, un soutien constant, nous avons lutté, persévéré et parfois galéré à deux, mais toujours avec la même volonté d'aller jusqu'au bout, Merci pour ton amitié, ta solidarité et ta détermination, sans lesquelles cette aventure n'aurait jamais eu la même valeur.*

Dédicace

Avant toute chose, je rends grâce à Dieu Tout-Puissant, Lui qui éclaire mon chemin, apaise mes craintes et fortifie ma volonté. Sans Sa miséricorde et Sa guidance, ce travail n'aurait pu voir le jour.

À ma chère mère, symbole de tendresse infinie, de patience et de sacrifices silencieux, Tu es la lumière qui a guidé chacun de mes pas, la force qui m'a porté dans mes moments de doute et le cœur dans lequel je puise mon courage.

À mon père, pilier de sagesse et de générosité, qui m'a appris la valeur de l'effort, de la persévérance et de

L'honneur. Ton soutien constant et ta confiance en moi sont les fondations de cette réussite.

À mes frères et sœurs, compagnons de vie et de cœur, qui m'ont entouré d'affection, de prières et de réconfort. votre présence est un trésor qui embellit mes journées.

À ma sœur Djawida, je dédie des mots particuliers, car ton rôle dans ma vie dépasse celui d'une simple sœur. Tu es une confidente précieuse, toujours prête à écouter mes inquiétudes, à partager mes joies, à apaiser mes peines. Ton sourire est une source d'encouragement, ta voix un réconfort, et ta confiance en moi une force inestimable. Dans mes moments de doute, tu as su trouver les mots justes pour m'aider à continuer. Dans mes instants de réussite, tu as su partager ma joie avec sincérité. Plus qu'une sœur, tu es une amie fidèle, un soutien inébranlable, une lumière constante dans mon horizon.

À mes amis, à leur tête Si Ahmed Amina et Ziam Mohamed Ilyas, ces étoiles qui illuminent mon parcours, dont les sourires, la confiance et le soutien indéfectible ont adouci les moments de fatigue et rendu plus beaux les instants de réussite.

*À mon binôme **Messaoudène Sarah**, partenaire de route dans cette belle aventure académique, avec qui j'ai partagé les efforts, les doutes, mais aussi les satisfactions et la fierté de ce chemin parcouru ensemble.*

À vous tous,

je dédie ce travail comme le fruit d'un effort personnel, mais surtout comme le reflet de l'amour, de l'amitié et du soutien qui m'ont accompagné jusqu'ici.

La liste des figures

Figure 1- La systématique des tiques.	2
Figure 2- La morphologie générale des tiques.	5
Figure 3- Cycle de vie des tiques.	6
Figure 4- Organisation génomique du virus TBE.	9
Figure 5- Représentation schématique de la structure de Crimée-Congo	11
Figure 6- Illustration de la bactérie endosymbiotique <i>Wolbachia</i> dans les cellules d'un insecte hôte.	13
Figure 7- Schéma des principaux mécanismes de transfert horizontal de gènes chez les bactéries.	14
Figure 8- Carte géographique des sites de collecte des tiques.	15
Figure 9- Laboratoire des arbovirus et des virus émergents, l'Institut Pasteur d'Algérie, Annexe Sidi-Fredj.	16
Figure 10- Méthode de drap ; B : Tique sur le drap.	17
Figure 11- A- La technique de capture directe ; B- Une tique fixé sur une mamelle d'une vache.	17
Figure 12- Schéma des étapes de l'extraction de l'ARN	21
Figure 13- Thermocycleur « Smart Cycler ».	22
Figure 14- Les étapes suivies pour la préparation le mix réactionnel.	22
Figure 15- Schéma représentant les étapes de la migration sur le gel d'agarose.	27
Figure 16- Principe du séquençage de l'ADN à l'aide d'électrophorèse capillaire en gel. ...	28
Figure 17- Des graphes représentant l'abondance relatives des tiques ♂ et ♀ dans la zone d'Azazga.	32
Figure 18- Des graphes représentant l'abondance relatives des tiques ♂ et ♀ dans la zone de Bouzeguène.	32
Figure 19- Graphe représentant des résultats de L'eGFP.	35
Figure 20- Graphe représentant un résultat négatif de virus TBE.	37
Figure 21- Graphe représentant un résultat négatif de virus CCHF.	39
Figure 22- Gel d'électrophorèse des produits PCR ciblant W16s de <i>Wolbachia</i> chez les tiques.	

La liste des tableaux

Tableau 1 - Les Principaux pathogènes transmis par les tiques dans le monde.	6
Tableau 2 - Détermination des volumes des réactifs pour le mix qRT-PCR (CCHF).	23
Tableau 3 - Détermination des volumes des réactifs pour le mix qRT-PCR (TBEV).	23
Tableau 4 - Détermination des volumes des réactifs pour le mix qRT-PCR (eGFP).	24
Tableau 5 - Programme thermocycleur de RT-PCR.	24
Tableau 6 - Protocole expérimental de la PCR <i>Wolbachia</i>	25
Tableau 7 - Profil thermique de PCR <i>Wolbachia</i>	25
Tableau 8 - Le protocole expérimental de la PCR-séquençage	29
Tableau 9 - Profile thermique de la réaction	29
Tableau 10 - Résultats d'identification des tiques collectées	31
Tableau 11 - Les échantillons extraits des tiques.....	33
Tableau 12 - Résultat de la RT-PCR de virus de l'encéphalite à tique	35
Tableau 13 - Résultat de la RT-PCR de virus Crimée-Congo	37
Tableau 14 - Résultats d'amplification du W16s <i>Wolbachia</i>	39

Liste des abréviations

TBE Encéphalite à tique

TBEV Encéphalites virales à tique

CCHF Fièvre hémorragique de Crimée-Congo

CCHFV Virus de la fièvre hémorragique du Crimée-Congo

PCR Polymerase Chain Reaction

RT-PCR Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

RT Rétrotranscription

ADN Acide Desoxy Ribonucléique

ARN Acide RiboNucléique

ADNc ADN complémentaire

BSL2 / P2 Laboratoire de niveau de sécurité biologique 2

BSL3 / P3 Laboratoire de niveau de sécurité biologique 3

SVF Sérum de veau foetal

RAV1 Tampon RIPA avec ajout de Vanadate 1

RAW RIPA avec inhibiteurs anti-protéase et anti-phosphatase

RAV3 RIPA avec inhibiteurs anti-protéase et anti phosphatase 3

eGFP Protéine fluorescente verte améliorée

Tampon TBE Tris-Borate-EDTA

H₂O Eau

dNTP désoxynucléotides triphosphates

ddNTP dideoxynucléotides triphosphates

A Adénine

T Thymine

C Cytosine

G Guanine

% pourcentage.

T° Température.

°C Degré Celsius.

µl Microlitre.

ml millilitre

Km kilomètre.

Km² kilomètre carré

Mm millimètre.

UV Ultra Violet

Pb paire de base

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I. Synthèse Bibliographique	
I.1. - Généralité sur les tiques.....	3
I.1.1. - Systématique des tiques.....	3
I.1.2. - Morphologie générale sur les tiques dures.....	4
I.1.3. - Cycle de développement des tiques dures.....	5
I.1.4. - Importance médicale et vétérinaire.....	6
I.1.4.1. - Principaux pathogènes transmis par les tiques dures.....	7
I.1.4.2. - Impact sanitaire direct et indirect des tiques	7
I.2. - Virus.....	8
I.2.1. – Arbovirus.....	8
I.2.1.1. - La maladie de l'encéphalite à tiques (TBE).....	8
I.2.1.1.1. - Caractéristique et structure de TBE.....	9
I.2.1.1.2. - Manifestation Clinique TBE.....	10
I.2.1.2. - La maladie de fièvre hémorragique de Crimée-Congo.....	10
I.2.1.2.1. - Caractéristiques et structure de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo.....	11
I.2.1.2.2. - Manifestation clinique de CCHFV.....	12
I.3 - Les bactéries	12
I.3.1 – <i>Wolbachia</i>	12
I.3.2. - Classification taxonomique de <i>Wolbachia</i>	13
I.3.3. - Mode de transmission de <i>Wolbachia</i>	14
I.3.3.1. - Transmission verticale	14
I.3.3.2 - Transmission horizontale	14
CHAPITRE II. Matériel et méthodes	
II.1. - Choix des zones d'études.....	15
II.1.1 – Lieux de stage.....	15
II.2. - Méthodes d'échantillonnage des tiques.....	16
II.2.1. – Méthode de drap (Collecte des tiques sur la végétation)	16
II.2.2. - Méthode de capture directe (Collecte des tiques sur les animaux)	17

II.3. - Méthode d'identifications des tiques.....	18
II.4. - Extraction de l'acide ribonucléique (ARN) viral	18
II.4.1. - Prétraitement et préparation en conditions de sécurité biologique	18
II.4.2. - Broyage et préparation des échantillons.....	19
II.4.3. Lyse des échantillons	19
II.4.4. Purification sur colonne.....	20
II.4.5. Éluion de l'ARN purifié.....	20
II.4.6 - Identification par RT-PCR	21
II.4.6.1 - Principe de RT-PCR.....	21
II.4.6.2. - Préparation du mix réactionnel	22
II.4.6.2.1. - Mix qRT PCR du virus de la fièvre hémorragique du Crimée-Congo (CCHF)....	23
II.4.6.2.2. - Mix qRT PCR du virus de l'encéphalite à tique (TBE).....	23
II.4.6.2.3. - Mix Real time RT-PCR eGFP.....	24
II.4.7. - Profile thermique de RT-PCR.....	
II.5. - Réaction en chaine de polymérisation (PCR)	24
II.5.1. - Identification moléculaire des bactéries <i>Wolbachia</i> sp	25
II.5.2. - Profile thermique.....	25
II.5.3. - Electrophorèse sur gel d'agarose à 2%.....	26
II.5.3.1. - Préparation du gel d'agarose.....	26
II.6. – Séquençage	27
II.6.1. - Méthode de Sanger	27
II.6.2. - Préparation des échantillons pour séquençage.....	28
II.6.2.1. - Purification post-amplification	28
II.6.3. - Etape de la PCR-séquençage.....	29
II.6.3.1. - Profile thermique	29
II.6.3.2. - Deuxième purification post PCR-séquençage.....	30
II.6.4. - L'analyse des résultats de séquençage	30
II.7. - Construction d'arbre phylogénique	30
CHAPITRE III. Résultats	
III.1 – Résultats de l'inventaire des échantillons	31
III.2 -Résultats de la RT-PCR.....	33
III.2.1 -Résultats de la RT-PCR eGFP.....	34
III.2.2 -Résultat de détection de virus l'encéphalite à tique.....	35

III.2.3 - Résultat de détection de virus Crémé-Congo	37
III.2.4 - Résultats de détection de la bactérie endosymbiote <i>WOLBACHIA</i> dans les tiques	39

CHAPITRE IV. Discussion

IV. 1. – Discussion des résultats d’inventaire des tiques collectées	42
IV. 2. -Discussion des résultats de l’identification des espèces	42
IV.3. – Discussion des résultats de la RT-PCR	43
IV.4. – Discussion des résultats de TBEV	43
IV. 5. - Discussion des résultats de CCHFV.....	44
IV.6. - Discussion des résultats de <i>Wolbachia</i>	44

V. Conclusion.....	45
---------------------------	-----------

VI. Références

VII. Annexe

VIII. Résumé

Les tiques, arthropodes hématophages appartenant à la classe des arachnides, sont largement réparties à travers le monde et jouent un rôle majeur en tant que vecteurs de nombreux agents pathogènes responsables de maladies graves qui affectent l'homme ainsi que les animaux domestiques et sauvages (Sonenshine et Roe, 2014). Les tiques comptent parmi les ectoparasites les plus influents à l'échelle mondiale en raison de leurs effets directs et indirects sur l'élevage et la santé publique (Jongejan et Uilenberg, 2004). Leur activité hématophage provoque des pertes sanguines répétées, responsables d'anémies, de retards de croissance et d'un affaiblissement général des animaux (de la Fuente et al., 2008). Ces infestations entraînent une diminution notable de la production laitière, conséquence du stress physiologique et de la mobilisation énergétique accrue pour répondre à l'agression parasitaire (Jonsson, 2006 ; Jonsson et al., 2008). De plus, les lésions cutanées induites par les morsures compromettent la qualité des peaux, réduisant leur valeur dans l'industrie du cuir (Ghosh, Azhahianambi et de la Fuente, 2007), tandis que la viande est affectée par la baisse du gain pondéral et la dégradation de ses propriétés qualitatives (Lew-Tabor et Rodriguez Valle, 2016). Dans les cas d'infestations massives, ces effets peuvent aller jusqu'à la mortalité animale, aggravant les pertes pour les éleveurs (Jongejan et Uilenberg, 2004).

Par ailleurs, les coûts indirects sont également importants, englobant les dépenses liées à la lutte acaricide et la résistance, la diminution de la productivité et les restrictions commerciales entraînant des maladies transmises (Rajput et al., 2006). Selon la FAO (2020), les tiques et les maladies qu'elles véhiculent constituent la principale menace parasitaire pour la production bovine dans de nombreuses zones tropicales et subtropicales. Leur capacité à transmettre plus de 60 agents pathogènes vétérinaires et humains, dont *Babesia spp.*, *Theileria spp.* et *Anaplasma spp.*, renforcent encore davantage leur impact global (Sonenshine et Roe, 2014). L'ensemble de ces facteurs confère aux tiques une place prépondérante parmi les parasites responsables des pertes économiques les plus lourdes dans le secteur d'élevage et la santé publique à l'échelle mondiale. La recherche des arbovirus se concentre principalement sur la surveillance épidémiologique et la cartographie de leur distribution, afin de comprendre l'émergence et la réémergence de maladies comme la dengue, le Zika, le chikungunya (Leta et al., 2018). Certaines espèces sont reconnues pour transmettre des virus d'importance sanitaire majeure, notamment le virus de l'encéphalite à tiques (TBEV) et celui de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (CCHFV), agents d'arbovirus responsables de pathologies sévères avec une forte morbidité et mortalité (OMS, 2020 ; Flushin et al., 2010).

En Algérie, la recherche sur les arbovirus demeure très limitée, malgré des signaux récents d'encéphalites dans les établissements hospitaliers, en particulier dans la wilaya de Tizi-

Ouzou. Ces éléments justifient une enquête poussée pour déterminer si ces encéphalites pourraient être liées à une transmission par les tiques. Cette hypothèse est renforcée par la détection récente du virus CCHF chez des populations de tiques à Illizi (Temani et al., 2025). Par ailleurs, la découverte de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia* chez certaines espèces de tiques en Algérie suscite un espoir considérable, puisque ce microorganisme intracellulaire peut interférer avec la capacité vectorielle des tiques et constituer une piste innovante pour la lutte biologique (Werren et al., 2008 ; Lejal et al., 2012).

L'objectif central de cette étude est donc double : approfondir les connaissances sur l'identification morphologique, tout en évaluant la circulation virale au sein de ces populations, notamment par la détection des arbovirus grâce à des techniques moléculaires telles que la RT-PCR. En parallèle, l'étude vise à explorer le rôle potentiel de *Wolbachia* comme outil de lutte biologique contre ces vecteurs.

Ce mémoire est structuré en quatre chapitres suivant une progression méthodique : le premier chapitre présente une revue bibliographique détaillée sur les tiques en tant que parasites et vecteurs ainsi que sur les maladies qu'elles transmettent ; le deuxième décrit les zones d'étude sélectionnées et les méthodes utilisées sur le terrain et en laboratoire ; le troisième restitue les résultats obtenus avec une analyse rigoureuse des données recueillies ; enfin, le quatrième chapitre propose une discussion critique, confrontant ces résultats aux connaissances actuelles afin d'en tirer des conclusions éclairées. La conclusion générale synthétise les acquis majeurs de la recherche et ouvre des perspectives pour le développement de stratégies innovantes intégrant *Wolbachia* dans la lutte biologique contre les tiques et les arbovirus qu'elles véhiculent.

Ce chapitre bibliographique traite d'abord des tiques à travers leurs généralités, leur morphologie, leur cycle de vie et les agents pathogènes qu'elles transmettent. Il s'intéresse ensuite aux arbovirus, en particulier ceux responsables de l'encéphalite à tiques et de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo. Enfin, il explore le rôle potentiel de la bactérie *Wolbachia* dans la lutte contre certaines maladies vectorielles.

I.1. - Généralités sur les tiques

Les tiques sont des arthropodes hématophages (Sonenshine et Roe, 2014) ; elles existent depuis l'Antiquité, ayant été mentionnées par Aristote (Hoogstraal, 1985). Au 19e siècle, Koch (1844) a commencé à les étudier attentivement. Par la suite, en 1893, Smith et Kilbourne ont découvert que certaines tiques pouvaient transmettre des maladies aux animaux en piquant, ce qui était une grande découverte (Gray et Kahl, 2022).

Les tiques sont divisées en trois groupes: Ixodidae (tiques dures), Argasidae (tiques molles), et les Nuttalliellidae qui sont rarement connues et représentées par une seule espèce (Guglielmono et al., 2010).

Les tiques existent partout dans le monde et sont particulièrement abondantes dans les endroits tempérés et tropicaux où les conditions climatiques sont favorables pour leur développement (Jongejan et Ulienberg, 2004).

Aujourd'hui, les tiques sont considérées comme des vecteurs majeurs des agents pathogènes comme les bactéries, les virus et les protozoaires responsables de nombreuses zoonoses (Gray et Kahl, 2022).

I.1.1. - Systématique des tiques

Selon Camicas et al., (1998), les tiques présentent une grande diversité taxonomique et sont classées comme suit :

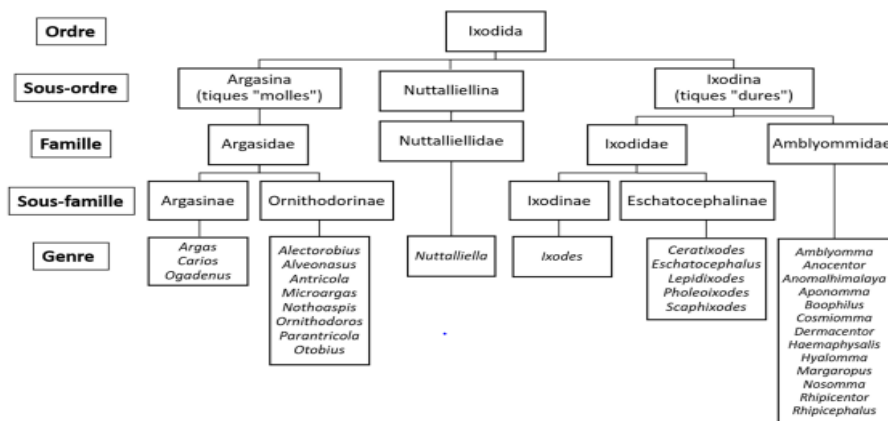


Figure 1 - La systématique des tiques (Pérez-Eid, 2007).

I.1.2. - Morphologie générale des tiques dures

Les tiques ont un corps aplati dorso-ventralement, dépourvu de segmentation. Il est divisé en deux parties principales : le capitulum (ou gnathosoma) et l'idiosoma (Hoogstraal, 1985).

Le capitulum contient des chélicères, qui coupent les tissus, l'hypostome, avec des dents pour s'accrocher à la peau, et les pédipalpes, qui permettent de trouver et de s'attacher à l'hôte (Sonenshine et Roe, 2014). Cet appareil buccal donne aux tiques la capacité à s'accrocher solidement dans la peau et à se nourrir de sang (Estrada-Peña et de la Fuente, 2014) (Figure 2).

L'idiosoma, la plus grande partie du corps, renferme les organes internes, notamment les glandes salivaires qui facilitent l'alimentation en empêchant la coagulation du sang, assurent la fixation à l'hôte, modulent ses défenses immunitaires et en assurant la transmission d'agents pathogènes; il porte également les appendices locomoteurs (Jongejan et Uilenberg, 2004, Bowman et Sauer, 2004).

Les tiques ont trois paires de pattes quand elles sont au stade larvaire, puis quatre paires de pattes quand elles deviennent nymphes ou adultes. Elle possède aussi un organe sensoriel particulier appelé organe de Haller situé sur la première patte qui sert à sentir la chaleur, les odeurs et les vibrations pour trouver leurs hôtes (Balashov, 1972).

Les tiques dures (Ixodidae) possèdent un scutum, une plaque chitineuse rigide couvrant partiellement leur dos, contrairement aux tiques molles qui en sont dépourvues (Gray et Kahl, 2022).

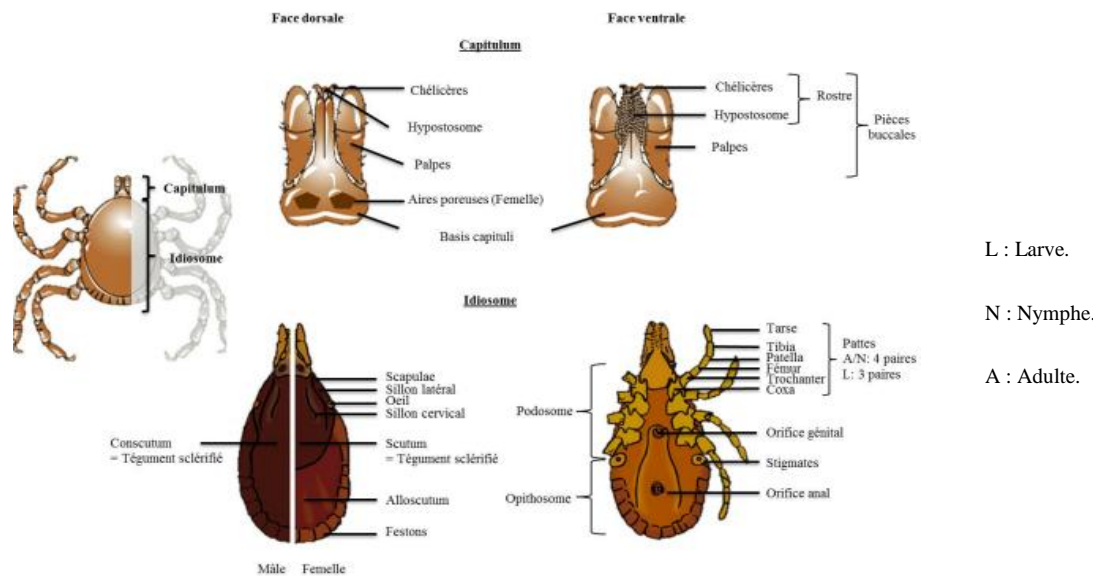


Figure 2 - La morphologie générale des tiques dures (Pérez-Eid, (2007), Sonenshine et Roe, (2014), McCoy et Boulanger, (2015))

I.1.3. - Cycle de vie des tiques dures

Le cycle de développement des tiques passe par quatre étapes importantes : œuf, larve, nymphe et adulte (Sonenshine et Roe, 2014) (Figure 3). Chaque étape est nécessaire pour sa survie et sa reproduction (Randolph, 2004). La femelle pond ses œufs au sol dans des endroits humides, ce stade peut durer de quelques jours à plusieurs mois selon les conditions environnementales comme la température et l'humidité (Gray, 1991). Après l'incubation, ces œufs éclosent et donnent naissance à des petites larves qui se nourrissent du sang d'un hôte animal (Sonenshine, 1991). Après avoir mangé, les larves se transforment en nymphes, un peu plus grandes, et cherchent un autre hôte pour se nourrir (Estrada-Peña et de la Fuente, 2014). Les larves et nymphes peuvent vivre plusieurs semaines ou mois selon la disponibilité des hôtes (Sonenshine et Roe, 2014). Les nymphes muent une dernière fois pour devenir adultes. Les tiques adultes mâles et femelles se nourrissent de sang et s'accouplent (Gray, 1998) ; la femelle pond ensuite des milliers d'œufs pour recommencer le cycle (Randolph, 2004). Les tiques mâles peuvent vivre quelques semaines à quelques mois, tandis que les femelles vivent plusieurs mois à plusieurs années. Leur durée de vie évolue en fonction des conditions environnementales et la disponibilité des hôtes (Sonenshine, 1991 ; Estrada-Peña et de la Fuente, 2014).

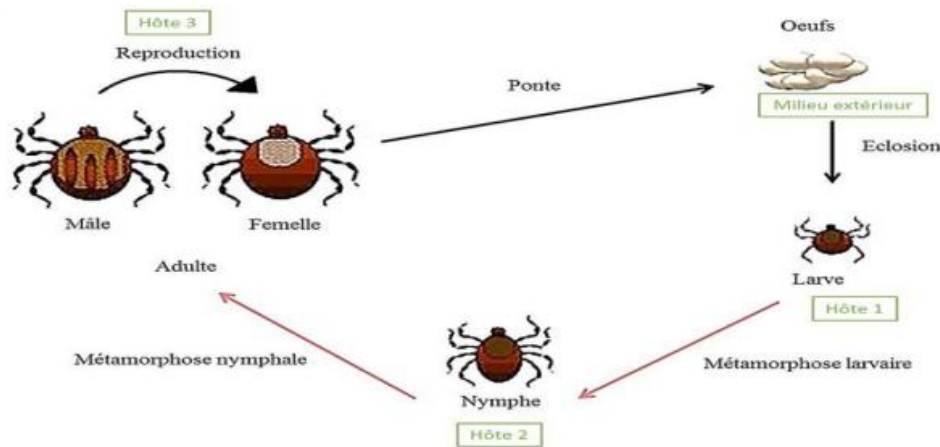


Figure 3 - Le cycle de vie des tiques (Florence, 2015).

I.1.4. - Importance médicale et vétérinaire

Les tiques sont reconnues comme les deuxièmes vecteurs de maladies infectieuses touchant l'homme, les animaux domestiques et sauvages, et les premiers en Europe (Roehring, 2013). Elles ont un rôle crucial dans la propagation des maladies bactérienne, virale et parasitaires telle que la borréliose de Lyme, la fièvre hémorragique de Crimée Congo et

l'encéphalite à tiques (Jongejan et Ulienberg, 2004). Ces maladies représentent une menace importante pour la santé publique et la production animale.

La capacité des tiques à transmettre ces agents pathogènes repose principalement sur leur acquisition lors des repas sanguins auprès d'hôtes réservoir comme les rongeurs et les oiseaux (Parola et Raoult, 2001). Ces microorganismes sont ensuite conservés au fil des différents stades de développement de la tique grâce à une transmission trans-stadiale, permettant aux larves et aux nymphes d'assurer la persistance et la transmission des infections à leur stade suivant (Swanson et al., 2006).

Néanmoins, la piqûre de tique n'est pas la seule voie de transmission ; certains agents infectieux, comme *Coxiella burnetii* (à l'origine de la fièvre Q) ou le virus de la peste porcine africaine, peuvent aussi se propager par d'autres moyens, tels que la consommation de lait cru contaminé ou le contact avec des carcasses infectées. Ces exemples montrent que, bien que les tiques soient des vecteurs clés, certains pathogènes disposant de modes de transmission complémentaires, ce qui élargit leur impact épidémiologique (McCoy et Boulanger, 2015).

I.1.4.1. - Principaux pathogènes transmis par les tiques dures

L'attention de la transmission des agents pathogènes a beaucoup augmenté ces dernières années (Tableau 1) (Estrada-Pena 2015).

Tableau 1 - Les Principaux pathogènes transmis par les tiques dans le monde selon McCoy et Boulanger, (2015).

Pathogène	Type d'organisme	Hôte réservoir	Tique vectrice	Maladie	Répartition géographique
<i>Borrelia burgdorferi</i> (complexe)	Bactérie (Spirochète)	Rongeurs, oiseaux	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Ixodes scapularis</i>	Maladie de Lyme	Amérique du Nord, Europe, Asie
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Bactérie (Rickettsiale)	Rongeurs, cervidés	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Ixodes scapularis</i>	Anaplasmose granulocytaire humaine	Amérique du Nord, Europe, Asie
<i>Babesia</i> spp.	Parasite (Protozoaire)	Rongeurs, cervidés	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Ixodes scapularis</i>	Babésiose humaine	Amérique du Nord, Europe
<i>Rickettsia</i> spp. (groupe boutonneux)	Bactérie (Rickettsiale)	Rongeurs, chiens, bovins	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> , <i>Dermacentor</i> spp.	Fièvre boutonneuse, rickettsioses	Monde entier
<i>Coxiella burnetii</i>	Bactérie (Gamma-protéobactérie)	Bovins, ovins, caprins	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Dermacentor marginatus</i>	Fièvre Q	Monde entier

Virus de l'encéphalite à tiques (TBEV)	Virus (Flavivirus)	Rongeurs, oiseaux, cervidés	<i>Ixodes ricinus</i> , <i>Ixodes persulcatus</i>	Encéphalite à tiques	Europe, Asie
Virus de la fièvre hémorragique Crimée-Congo (CCHFV)	Virus (Nairovirus)	Bovins, ovins, caprins	<i>Hyalomma marginatum</i>	Fièvre hémorragique de Crimée-Congo	Afrique, Asie, Europe de l'Est
<i>Francisella tularensis</i>	Bactérie (Gamma-protéobactérie)	Lapins, rongeurs	<i>Dermacentor reticulatus</i> , <i>Amblyomma americanum</i>	Tularémie	Amérique du Nord, Europe, Asie
<i>Bartonella</i> spp.	Bactérie (Alpha-protéobactérie)	Rongeurs, carnivores	<i>Ixodes ricinus</i>	Bartonellose humaine	Monde entier

I.1.4.2. - Impact sanitaire direct et indirect des tiques dures

Les tiques possèdent leurs hôtes de deux façons principales. Directement, leurs piqûres provoquent des lésions cutanées, des réactions allergiques, des pertes de sang pouvant conduire à l'anémie, ainsi que des complications plus sévères comme la paralysie à tiques (Jongejan et Uilenberg, 2004). Chez les animaux d'élevage, ces infestations engendrent du stress, un ralentissement de la croissance et une diminution de la production (Gray et al., 2013). Indirectement, les tiques sont des vecteurs essentiels d'agents pathogènes bactéries, virus et protozoaires responsables de nombreuses maladies zoonotiques, telles que la borréliose de Lyme, la babésiose ou encore la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (Parola et Raoult, 2001 ; McCoy et Boulanger, 2015). Cette double action fait des tiques des parasites majeurs, avec des conséquences importantes sur les plans médicaux, vétérinaires et économiques à l'échelle mondiale.

I.2. - Virus

Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires composés d'un génome d'ADN ou d'ARN entouré d'une capsid, responsables de nombreuses infections chez l'homme, l'animal et les plantes (Flint et al., 2015 ; Peter et al., 2021).

I.2.1. - Arbovirus

Les arbovirus sont un groupe de virus qui contiennent de l'ARN et qui sont transmis par des insectes ou arthropodes qui se nourrissent de sang, comme les moustiques, les tiques et les phlébotomes (Weaver et Reisen, 2010). Ils appartiennent principalement à plusieurs grandes familles de virus, comme les Flaviviridae, Togaviridae, Bunyaviridae et Reoviridae (Kuno et Chang, 2005). Ces virus peuvent provoquer des maladies chez les humains ainsi que

chez les animaux domestiques et sauvages (Gould et Higgs, 2009). Leur cycle de vie implique un vecteur arthropode et un hôte vertébré souvent des oiseaux, des rongeurs ou des primates, qui agissent comme réservoirs en hébergeant ces agents (Weaver et Barrett, 2004). Ces virus peuvent causer des maladies, allant de la fièvre bénigne à des infections graves du système nerveux, comme l'encéphalite, ou encore des fièvres hémorragiques de Crimée-Congo (Monath et Vasconcelos, 2015). Leur apparition ou réapparition est liée à plusieurs facteurs liés à l'environnement, comme la présence des insectes vecteurs, les changements climatiques, l'urbanisation et les déplacements humains (Messina et al., 2019).

I.2.1.1. - La maladie de l'encéphalite à tiques (TBE)

La maladie de l'encéphalite à tiques (TBE) est une infection virale causée par le virus de l'encéphalite à tiques (TBEV), appartenant à la famille Flaviviridae (Süss, 2011). Elle est transmise principalement par la piqûre de tiques du genre *Ixodes* (Labuda et Randolph, 1999). La maladie est endémique dans plusieurs régions d'Europe centrale et orientale, ainsi qu'en Russie et en Asie (Süss, 2011).

I.2.1.1.1. - Caractéristique et structure de TBE

Le virus de l'encéphalite à tiques (TBEV) est un virus enveloppé qui possède un ARN simple brin de polarité positive. Il appartient à la famille des Flaviviridae et au genre *Flavivirus* (Mandl, 2005). Son génome mesure environ 11000 bases et produit une seule grande protéine (polyprotéine) qui est ensuite divisée en plusieurs protéines (Figure 4). Il y a trois protéines structurales : la protéine C (capside) qui enveloppe l'ARN viral, la protéine prM/M qui aide à assembler et faire mûrir le virus, et la protéine E qui permet au virus de se fixer aux cellules hôtes et joue un rôle dans la réponse immunitaire (Kuno et Chang, 2005 ; Mandl, 2005 ; Mukhopadhyay et al., 2005 ; Rey et al., 1995). Le virus produit également sept protéines non structurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B et NS5) ont un rôle clé dans la réplication virale, le traitement des protéines structurales et la modulation des fonctions cellulaires hôtes. Par exemple, la protéine NS1 est immunogène et considéré comme un antigène soluble a un rôle dans la réplication virale et à éviter la réponse immunitaire, NS2A et NS2B participent à la formation complexe protéase, NS3 est multifonctionnelle avec des activités protéase, hélicase et NATPase, tandis que la protéine NS4A, NS4B et NS5 agit comme une enzyme essentielle pour copier l'ARN viral (Lindenbach et Rice, 2003 ; Kuno et Chang, 2005).

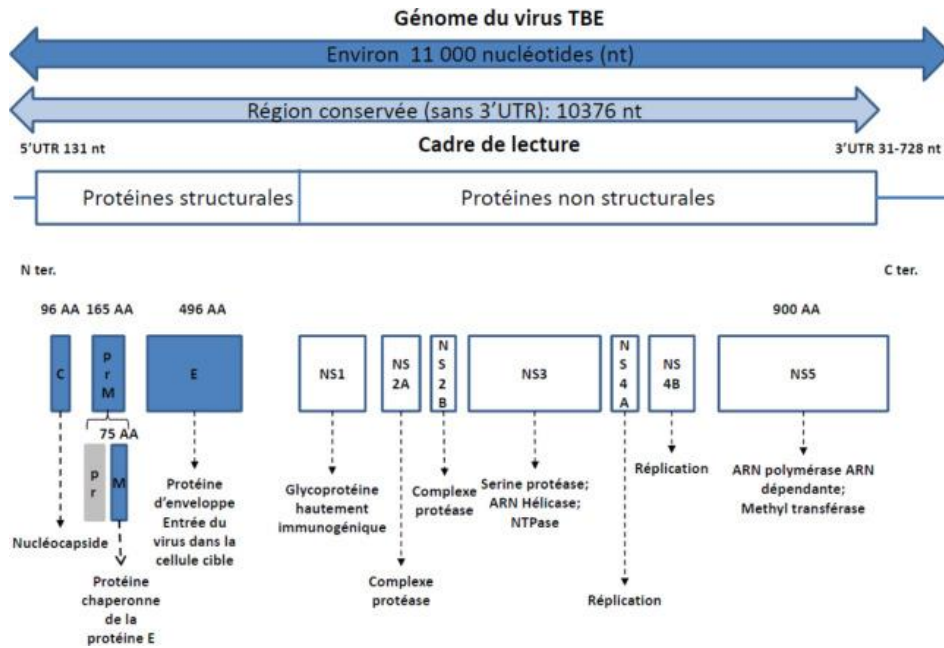


Figure 4 - Organisation génomique du virus TBE (Velay et al., 2019).

I.2.1.1.2. - Manifestation Clinique TBE

La gravité et la forme clinique de l'infection dépendent en partie du sous-type viral. Chez la majorité des patients infectés par le sous-type européen, la maladie suit une évolution biphasique. Elle débute par une phase fébrile avec fièvre, fatigue, maux de tête et douleurs musculaires, sans atteinte du système nerveux central. Cette phase, correspondant à la virémie, dure généralement moins d'une semaine, suivie d'une période asymptomatique.

La seconde phase traduit l'inflammation du système nerveux central. Chez les enfants, la méningite est la forme la plus fréquente (70% des cas), tandis que chez l'adulte, environ 50% développent une méningite, 40% une méningo-encéphalite, et 5 à 10% une méningo-encéphalomyélite. La maladie tend à être plus bénigne chez les enfants, mais les personnes âgées présentent généralement des formes plus sévères. Le taux de mortalité associé au sous-type européen est d'environ 1%. Environ 5% des patients gardent une paralysie permanente, tandis que plus de 30% souffrent d'un syndrome post-encéphalitique.

Le sous-type sibérien provoque une maladie similaire, avec toutefois un risque d'infection virale chronique. Le sous-type extrême-oriental se distingue par une forme habituellement plus sévère, à évolution monophasique, avec un taux de mortalité et de séquelles neurologiques plus élevé (Deubel et Georges-Courbot, 2002).

I.2.1.2. - La maladie de fièvre hémorragique de Crimée-Congo

La fièvre hémorragique de Crimée-Congo (FHCC) est une maladie vectorielle transmise par les tiques et recensée dans plus de 30 pays d'Europe, d'Asie et d'Afrique, appartient au genre *Orthonairovirus* dans la famille des *Nairoviridae* (Bente et al., 2013). Ce virus, connu pour sa grande diversité génétique, se transmet à l'homme soit par la piqûre de tiques, soit par contact direct avec des fluides corporels d'individus ou d'animaux infectés (Spengler et al., 2016). Les premiers symptômes de la FHCC sont souvent peu spécifiques, mais la maladie peut évoluer vers une phase hémorragique grave, potentiellement fatale, avec un taux de mortalité variant entre 10 et 50% (WHO 2020). Sur le plan biologique, la FHCC se caractérise notamment par une thrombopénie (diminution du nombre de plaquettes), une élévation des enzymes hépatiques et musculaires, ainsi que des troubles de la coagulation (Ergönül, 2006).

I.2.1.2.1. - Caractéristiques et structure de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo

Le virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (CCHFV) est un virus enveloppé dont le génome est un ARN simple brin de polarité négative, divisé en trois segments distincts : le segment S (Small), le segment M (Medium) et le segment L (Large) (Spengler et al., 2016) (Figure 5). Le segment S code la nucléoprotéine (NP), qui est cruciale pour l'encapsulation de l'ARN viral et protège le génome du virus (Bente et al., 2013). Le segment M code pour une polyprotéine qui est clivée pour anciennement les glycoprotéines d'enveloppe Gn et Gc, nécessaires à l'attachement du virus et à son entrée dans la cellule hôte (Whitehouse, 2004). Le segment L code pour la polymérase virale dépendante de l'ARN (RdRp), enzyme responsable de la réplication et de la transcription du génome viral (Ergönül, 2006). Le virus possède une enveloppe virale sur laquelle se trouvent des glycoprotéines formant des spicules, leur donnant une structure facilitant l'interaction avec les récepteurs des cellules cibles (Mizutani et al., 2020). Sa capsid a une forme hélicoïdale, caractéristique de sa structure. D'un point de vue biologique, le CCHFV montre une grande diversité génétique. Cette variabilité, due notamment à la recombinaison et au réassortiment des segments de son génome, complique la mise au point de vaccins universels et permet au virus de s'adapter à différents hôtes et vecteurs (Spengler et al., 2016 ; Muzammil et al., 2024).

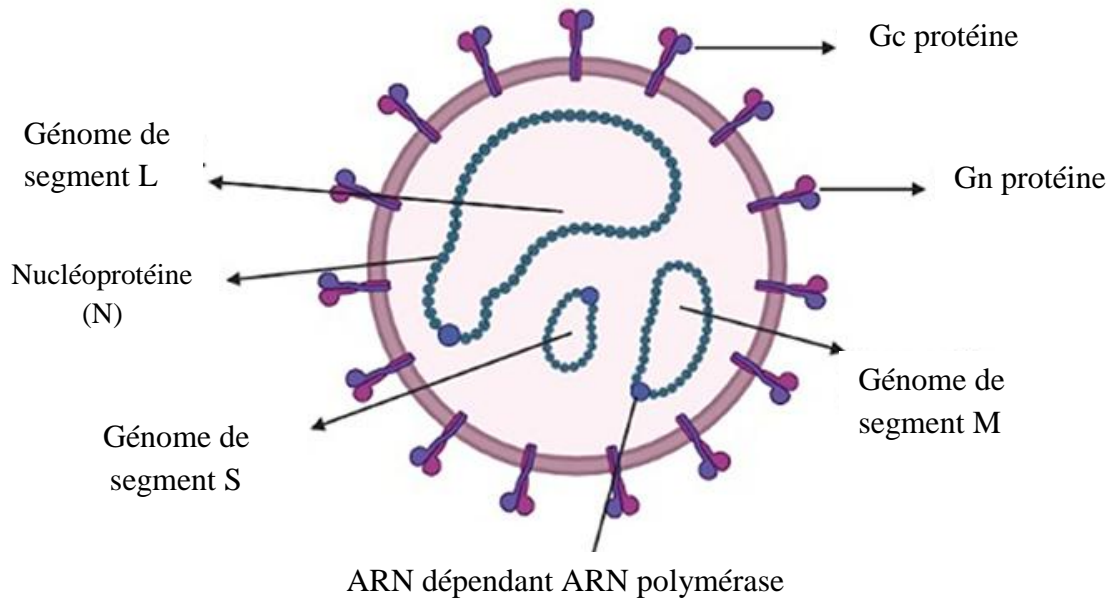


Figure 5 : Présentation schématique de virus de Crimée-Congo (Munazza Aslam, Rao Zahid Abbas et al. 2023).

I.2.1.2.2. - Manifestation clinique de CCHFV

L'évolution clinique de la FHCC se caractérise par quatre phases distinctes : incubation, phase pré-hémorragique, phase hémorragique et la phase de convalescence (Ergönül, 2006). La phase d'incubation peut durer quelques jours après une piqûre de tique, (Whitehouse, 2004). La phase pré-hémorragique, débute temporairement avec des symptômes non spécifiques tels que fièvre, céphalées, douleurs musculaires, nausées et vomissements ; dans certains cas graves, des troubles neurologiques et une jaunisse peuvent survenir (Bente et al., 2013). La phase hémorragique se manifeste par des troubles importants, notamment des pétéchies, ecchymoses, hémorragies gastro-intestinales et épistaxis, accompagnées d'anomalies de la coagulation, thrombocytopenie, leucopénie et élévation des enzymes hépatiques (Spengler et al., 2016). Cette phase peut entraîner des complications sévères telles qu'une insuffisance multiorganique, avec un taux de mortalité variant de 30 à 40% au cours de la deuxième semaine (Muzammil et al., 2024). La phase de convalescence, l'apparition des symptômes et peut durer longtemps, marquée par une hypotension, des troubles neurologiques, une perte de mémoire et une faiblesse générale (Ergönül, 2006). Chez de nombreux animaux, l'infection reste sans symptôme, mais les oiseaux migrateurs peuvent contribuer significativement à la diffusion géographique du virus via les tiques (Spengler et al., 2016).

I.3 - Les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes, dépourvus de noyau, et font partie du domaine des Bacteria (Madigan et al., 2019). Elles montrent une grande variété de formes et de fonctions, ce qui leur permet de coloniser presque tous les milieux de la biosphère (Tortora et al., 2020). Certaines bactéries sont bénéfiques, jouant un rôle important dans les cycles naturels et l'industrie, tandis que d'autres peuvent causer des maladies (Prescott et al., 2017).

I.3.1 - *Wolbachia*

Wolbachia est une bactérie intracellulaire à Gram négatif appartenant à l'ordre des Rickettsiales. Découverte pour la première fois dans les gonades du moustique *Culex pipiens* (Hertig et Wolbach, (1924) ; Werren et al., (2008) ; Manoj et al., (2021)), elle est aujourd'hui reconnue comme l'un des symbiotes les plus répandus, infectant environ 60 % des espèces d'insectes étudiées ainsi que divers nématodes filaires (Zug et Hammerstein, 2012). Transmise principalement par voie maternelle, *Wolbachia pipientis* vit de manière obligatoire à l'intérieur des cellules de ses hôtes (Figure 6) et peut établir des relations allant du parasitisme au mutualisme. Sa particularité réside dans sa capacité à manipuler la reproduction de ses hôtes arthropodes par différents mécanismes, tels que l'incompatibilité cytoplasmique, la parthénogenèse induite, la féminisation des mâles ou encore la mortalité sélective des embryons mâles (Werren et al., 2008). Chez les tiques, la présence de *Wolbachia* a été rapportée notamment chez *Ixodes ricinus* et d'autres ixodidés (Lejal et al., 2012). Toutefois, son rôle exact dans leur physiologie et leur compétence vectorielle demeure incertain, car la détection de cette bactérie est souvent associée à la présence du parasitoïde *Ixodiphagus hookeri*, lui-même porteur de *Wolbachia*. Ce phénomène suggère que la symbiose pourrait être indirecte et impliquer des interactions complexes entre tiques, et microbiote (Zug et Hammerstein, 2012). Au-delà de cet aspect, *Wolbachia* suscite un intérêt croissant en raison de son potentiel en lutte biologique contre les maladies vectorielles. Chez les moustiques, elle a montré sa capacité à réduire la transmission de virus pathogènes tels que ceux de la dengue ou du chikungunya, par des mécanismes d'interférence microbienne (Moreira et al., 2009). En somme, même si la relation exacte entre *Wolbachia* et les tiques reste à approfondir, cette bactérie constitue un levier fascinant pour la recherche fondamentale et appliquée. Comprendre ses interactions avec le microbiote des tiques et son impact sur la transmission des pathogènes pourrait révolutionner les approches de lutte contre les maladies transmises par ces arthropodes.

I.3.2. - Classification taxonomique de *Wolbachia*

Cette bactérie intracellulaire est un endosymbiote largement répandu chez de nombreux arthropodes (Kaur et al., 2021).

Ci-dessous la taxonomie de la bactérie *Wolbachia* selon Hertig (1936).

Domaine	Bacteria
Phylum	Pseudomonadota
Classe	Alphaproteobacteria
Ordre	Rickettsiales
Famille	Ehrlichieae
Genre	<i>Wolbachia</i>
Espèce	<i>Wolbachia pipientis</i>

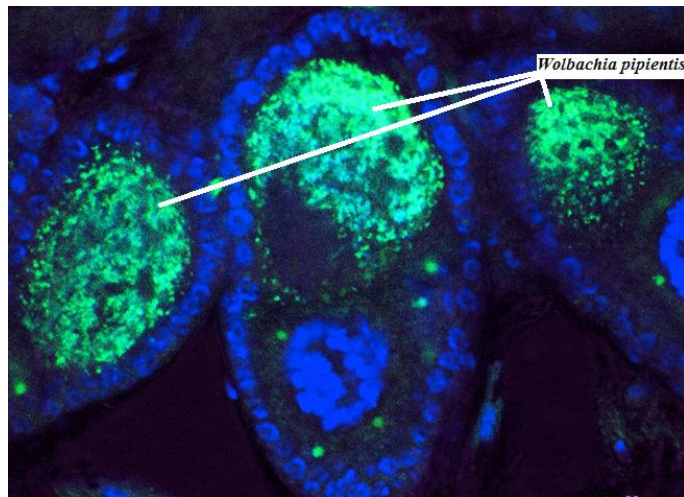


Figure 6 - Illustration de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia* dans les cellules d'un insecte hôte (Fortier, 2020).

I.3.3. - Mode de transmission de *Wolbachia*

Wolbachia est une bactérie intracellulaire principalement transmise de façon verticale, bien que d'autres modes de transmission aient également été observés (White, 2017).

I.3.3.1. - Transmission verticale

Wolbachia se transmet principalement de la mère à ses descendants via les ovocytes, en passant par le cytoplasme des cellules germinales féminines (Hosokawa et al., 2018). Ce mode de transmission assure que presque toutes les femelles héritent de *Wolbachia* (Duron et

al., 2018). Pour optimiser cette transmission, *Wolbachia* manipule la reproduction par incompatibilité cytoplasmique (IC), un mécanisme provoquant la stérilité embryonnaire quand des mâles infectés fécondent des femelles non infectées (Adams et al., 2021). Ce processus réduit la descendance non porteuse et aide *Wolbachia* à se propager dans la population (Hancock et al., 2011).

I.3.3.2 - Transmission horizontale

Wolbachia peut aussi se transmettre horizontalement, par échanges entre individus ou espèces sans lien de parenté direct (Shoemaker et al., 2002). Ce mode utilise plusieurs mécanismes moléculaires (Figure 7) : transformation (intégration d'ADN libre), conjugaison (transfert direct via contact cellulaire) et transduction (transfert par bactériophages) (Thomas, et Nielsen 2005). Chez certains isopodes terrestres, la transmission horizontale peut se faire par contact infectieux ou par prédation, facilitant le transfert interspécifique (Poinsot, 2012). Cette transmission horizontale participe à l'adaptation et à la diversification évolutive de *Wolbachia* (Ahmed et al., 2021).

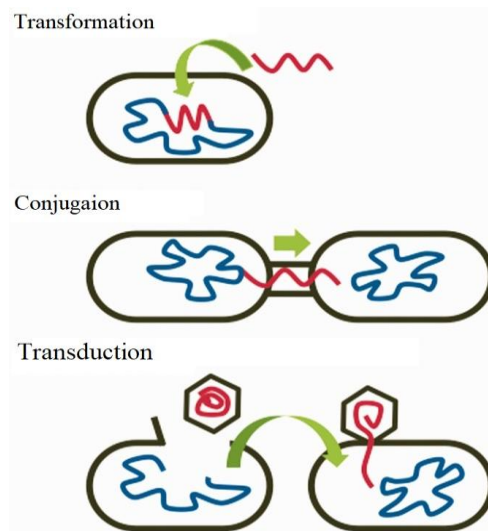


Figure 7 - Schéma des principaux mécanismes de transfert horizontal de gènes chez les bactéries (Thomas, et Nielsen 2005).

Dans ce chapitre, nous aborderons le choix des zones d'étude et le travail réalisé sur le terrain et les différentes manipulations effectuées au laboratoire.

II.1. - Choix des zones d'études

Les zones d'étude ont été sélectionnées en tenant compte de leur accessibilité ainsi que de la présence d'animaux domestiques, condition nécessaire pour le prélèvement de tiques. De plus, la région de Bouzeguène, connue pour sa riche avifaune migratrice, potentiellement réservoir viral, a été particulièrement favorisée (Wilhelmsson, et al., 2020).

Notre étude s'est déroulée durant la saison hiverno-printanier allant du mois de février jusqu'au mois de juin 2025, dans les régions d'Azazga et de Bouzeguène, toutes deux situées dans la wilaya de Tizi-Ouzou (Figure 8).

La région de Bouzeguène (Iguerssafene) elle est d'altitude de 833 m, elle est entourée de la forêt massif de l'Akfadou d'altitude de 1300 mètres (Topographic maps).

La région d'Azazga est d'altitude de 550 m (Topographic maps).

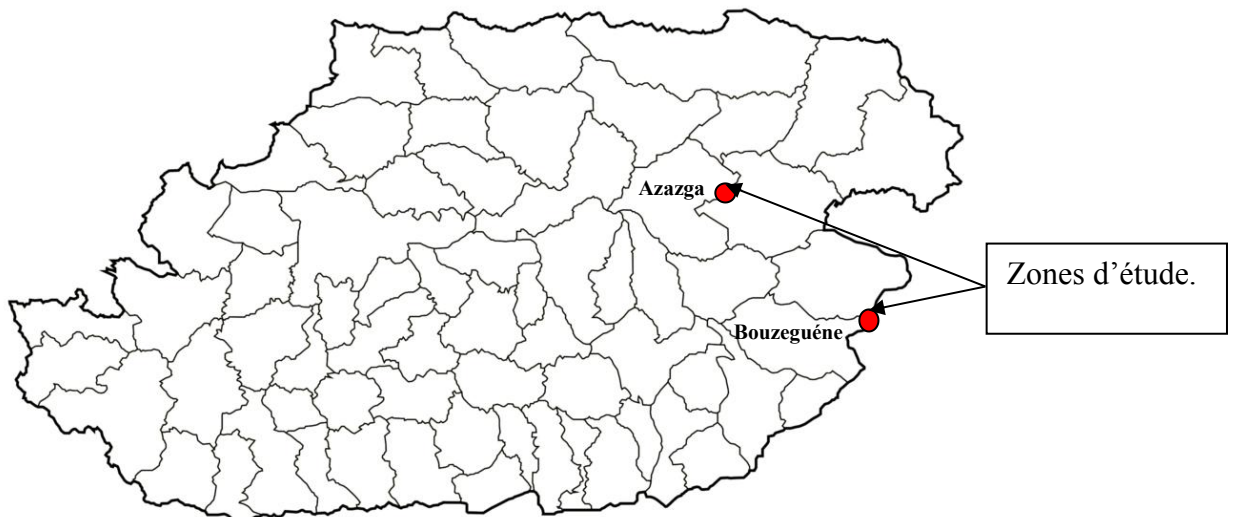


Figure 8 - Carte géographique des sites de collecte des tiques dans la wilaya de Tizi-Ouzou (Gifex, 2025).

II.1.1. - Lieux de stage

Ce travail a été mené au sein du laboratoire des arbovirus et des virus émergents de l'Institut Pasteur d'Algérie, annexe de Sidi-Fredj, lequel dispose d'installations de confinement

répondant aux normes de sécurité biologique de niveau 2 (BSL-2) et de niveau 3 (BSL-3) (Figure 9).



Figure 9 - Laboratoire des arbovirus et des virus émergents, l’Institut Pasteur d’Algérie, Annexe Sidi-Fredj (Original, 2025).

II.2. - Méthodes d’échantillonnage des tiques

II.2.1. - Méthode de drap (Collecte des tiques sur la végétation)

La collecte a été réalisée à l’aide de la technique du drap blanc (Figure 10), qui consiste à faire glisser un tissu blanc d’environ 1 m² sur la végétation (herbe, mousses, plantes basses, feuilles mortes...), principalement dans des zones ombragées et humides. Cette méthode permet de capturer les tiques au stade libre (Vassallo et al., 2002) et parmi les avantages de cette technique est la facilité de l’utilisation dans les différents types de végétation, sur des longues distances. Le drap est efficace pour la détection de différents stades évolutifs (Dantes-Torres et al., 2013) ; mais aussi l’efficacité de drap dépend fortement de la hauteur de la végétation, de l’humidité, c’est-à-dire le drap est moins efficace si la végétation est très dense ou mouillée (Clow et al., 2013).



Figure 10 – A- Méthode de drap ; B- Tique sur le drap (Original, 2025).

II.2.2. - Méthode de capture directe (Collecte des tiques sur les animaux)

La collecte des tiques a été effectuée manuellement à l'aide de pinces courbé en portant des gants de protection (Figure 11). Les tiques ont été principalement prélevées au niveau des zones sensibles des bovins, telles que les oreilles et les mamelles. Cette méthode permet de récupérer des tiques au cours de leur phase parasitaire active, y compris celles déjà fixées ou gorgées (Estrada-Peña et al., 2013) ; mais dans notre étude cette technique de capture de tique gorgées augmente le risque d'endommager les spécimens lors du retrait (Walker et al., 2014).

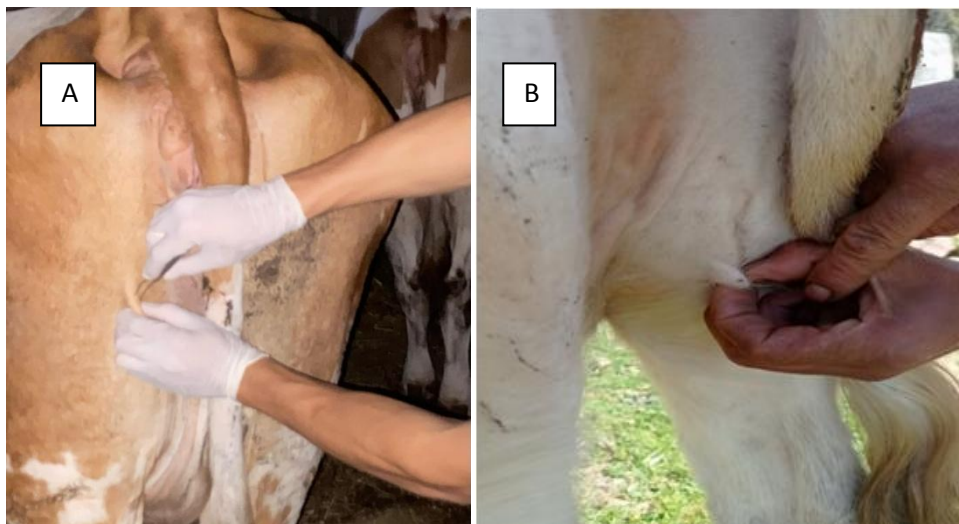


Figure 11- A- La technique de capture directe; B- Une tique fixée sur une mamelle d'une vache (Original, 2025).

II.3. - Méthode d'identifications des tiques

Une première identification morphologique des tiques a été réalisée par Dr Benallal K chargé de recherche à l'Institut Pasteur, annexe de Sidi-Fredj, à l'aide d'une loupe binoculaire, en s'appuyant sur les clés dichotomiques proposées par Bouattour (2002). Cette approche repose sur l'observation de critères morphologiques externes, tels que la forme et l'ornementation du scutum, la structure du capitulum, la disposition des festons ou encore la morphologie des pattes, permettant de distinguer les différentes espèces et stades de développement. L'utilisation de la loupe binoculaire a en outre facilité la séparation des spécimens selon leurs espèces et leurs sexes et leurs régions, afin de préparer les étapes ultérieures d'analyses moléculaires.

II.4. - Extraction de l'acide ribonucléique (ARN) viral

L'extraction des ARN est réalisée dans deux laboratoires de niveaux de sécurité biologique distincts : les étapes de broyage et de neutralisation des virus sont réalisés dans un laboratoire de niveau de sécurité biologique niveau 3 (P3 ou BSL-3), tandis que les étapes restantes de l'extraction sont conduites dans un laboratoire de niveau 2 (P2 ou BSL-2) en utilisant deux kits différents le premier permis l'extraction de l'ADN et ARN (Marchey Nagel, 2021) et le deuxième que l'ARN (QiaGen, 2020).

L'extraction de l'ARN viral à partir de tiques suit différentes étapes selon un Protocole établi par l'Institut Pasteur d'Alger.

II.4.1. - Prétraitement et préparation en conditions de sécurité biologique

Cette étape est réalisée dans un laboratoire de niveau de sécurité biologique 3 (BSL-3), sous une hotte à flux laminaire (PSM), en utilisant des poches de glace afin de préserver l'intégrité des virus.

- Les tiques sont immergées dans une boîte de pétri contenant 2 ml d'éthanol à 70 % pendant 10 minutes, puis l'éthanol est retiré à l'aide d'une pipette.
- Deux lavages successifs sont effectués avec H₂O free-RNA, chacun dure 10 minutes, pour éliminer les résidus d'éthanol.

II.4.2. - Broyage et préparation des échantillons

Après la première étape, les tiques sont ensuite transférées individuellement ou en pools dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml, contenant 700 µl de milieu L-15 complété par 10 % de sérum de veau fœtal (SVF) et deux billes métalliques, à l'aide de pincettes stériles.

- Les tubes sont placés dans un broyeur, avec une vitesse d'oscillation de 30 Hz pendant 5 minutes. Les échantillons sont ensuite centrifugés pendant 10 minutes à $16000 \times g$, à une température de 8 °C.

- Les 700 µl de surnageant obtenus sont répartis dans trois tubes Eppendorf :

Tube 1 : 150 µl destinés à l'extraction de l'ARN/ADN.

Tube 2 : 275 µl conservés à -80 °C pour un éventuel isolement viral.

Tube 3 : 275 µl conservés à -80 °C comme réserve.

- Le culot qui reste est également conservé à -80 °C.

II.4.3. Lyse des échantillons

Afin d'extraire le culot obtenu dans la deuxième étape, 150 µl d'échantillon d'ARN sont ajoutés à :

- 600 µl de tampon de lyse RAV1 contenant de l'ARN porteur.

- 20 µl de solution de protéinase K.

- 5 µl du contrôle interne eGFP (contrôle interne de l'extraction).

- Le mélange est incubé pendant 5 minutes à 70 °C.

Enfin, une brève centrifugation (~ 1 seconde à $2000 \times g$) est réalisée pour ramener les gouttelettes du couvercle au fond du tube ; 600 µL d'éthanol (96–100 %) sont ajoutés au lysat, puis agités pendant 10 à 15 secondes.

II.4.4. Purification sur colonne

Le lysat obtenu précédemment est transféré par fractions de 700 µl sur une colonne NucleoSpin® Dx Virus, puis centrifugé pendant 1 minute à $8000 \times g$.

- La colonne est placée dans un nouveau tube collecteur propre, tandis que l'ancien est éliminé. Cette étape est répétée avec le reste du lysat, jusqu'à son épuisement complet.

- 500 µL de tampon de lavage RAW sont ajoutés à la colonne, suivis d'une centrifugation de 1 minute à $8000 \times g$. La colonne est ensuite transférée dans un nouveau tube.

- Deux lavages successifs sont réalisés avec le tampon de lavage RAW3 :

600 µl puis 200 µl, chacun suivi d'une centrifugation d'une minute à $8\ 000 \times g$, puis 3 minutes à $11\ 000 \times g$ pour le séchage complet de la colonne et éliminer les traces d'éthanol.

II.4.5. Éluion de l'ARN purifié

50 µl d'eau RNase-free préchauffée à 70 °C sont ajoutés à la colonne, préalablement placée dans un tube Eppendorf stérile.

Après une incubation de 1 à 2 minutes, une dernière centrifugation de 1 minute à $11\ 000 \times g$ est effectuée pour récupérer l'ARN purifié.

La figure ci-dessous représente un schéma qui résume toutes les étapes de l'extraction de l'ARN.

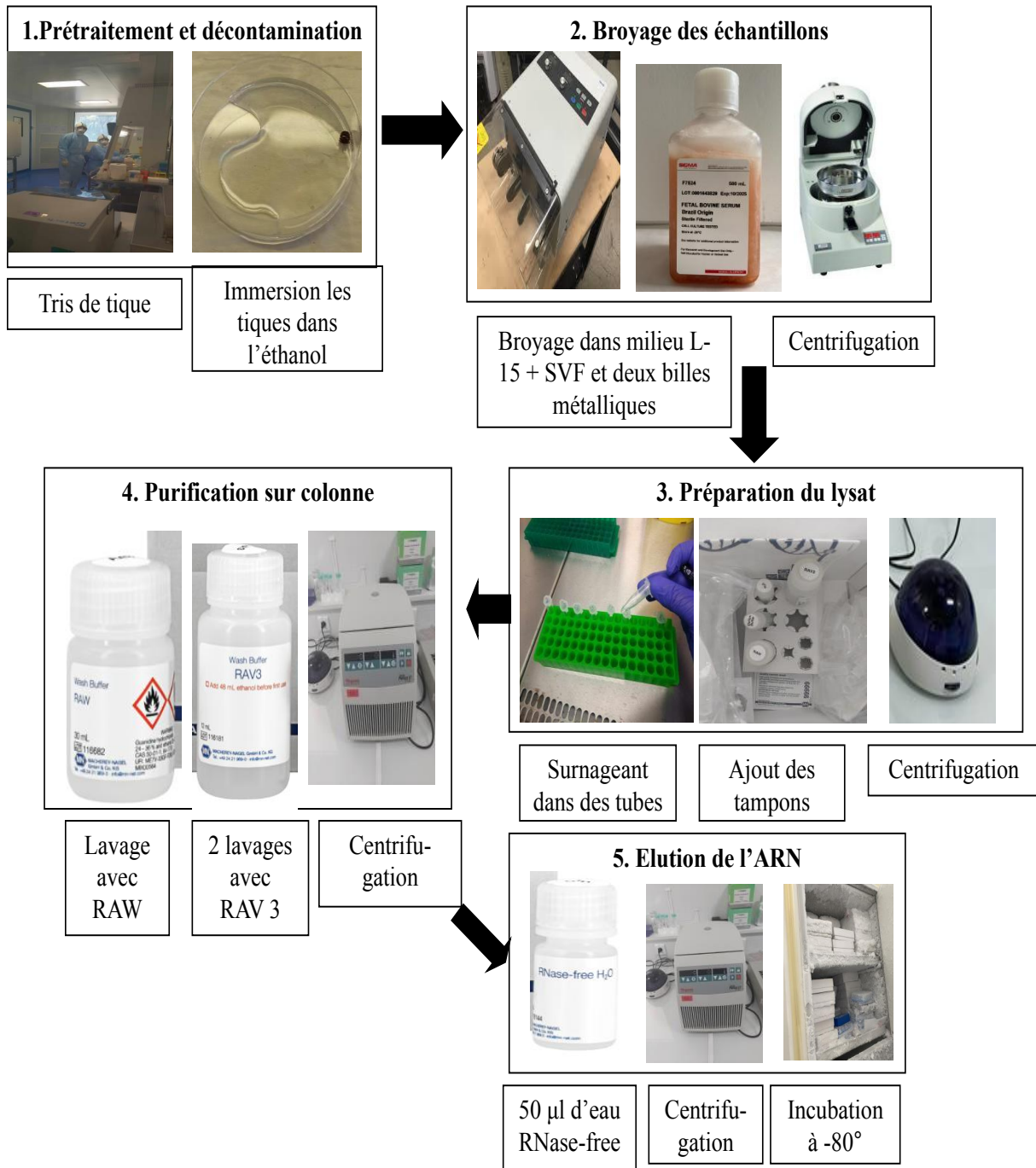


Figure 12 - Schéma des étapes de l'extraction de l'ARN.

II.4.6 - Identification par RT-PCR

II.4.6.1 - Principe de RT-PCR

La RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) est une technique de biologie moléculaire qui permet à la fois de détecter et d'amplifier l'ARN viral ; elle repose sur deux étapes principales : la rétrotranscription (RT) de l'ARN en ADN complémentaire

(ADNc), suivie de l'amplification de cet ADNc en multiples copies. Contrairement à la PCR classique, la RT-PCR en temps réel permet une visualisation directe des résultats, sans recourir à l'électrophorèse sur gel d'agarose. Cette détection repose sur la fluorescence émise soit par des sondes spécifiques de type TaqMan, qui libèrent un signal fluorescent lorsqu'elles sont clivées par l'ADN polymérase, soit par des agents intercalant comme le SYBR Green, qui s'insèrent dans l'ADN double brin (Cavé et al., 2003) (Figure 13).



Figure 13 - Thermocycleur « Smart Cycler » (Original, 2025).

II.4.6.2. - Préparation du mix réactionnel

Cette étape est effectuée dans un laboratoire de niveau de sécurité biologique niveau 2 (P2). Le mélange réactionnel est préparé dans un bac réfrigéré, et toutes les manipulations sont réalisées avec des gants stériles afin de prévenir toute contamination des échantillons (Figure 14).



Figure 14 - Les étapes suivies pour la préparation du mix réactionnel.

II.4.6.2.1. - Mix qRT PCR du virus de la fièvre hémorragique du Crimée-Congo (CCHF)

Afin de démarrer la réaction de RT-PCR, un mélange réactionnel spécifique au virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (VCCHF) a été préparé, conformément aux indications du Tableau 2.

Tableau 2 - Détermination des volumes des réactifs pour le mix qRT-PCR (CCHF)

Réactif	Conc. Initiale	Conc. Finale	Volume N=1
Tampon de reaction	/	1X	5 µl
Luna Warmstart RT Enzyme Mix 20	/	1X	0,5 µl
CCHFV/NP/1/+F	20 µM	1 Mm	0,5 µl
CCHFV/NP/122-R	20 µM	1 mM	0,5 µl
CCHFV/NP/21P (sonde)	2,5 µM	1,25 µM	0,25 µl
H ₂ O	/	/	0,75 µl
Total	/	/	7,5 µl

Volume final de 10 µl, soit : 7,5 µl du mix et 2,5 µl de l'extrait.

II.4.6.2.2. - Mix qRT PCR du virus de l'encéphalite à tique (TBE)

Pour initier la réaction de RT-PCR, un mélange réactionnel spécifique au virus de l'encéphalite à tiques (TBEV) a été préparé, tel que présenté dans le Tableau 3.

Tableau 3 - Détermination des volumes des réactifs pour le mix qRT-PCR (TBEV).

Réactif	Conc. Initiale	Conc. finale	Volume N=1	Volume N=11
Tampon de réaction	/	1X	5 µl	55 µl
Warmstart RT Enzyme Mix	/	1X	0.5 µl	5.5 µl
Amorce F	10 µM	1 mM	0.05 µl	0.55 µl
Amorce R	10 µM	1 mM	0.9 µl	9.9 µl
Probe	25 µM	1.25 µM	0.1 µl	1.1 µl
H ₂ O	/	/	0.95 µl	10.45 µl
Total	/	/	7.5 µl	82.5 µl

Volume final de 20 µl, soit : 15 µl du mix et 5 µl de l'extrait.

II.4.6.2.3. - Mix Real time RT-PCR eGFP

Pour démarrer la réaction de RT-PCR, un mélange réactionnel destiné à la détection de l'eGFP a été préparé, comme indiqué dans le Tableau 4.

Tableau 4 - Détermination des volumes des réactifs pour le mix qRT-PCR (eGFP).

Réactif	Conc. Initiale	Conc. Finale	Volume N=1	Volume N=11
Tampon de réaction	2X	1X	5 µl	55 µl
MgSO ₄ *	50 Mm	0.625 mM	0.125 µl	1.375 µl
eGF-P F	10 µM	0.5 µM	0.25 µl	2.75 µl
eGF-P R	10 µM	0.5 µM	0.25 µl	2.75 µl
eGF-P P	10 µM	0.15 µM	0.15 µl	1.65 µl
ROX* optionnel	/	/	0.025 µl	0.275 µl
Nasin® RibonucleaseInhibitor	/	/	0.1 µl	1.1 µl
Warmstart RT Enzyme Mix	2 UI/µL	/	0.5 µl	5.5 µl
H ₂ O RNase Free	/	/	1.125 µl	11.36 µl
Total	/	/	7.5 µl	82.5 µl

Volume final de 10 µl, soit : 7.5 µl du mix et 2.5 µl de l'extrait.

II.4.6.7. - Profile thermique de RT-PCR

Les échantillons ont été introduits dans le thermocycleur afin d'effectuer une RT-PCR en 47 cycles, selon le programme décrit dans le Tableau 5.

Tableau 5 - Programme thermocycleur de RT-PCR.

Etapes	Température (°C)	Temps (hh:mm:ss)	Cycles	Observation
Etape 1	55	00:10:00	1	RT
Etape 2	95	00:02:00	1	Activation
Etape 3	95	00:00:10	45	Amplification et détection
	60	00:00:40		

II.5. - Réaction en chaîne de polymérisation (PCR)

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) est une technique de biologie moléculaire fondée sur les propriétés physicochimiques de l'ADN ; elle permet l'amplification ciblée d'un fragment d'ADN grâce à des amorces spécifiques, conduisant à la génération de milliers de copies. Ce processus repose sur une succession de cycles comprenant la dénaturation, l'hybridation (ou l'appariement des amorces) et l'élongation de l'ADN, répétés généralement entre 25 et 40 fois. Cette amplification exponentielle rend possible la visualisation des produits PCR sur gel d'agarose ou leur analyse par séquençage (Mullis et al., 1987 ; Bell, 1989 ; Ishmael et al., 2008 ; Garibyan et Avashia, 2013).

II.5.1. - Identification moléculaire des bactéries *Wolbachia* sp

Wolbachia est une bactérie intracellulaire et ne pousse pas sur milieu de culture, leur identification nécessite l'utilisation des techniques de biologie moléculaires telle que PCR-séquençage pour leur caractérisation. Tous les extraits ont été testés pour cette bactérie en utilisant des amorces qui ciblent l'ADN ribosomal 16s (Werren et al., 1997).

Les séquences des amorces ainsi que le protocole expérimental est résumé dans le tableau 6.

Tableau 6 - Protocole expérimental de la PCR *Wolbachia*

Réactif	Concentration finale	Volume pour un échantillon	Séquence des amorces
Master Mix	/	12,5 µl	
W16s F	0,4µM	1 µl	5'-ATACCTATTTCGAAGGGATAG-3'
W16s R	0,4 µM	1µL	5'-AGTCTTCGAGTGAAACCAATTC-3'
H ₂ O	/	8,5 µl	
Volume final		23 µl	

II.5.2. - Profile thermique

Le protocole de PCR destiné à l'amplification des séquences spécifiques de *Wolbachia* a été réalisé selon un programme thermique bien défini, comprenant une phase initiale d'activation de la Taq polymérase, suivie de cycles successifs de dénaturation, d'hybridation et d'élongation, puis d'une étape finale d'élongation. Les conditions de température et de durée appliquées sont résumées dans le tableau 7 ci-après.

Tableau 7 - Profil thermique de PCR *Wolbachia*

Programme		Cycles
Température (°C)	Temps (hh : mm : ss)	
Etape 1 activation de la Taq		1
95	00 : 05 : 00	
Etape 2		35
95	00 : 00 : 15	
60	00 : 00 : 30	
72	00 : 00 : 30	
Etape 3 élongations finales		
72	00 : 10 : 00	1

Chaque tube contient 23 µl de mix + 2 µl d'extrait d'ADN.

II.5.3. - Electrophorèse sur gel d'agarose à 2%

Les produits d'amplification sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2 %, puis visualisés à l'aide d'un Trans-illuminateur placé dans une chambre noire (Figure 15).

II.5.3.1. - Préparation du gel d'agarose

Dans un premier temps, 2 grammes d'agarose en poudre sont pesés, puis dissous dans 50 ml de tampon TBE 0,5X, ce dernier assurant la conductivité ionique nécessaire à l'électrophorèse et le maintien d'un pH stable durant la migration. La solution obtenue est ensuite chauffée aux micro-ondes jusqu'à dissolution complète de l'agarose ; la solution doit devenir claire et homogène, ce qui traduit la solubilisation totale du polymère. Elle est ensuite laissée à tiédir brièvement, afin d'éviter un durcissement prématuré qui gênerait les étapes ultérieures. Une fois la solution refroidie à une température tiède, mais encore liquide, 3 µl de SybrSafe sont ajoutés ; cet agent intercalant fluorescent se fixe entre les bases de l'ADN et permet une visualisation sécurisée des fragments sous lumière UV. Le mélange est ensuite versé avec précaution dans un moule rectangulaire préalablement muni d'un peigne. Celui-ci permet la formation de puits de chargement des échantillons, en veillant à éliminer toutes les bulles d'air qui pourraient altérer la migration. Le gel est alors laissé à température ambiante jusqu'à solidification complète. Une fois figé, le peigne est retiré délicatement afin de dégager des puits bien formés sans déformation ni fissure. Le gel est ensuite placé dans une cuve d'électrophorèse contenant du tampon TBE 0,5X, ce qui assure la continuité électrique et la bonne migration des fragments.

Les échantillons d'ADN, préalablement mélangés avec un tampon de charge permettant à la fois d'alourdir l'échantillon et de visualiser sa progression grâce aux colorants de migration, sont déposés un par un dans les puits à l'aide d'une micropipette. Enfin, une tension électrique de 80 V est appliquée pendant environ 50 minutes. Cette étape permet la séparation des fragments d'ADN en fonction de leur taille, les plus petits migrent plus rapidement dans la matrice du gel que les fragments de grande taille.

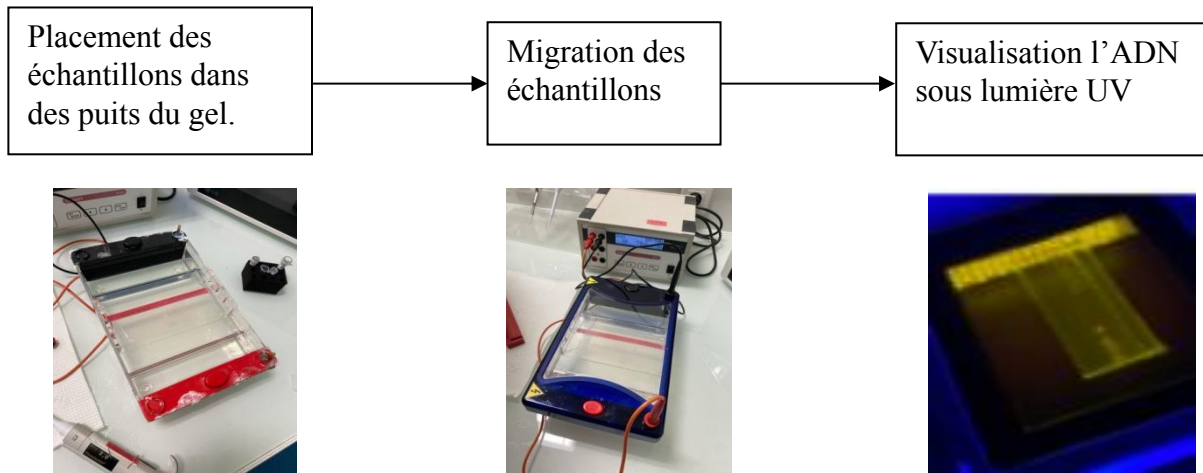


Figure 15 - Schéma représentant les étapes de la migration sur le gel d'agarose.

II.6. - Séquençage

Le séquençage de l'ADN est une technique utilisée pour identifier l'ordre exact des bases nucléotidiques (adénine (A), cytosine (C), guanine (G) et thymine (T)) d'une séquence d'ADN (Figure 16). Il existe plusieurs méthodes suivant le but recherché à atteindre à savoir la méthode classique de Sanger, le séquençage à haut débit (NGS) qui utilisent différentes technologies telles que les Illumina, IonTorrent et Oxford Nanopore (Lamoril et al., 2008).

Dans le cadre de cette étude, le séquençage par la méthode de Sanger a été choisi pour l'analyse des fragments d'ADN amplifiés.

II.6.1. - Méthode de Sanger

Également appelée séquençage par terminaison de chaîne, la méthode de Sanger repose sur la réplication de l'ADN au cours de laquelle sont incorporés de manière aléatoire des didésoxynucléotides fluorescents (ddNTP). L'incorporation de ces nucléotides empêche l'élongation de la chaîne, générant ainsi des fragments de tailles différentes. Ces fragments sont ensuite séparés par électrophorèse, et la détection optique des fluorophores permet de lire la séquence nucléotidique (Tutoweb, 2021).

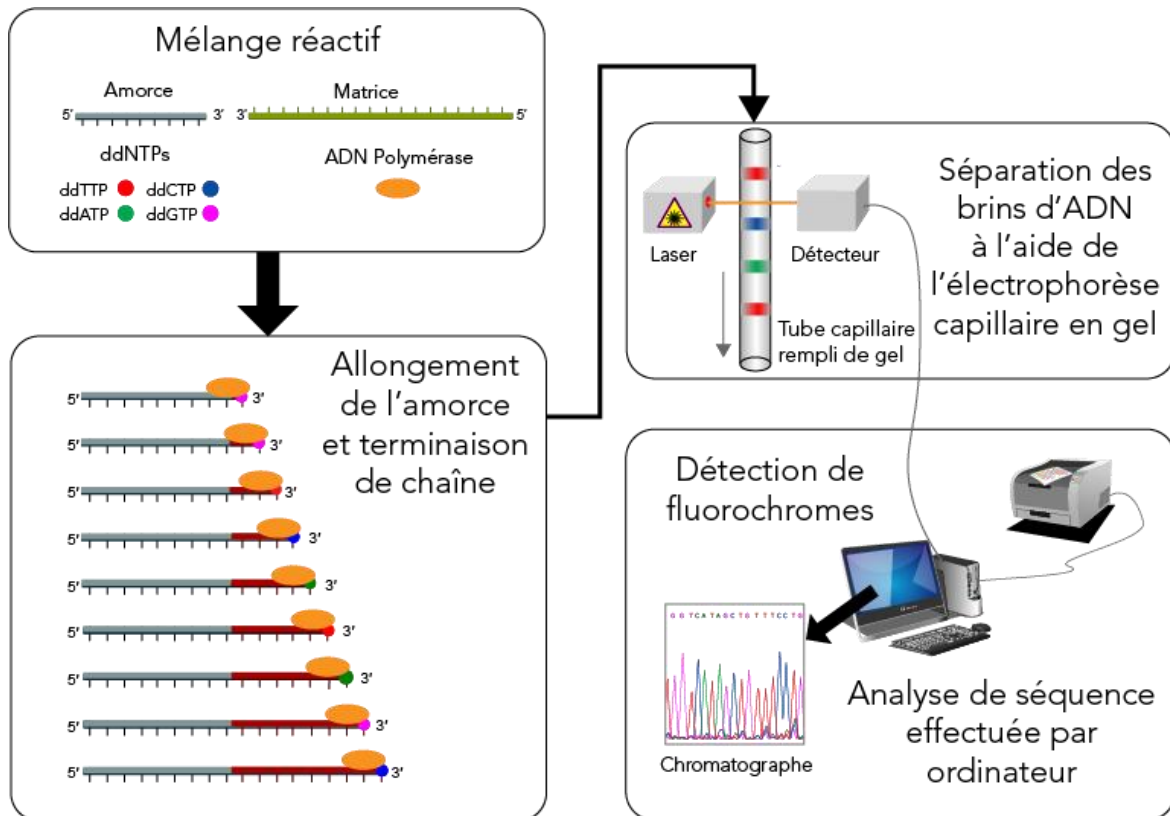


Figure 16 - Principe du séquençage de l'ADN à l'aide d'électrophorèse capillaire en gel (Estevezj.2012).

II.6.2. - Préparation des échantillons pour séquençage

Le processus de séquençage comprend plusieurs étapes clés : la purification des amplicants à séquencer, la réalisation d'une réaction PCR-séquençage spécifique puis une deuxième purification des produits PCR obtenus (Tutoweb, 2021).

II.6.2.1. - Purification post-amplification

La purification post-amplification constitue une étape essentielle après la PCR, visant à éliminer les amorces non incorporées, les dNTPs et ddNTP résiduels ainsi que l'ADN simple brin restant. Dans cette étude, la première purification a été effectuée par la méthode enzymatique ExoSAP-IT. Cette méthode repose sur l'action combinée de deux enzymes : l'Exonucléase I, qui dégrade spécifiquement les amorces libres et l'ADN simple brin, et la Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP), qui hydrolyse les dNTPs non incorporés. Cette approche est largement reconnue pour sa rapidité, sa simplicité et sa fiabilité, permettant une purification efficace sans perte significative de produit d'amplification (Bell, 2008).

Pour cela, 5 µl de chaque produit PCR amplifié sont mélangés à 2 µl de la solution ExoSAP-IT dans des micro-tubes. Les échantillons sont ensuite placés dans un thermocycleur, soumis à une température de 37 °C pendant 4 minutes suivies d'une phase d'inactivation de cette enzyme à 80 °C pendant 1 minute.

II.6.3. - Etape de la PCR-séquençage

Chaque amplicants est amplifié en utilisant l'amorce sens (forward) et l'amorce anti-sens (reverse) séparément dans deux micro tubes afin de générer des fragments d'ADN dans les deux sens, facilitant ainsi une lecture complète de la séquence (Croussley, 2020).

Le protocole expérimental et est résumé dans le tableau 8.

Tableau 8 - Le protocole expérimental de la PCR-séquençage.

Réactif	Concentration initiale	Concentration finale	Volume pour 1 échantillon
Tampon dye	2X		1 µl
Amorce Sens ou antisense	10 µM	0.5 µM	0.5 µl
BigDye Terminator Cycle SequencingReadyReaction 3.1	/		2 µl
H ₂ O	/		4.5 µl
Volume final			8 µl

2µ d'ADN amplifié sont ajoutés à 8 µL du mix PCR-séquençage.

II.6.3.1. - Profile thermique

Le profil thermique appliqué dans la PCR-séquençage est résumé dans le tableau 9.

Tableau 9 - Profile thermique de la réaction.

Programme		Cycles
Température (°C)	Temps (hh : mm : ss)	
Etape 1 activation de la Taq		1
96	00 : 01 : 00	
Etape 2		25
96	00 : 00 : 10	
50	00 : 00 : 05	
60	00 : 04 : 00	
Etape 3 conservation		
4	Hold	1

II.6.3.2. - Deuxième purification post PCR-séquençage

Une seconde purification est réalisée après la PCR de séquençage afin d'éliminer l'excès d'amorces, d'amplicants et de réactifs, à l'aide de billes de Séphadex.

Pour préparer la plaque de purification, 400 µl de Séphadex sont ajoutés puis la plaque est centrifugée à 1800tr pendant 10 minutes. Après l'eau est éliminé et 200 µl supplémentaires sont ajoutés et la plaque centrifugée à 1800tr pendant 5 minutes, une fois la plaque prête, 10 µl d'eau distillée sont mélangés au produit PCR-séquençage puis déposés dans la plaque. Une dernière centrifugation de la plaque centrifugée à 1800tr pendant 10 minutes permet de récupérer les échantillons purifiés, qui sont ensuite placés dans le séquenceur.

II.6.4. - L'analyse des résultats de séquençage

Les fichiers générés par le séquenceur de type .AB1 sont édités et analysés à l'aide du logiciel BioEdit v7.2.5 (Hall, 1999) avant de les blaster dans la base de données GenBank pour comparaison et confirmation de l'espèce recherchée. Les espèces retrouvées sont considérées semblable si elle présente un pourcentage de ressemblance \geq à 98%, Evaluate=0 et le taux de couverture égal à 100%.

II.7. - Construction d'arbre phylogénique

Une fois les séquences blastées dans la base de données GenBank d'autres séquences appartenant à la même espèce identifiée sont téléchargées pour la construction d'arbre phylogénétique. Les séquences sont alignées à l'aide l'algorithme d'alignement multiple Muscle implémenté dans le logiciel Mega v12.0.11 (Tamura et al., 2021). L'arbre de maximum likelihood a été construite en utilisant le modèle K+I (Kamura 2 paramètres + I) comme suggéré par le logiciel avec une robustesse de 1000 bootstraps.

Dans ce chapitre nous allons présenter les différents résultats obtenus au cours de notre étude, notamment l’inventaire des échantillons, ainsi les résultats de la RT-PCR tel que l’eGFP, le TBEV et le CCHF. Nous aborderons aussi les résultats de détection de la bactérie endosymbiote *Wolbachia* dans les tiques.

III.1. - Résultats de l’inventaire des échantillons

Au cours de notre étude, réalisée sur une période de cinq mois (février à juin 2025), un total de 180 tiques a été collecté dans la zone de Bouzeguène et 60 tiques dans la zone d’Azazga. Toutefois, les tiques gorgées prélevées sur les bovins exclues de l’analyse. Ainsi, seuls 66 spécimens adultes et larves ont été retenus pour l’étude : 13 issus de la zone de Bouzeguène et 53 de la zone d’Azazga.

L’identification des tiques collectées dans la région d’Azazga et Bouzeguène soit libre sur végétation ou sur les bovins (Tableau 10).

Tableau 10 - Résultats d’identification des tiques collectées.

Région	Espèces	Nombre d’individu males et nombre d’individu femelles.				Total
		Mâles ♂	Abondance relative	Femelles ♀	Abondance relative	
Bouzeguène (vaches)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	3	60	2	28,57	5
	<i>Hyalomma marginatum</i>	2	40	5	71,43	7
	<i>Ixodes ricinus</i>	0	0	1	14,29	1
Total		5	100	7	100	13
Azazga (drap)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	7	36,84	12	35,85	19
	<i>Hyalomma marginatum</i>	11	57,89	21	60,38	32
	<i>Dermacentor marginatus</i>	1	5,25	1	3,77	02
Total		19	100	34	100	53

Les résultats relatifs à l’abondance des différentes espèces sont présentés sous forme graphique afin de mieux visualiser les tendances observées. Ainsi, les figures 17 et 18 illustrent la répartition des abondances relatives des échantillons étudiés.

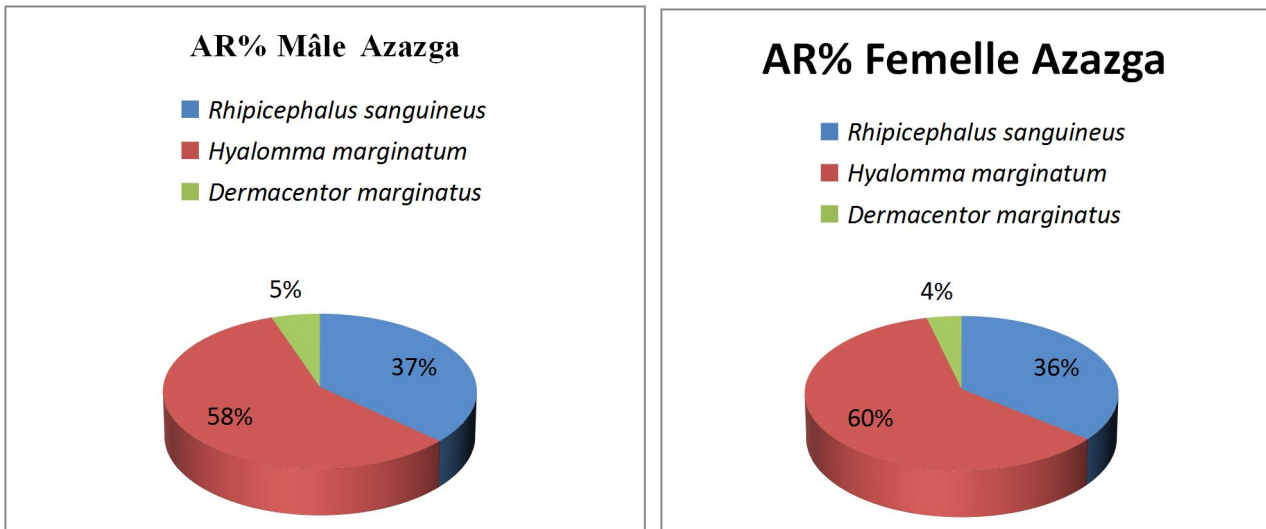


Figure 17 - Des graphes représentant l'abondance relatives des tiques ♂ et ♀ dans la zone de Azazga.

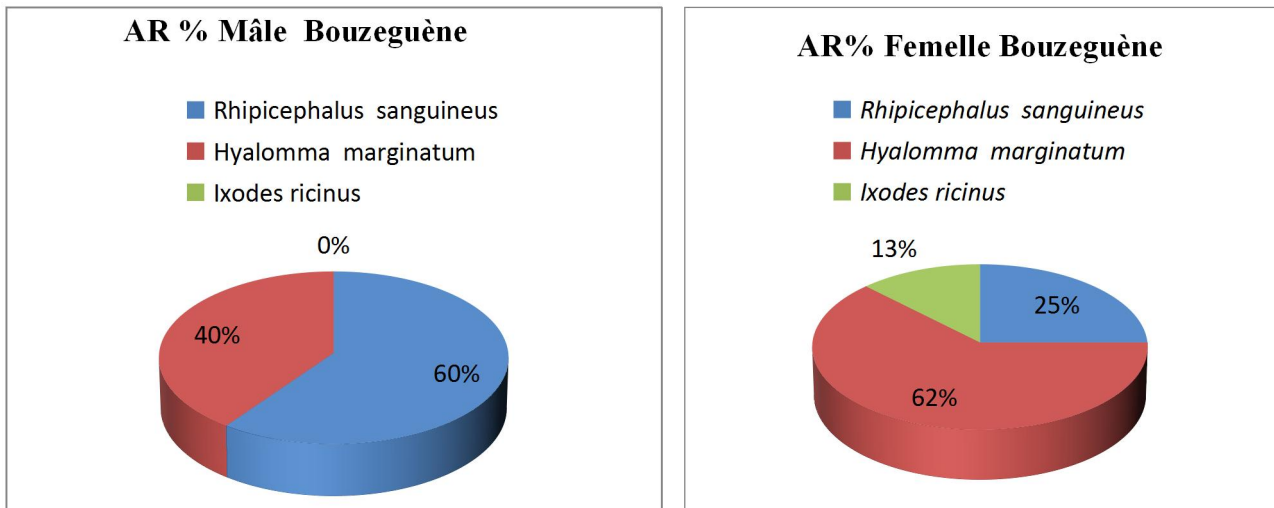


Figure 18 - Des graphes représentant l'abondance relatives des tiques ♂ et ♀ dans la zone de Bouzeguène.

Dans la zone d'Azazga, l'abondance relative des tiques montre une nette prédominance de *Hyalomma marginatum*, représentant 58 % des mâles et 60 % des femelles. Cette espèce apparaît donc comme la mieux adaptée aux conditions écologiques locales. Elle est suivie par *Rhipicephalus sanguineus*, qui constitue respectivement 37 % des mâles et 36 % des femelles, indiquant une présence également importante mais secondaire. En revanche, *Dermacentor marginatus* reste très faiblement représenté, avec seulement 5 % chez les mâles et 4 % chez les femelles. Ainsi, la hiérarchie des espèces est similaire entre les deux sexes, avec la dominance de *Hyalomma marginatum*, suivie de *Rhipicephalus sanguineus*, tandis que *Dermacentor marginatus* occupe une place marginale dans la zone étudiée.

Dans la zone de Bouzeguène, l'abondance relative des tiques révèle une nette prédominance de *Hyalomma marginatum*, représentant 40 % des mâles et 63 % des femelles. Cette espèce apparaît donc comme la plus adaptée et la mieux représentée dans cette localité. Elle est suivie par *Rhipicephalus sanguineus*, qui atteint 60 % chez les mâles mais seulement 25 % chez les femelles, traduisant une répartition différente selon le sexe. En revanche, *Ixodes ricinus* n'a pas été recensé chez les mâles et reste faiblement représenté chez les femelles (13 %). Ainsi, la structure de la population de tiques à Bouzeguène met en évidence la dominance de *Hyalomma marginatum*, une contribution variable de *Rhipicephalus sanguineus* selon le sexe, et une présence marginale d'*Ixodes ricinus*.

III.2 -Résultats de la RT-PCR

Les résultats obtenus ont été analysés en tenant compte de la répartition géographique dans les deux zones de Tizi-Ouzou ainsi que du sexe des tiques (mâles et femelles) présentés dans le tableau 11 ci-dessous.

Tableau 11 - Les échantillons extraits des tiques.

Echantillons	Observation	Région
AZ1	3 mâles	Azazga
AZ2	3 mâles	
AZ3	3 mâles	
AZ4	3 mâles	
AZ5	3 mâles	
AZ6	1 femelle adulte	
AZ7	3 femelles	
AZ8	3 femelles	
AZ9	3 femelles	
AZ10	3 femelles	
AZ11	3 femelles	
AZ12	3 femelles	
AZ13	3 femelles	
AZ14	3 femelles	
AZ15	3 femelles	
AZ16	2 femelles	
AZ17	1 femelle	

AZ18		
AZ19	3 femelles	
AZ20	4 mâles	
AZ21		
AZ22		
AZ23		
B1	1 femelle adulte	Bouzeguène
B2	1 femelle adulte	
B3	1 femelle adulte	
B4	2 femelles	
B5	3 mâles	
B6	2 femelles	
B7	1 femelle	
B8	2 mâles	
B9	<i>Ixodes racinus</i> femelle	

Les échantillons utilisés pour la PCR comprenaient 23 échantillons correspondant aux codes AZ1 jusqu'à AZ23 dans la région d'Azazga, et 9 échantillons correspondant aux codes B1 jusqu'à B9 dans la région de Bouzeguène et plus un témoin positif et un témoin négatif.

III.2.1. - Résultats de la RT-PCR eGFP

Le graphe ci-dessous Figure 19 illustre les résultats d'amplification obtenus pour l'eGFP, montrant la dynamique des cycles de RT-PCR.

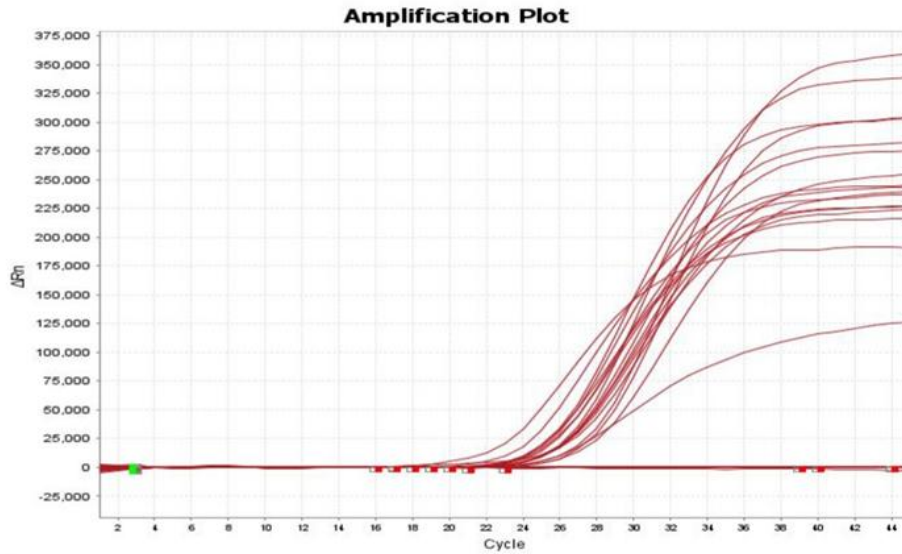


Figure 19 - Graphe représentant des résultats de L'eGFP.

L'amplification du témoin de l'extraction eGFP a montré des courbes d'amplification régulières avec des valeurs de Ct comprises entre 21 et 26. Ce contrôle a été intégré dans l'ensemble des réactions afin de vérifier la qualité de l'extraction des acides nucléiques et de s'assurer de l'absence d'inhibiteurs susceptibles d'altérer la réaction d'amplification. Les Ct observés, se situant dans un intervalle considéré comme optimal, traduisent une efficacité correcte de l'extraction et confirment que les échantillons contiennent une quantité suffisante de matériel génétique exploitable. En d'autres termes, la détection cohérente du gène eGFP atteste que le protocole d'extraction mis en place a permis de récupérer des acides nucléiques de bonne qualité.

III.2.2. - Résultat de détection de virus l'encéphalite à tique

Le tableau 12 montre les résultats de la RT-PCR pour le virus TBE pour l'ensemble des échantillons examinés.

Tableau 12 - Résultat de la RT-PCR de virus de l'encéphalite à tique.

Echantillons	Ct TBE	OBSERVATION
NC	/	Négatif
PC	25,6	Positif
AZ1	/	Négatif
AZ2	/	Négatif
AZ3	/	Négatif

AZ4	/	Négatif
AZ5	/	Négatif
AZ6	/	Négatif
AZ7	/	Négatif
AZ8	/	Négatif
AZ9	/	Négatif
AZ10	/	Négatif
AZ11	/	Négatif
AZ12	/	Négatif
AZ13	/	Négatif
AZ14	/	Négatif
AZ15	/	Négatif
AZ16	/	Négatif
AZ17	/	Négatif
AZ18	/	Négatif
AZ19	/	Négatif
AZ20	/	Négatif
AZ21	/	Négatif
AZ22	/	Négatif
AZ23	/	Négatif
B1	/	Négatif
B2	/	Négatif
B3	/	Négatif
B4	/	Négatif
B5	/	Négatif
B6	/	Négatif
B7	/	Négatif
B8	/	Négatif
B9	/	Négatif

Les analyses moléculaires effectuées pour la détection du virus responsables de l'encéphalite à tiques (TBE) n'ont révélé aucun signal d'amplification spécifique dans l'ensemble des échantillons testés. Les courbes obtenues sont caractéristiques d'un résultat

négatif, confirmant l'absence de détection des deux agents pathogènes ciblés dans les prélèvements analysés (Figure 20).

Ces résultats suggèrent que, durant la période et dans les conditions de l'étude, aucune circulation apparente du virus TBE n'a été mise en évidence dans les zones échantillonnées, que ce soit dans les tiques collectées directement sur la végétation ou chez celles prélevées sur les bovins.

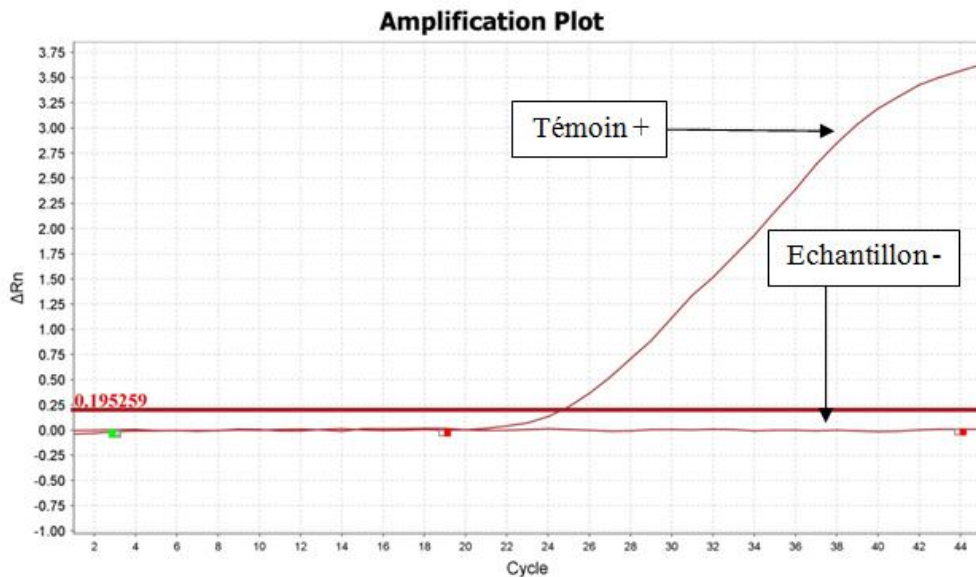


Figure 20 - Graphe représentant un résultat négatif de virus TBE.

III.2.3 - Résultat de détection de virus Crémé-Congo

Tous les résultats de la RT-PCR pour le virus CCHF sont relevés négatifs pour l'ensemble des échantillons examinés (Tableau 13).

Tableau 13 - Résultat de la RT-PCR de virus Crimée-Congo.

Echantillons	Ct CCHF	OBSERVATION
NC	/	Négatif
PC- CCHF 10-6	26,54	Positif
AZ1	/	Négatif
AZ2	/	Négatif
AZ3	/	Négatif
AZ4	/	Négatif
AZ5	/	Négatif
AZ6	/	Négatif
AZ7	/	Négatif

AZ8	/	Négatif
AZ9	/	Négatif
AZ10	/	Négatif
AZ11	/	Négatif
AZ12	/	Négatif
AZ13	/	Négatif
AZ14	/	Négatif
AZ15	/	Négatif
AZ16	/	Négatif
AZ17	/	Négatif
AZ18	/	Négatif
AZ19	/	Négatif
AZ20	/	Négatif
AZ21	/	Négatif
AZ22	/	Négatif
AZ23	/	Négatif
B1	/	Négatif
B2	/	Négatif
B3	/	Négatif
B4	/	Négatif
B5	/	Négatif
B6	/	Négatif
B7	/	Négatif
B8	/	Négatif
B9	/	Négatif

Les analyses moléculaires réalisées pour la détection du virus CCHF n’ont montré aucun signal d’amplification spécifique dans l’ensemble des échantillons testés. Les courbes obtenues traduisent un résultat négatif, confirmant l’absence de détection des agents pathogènes ciblés (Figure 21). Donc durant la période d’étude et dans les conditions expérimentales retenues, aucune circulation apparente du virus CCHF n’a été mise en évidence dans les zones échantillonnées.

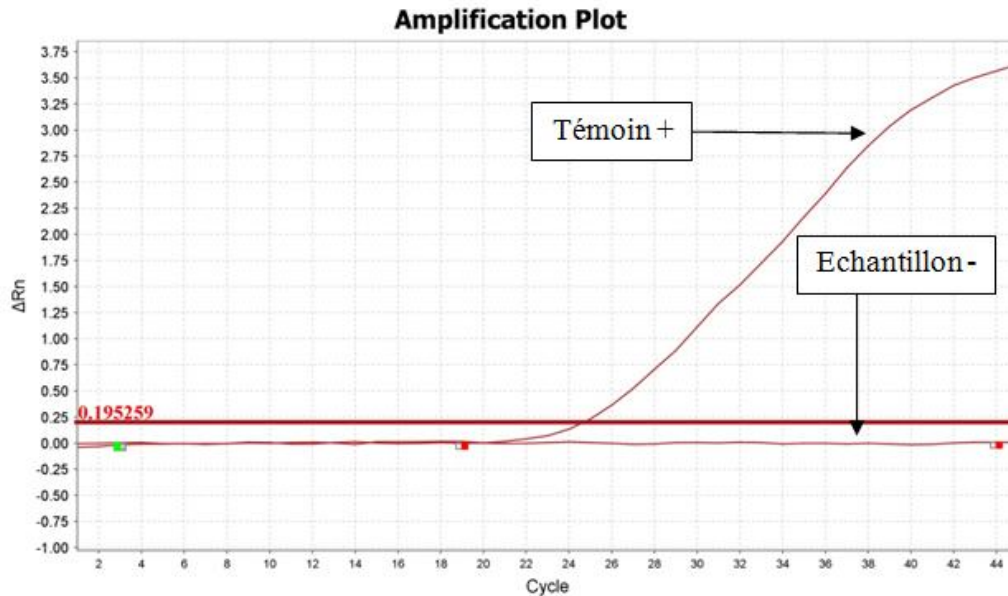


Figure 21 - Graphe représentant un résultat négatif de virus CCHF.

III.2.4. - Résultats de détection de la bactérie endosymbiote *WOLBACHIA* dans les tiques

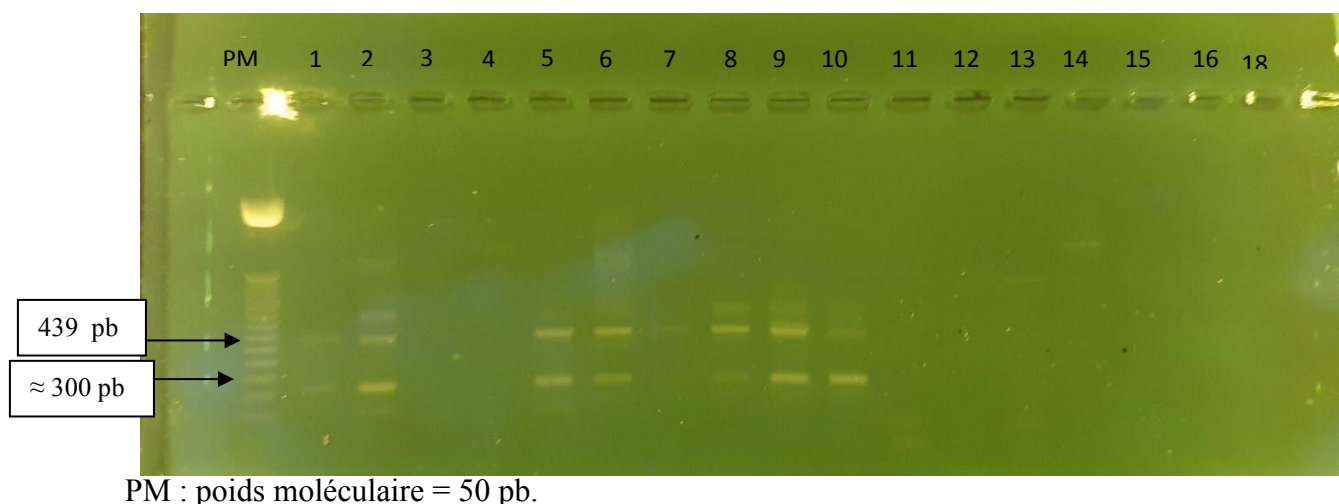
Les échantillons d’AZ10 à AZ16 n’ont pas été testés pour la bactérie *Wolbachia* car ils ont été extraits avec un kit d’extraction spécial ARN (QiaGen) qui ne permettait pas l’extraction d’ADN. Les résultats d’amplification des endosymbiote *WOLBACHIA* du gene W16s à révélé des profils variables présentés dans le tableau 14.

Tableau 14 - Résultats d’amplification du W16s *Wolbachia*.

Région	Espèce et sexe	Code initial	Numéro sur gel	Résultat
Azazga	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> ♀	AZ8	1	≈ 300/≈ 439 pb
		AZ9	2	Négatif
	<i>Dermacentor marginatus</i> ♀	AZ18	4	
	<i>Hyalomma marginatum</i> ♀	AZ19	5	
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	AZ20	6	≈ 300/≈ 439 pb

	♂	AZ7	7	
	<i>Hyalomma marginatum</i> M	AZ21	8	≈ 439 pb
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	AZ22	9	≈ 300/≈ 439 pb
		AZ23	10	
Bouzguène	<i>Hyalomma marginatum</i> ♀	B1	11	Négatif
		B2	12	
	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> ♀	B3	13	
		B4	14	
	<i>Hyalomma marginatum</i> ♂	B5	15	
	<i>Hyalomma marginatum</i> ♀	B6	16	
		B7	17	
<i>Ixodes ricinus</i> ♀	B9	18		

Les résultats d'électrophorèse sur gel d'agarose pour les différents échantillons sont présentés ci-dessous Figure 22



PM : poids moléculaire = 50 pb.

Figure 22 - Gel d'électrophorèse des produits PCR ciblant W16s de *Wolbachia* chez les tiques.

L'endosymbiote *Wolbachia* a été détecté principalement dans les tiques de la région d'Azazga (Tableau 11). L'échantillon AZ21 contenant 4 mâles de *Hyalomma marginatum* a révélé la présence d'une seule bande correspondante à *Wolbachia pipientis* ciblée par les amorces utilisées cytoplasmique. Cependant le reste des spécimens appartenant à l'espèce *Rhipicephalu ssanguineus* et *Hyalomma marginatum* que ce soit des mâles ou femelles, les résultats ont révélé la présence de deux bandes une d'environ 300pb et une deuxième d'environ 439pb correspondante à la bande spécifique de *Wolbachia pipientis* ciblée par les amorces utilisés cytoplasmique. A cet effet, la bande d'environ 300pb elle a été séquencée pour déterminer sa nature et la spécificité des amorces utilisées.

Le résultat du séquençage de la bande correspondante à ≈ 300 a généré une séquence de 299 paires base (voir séquence consensus) correspondant à la séquence de *Wolbachia* détecté au niveau du génome de *Glossina morsitans morsitans* résultante d' un transfert génétique horizontal entre l'endosymbiote et la mouche traduisant le même phénomène chez les tiques testées.

>Consensus_W16s AZ6

```
ATACCTATTCGAAGGGATAGGAATAGGAACAGATATATGTACAACACTGCGTTAAG
CGAGCAGCGCATGCTGATAGGAACAGCTCACACCAGTCTATCTAGTTGACGTCCT
TTTCTTCATCTTGTAGACCGCGATGCCACTGGTACGTAGCAATATTGACTGCCTGG
TAGCATGGGCTGTCCTCGAGTCAAGGCTACGGAGATAACTCACTATGGGCACTGG
AAAAAAATTCGGCAGAACCCGTGCCTTCTAGGAATTGGTTTCTATCGAAGCTAAG
ACACCGTCAATTGATTCACTCGAAGCT
```

Dans ce chapitre, nous examinerons les résultats d'inventaires des tiques échantillonnées soit par méthode de collecte directe ou en utilisant la méthode du drap, nous discuterons également les résultats obtenus par l'identification des espèces, nous examinerons les résultats de la RT-PCR effectuée pour détecter les virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (CCHF) et de l'encéphalite à tiques (TBE) dans les échantillons de tiques. Enfin, nous aborderons des discussions sur les résultats de la PCR pour détecter la bactérie endosymbiote *Wolbachia*.

IV.1. - Discussion des résultats d'inventaire des tiques collectées.

Pendant la phase d'échantillonnage, 180 tiques ont été collectées dans la zone de Bouzeguène en utilisant la méthode de la collecte directe dont 167 tiques ont été éliminées en raison qu'elles étaient gorgées de sang et 13 sont pris en considération pour ne pas confondre les ADN des tiques et des bovins. Par ailleurs, 66 tiques ont été collectées dont 13 ont été éliminées et 53 sont pris en considération dans la zone d'Azazga en utilisant la méthode du drap. Cette différence de collecte entre les deux zones peut s'expliquer par la difficulté de collecte sur la végétation, cette méthode nécessite du temps, de la végétation spécifique aux tiques et des conditions climatiques telle que l'humidité, tandis que pour la méthode de collecte directe, les tiques sont directement disponibles sur les places sensibles des bovins. Nos résultats sont cohérents avec ceux de Siguerdjidjene et Seridj (2024) qui ont collecté 143 tiques dans la région de Bouzeguène. Ce rapprochement dans les effectifs met en évidence l'impact de l'environnement local et des pratiques d'élevage sur le nombre d'individus. Toutefois, une étude menée par Simona et al., (2004) dans la région de Tizi-Ouzou où 3571 tiques ont été collectées. Cette différence en résultats par rapport à notre effectif de tiques est due probablement à notre durée courte d'échantillonnage.

IV.2. - Discussion des résultats de l'identification des espèces.

L'analyse morphologique des tiques révèle une nette prédominance de *Hyalomma marginatum*, suivie par *Rhipicephalus sanguineus*, tandis que *Dermacentor marginatus* et *Ixodes ricinus* apparaissent en proportions plus faibles. Cette composition s'aligne avec les résultats de Ferhouh et Djennadi (2015) dans la région de Bouzeguène, qui ont également observé la prédominance de l'espèce *Hyalomma marginatum*.

Une autre étude est menée par Djouaher (2023) à la région de Tizi-Ouzou dont le résultat a montré une collecte de 1318 tiques appartenant principalement à l'espèce *Rhipicephalus sanguineus* confirmant la large distribution de ces deux espèces dans la région de Tizi-Ouzou.

En outre, une recherche effectuée par Bouhous et al, en 2008 dans le sud du pays (région d'Adrar), les résultats ont révélé la présence de neuf espèces de tiques appartenant principalement à *Hyalomma*.

Sur 1318 tiques collectées par Djouahar (2023) dans la région de Tizi-Ouzou, 1,36% représente l'espèce *Ixodes Ricinus*, une proportion qui s'accorde avec notre résultat concernant la faible proportion de cette espèce. Alors que, Dib et al, (2008) avaient identifié 59 tiques appartenant à l'espèce *Ixodes Ricinus* sur 59 tiques collectées sur les bovins à El-Tarf (nord-est d'Algérie). Cette contradiction s'explique probablement par la courte durée d'échantillonnage (Février-Mai) et qui ne correspondait pas à la saison de répartition de l'espèce *Ixodes Ricinus*, généralement apparaisse dans la saison d'automne.

IV.4. - Discussion des résultats de la RT-PCR

Les tests RT-PCR utilisés pour la détection des virus TBE (encéphalite à tique) et CCHF ont été validés par l'amplification d'un témoin interne (gène eGFP), avec des valeurs de cycle-seuil (Ct) variant entre 21 et 26, signe d'une bonne qualité des extractions et d'une absence d'inhibiteurs PCR. Siguerdjidjen et Saridj 2024 ont confirmé ces valeurs. Cette étape méthodologique est essentielle pour garantir la fiabilité des résultats, en évitant les faux négatifs liés à une extraction inadéquate ou à une inhibition enzymatique.

IV.4.1 - Discussion des résultats de TBEV

Aucune des tiques analysées n'a révélé la présence du virus de l'encéphalite à tiques (TBEV) tout comme les résultats de Siguerdjidjene et Seridj (2024). Cette absence est conforme à l'ensemble des données existantes pour l'Algérie, où la détection du TBEV reste jusqu'à présent infructueuse Süss (2011) indique qu'en Europe même, la détection du TBEV nécessite l'analyse de milliers de tiques en raison de sa très faible prévalence. Il est nécessaire de poursuivre et de surveiller l'apparition du virus de l'Encéphalite à tiques dans notre région vu ses forts symptômes qui peuvent même entraîner la mort de l'individu infecté (Deubel et Georges-Courbot, 2002).

IV.4.2. - Discussion des résultats de CCHFV

Aucune amplification du virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo (CCHFV) n'a été détectée dans les échantillons analysés. Ce constat est en accord avec les résultats de Siguerdjidjene et Seridj (2024), qui n'ont pas non plus identifié ce virus. Cependant, les études sérologiques en Algérie (Degui et al., 2024) au sud du pays révèlent une exposition significative au CCHFV chez les bovins et camélidés, indiquant une circulation silencieuse mais à faible intensité. Bouattour et Coll. (2019) ont observé des résultats similaires en Tunisie. L'absence de détection par PCR dans nos échantillons, comme dans ceux de Siguerdjidjene et Seridj (2024), illustre la difficulté de mise en évidence moléculaire du CCHFV et souligne la nécessité d'analyse d'échantillons plus massifs ou de recours à des approches sérologiques complémentaires.

IV.5. - Discussion des résultats de *Wolbachia*

La présence de l'endosymbiote *Wolbachia*, une bactérie appartenant à l'ordre des Rickettsiales, a été mise en évidence principalement à Azazga, avec deux profils distincts : une bande de 439 pb associée à *Wolbachia pipientis* et une bande atypique de 300 pb proche de *Glossina morsitans*.

Bien que peu d'études aient été menées en Algérie sur cet endosymbiote, Dib et al. (2008) ont rapporté pour la première fois dans le pays la présence de *Rickettsia monacensis*, appartenant au même ordre que *Wolbachia*, chez 59 % des tiques échantillonnées.

Nos résultats constituent la première mise en évidence de la présence de *Wolbachia* chez les tiques en Algérie, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives de recherche.

Étant donné que la présence de *Wolbachia* chez les moustiques est connue pour inhiber la multiplication des arbovirus, il serait pertinent d'envisager des travaux complémentaires afin d'évaluer le rôle potentiel de *Wolbachia* comme agent de lutte biologique et son impact sur la compétence vectorielle des populations locales de tiques.

Ce travail, réalisé entre février et juin 2025 dans les régions d'Azazga et de Bouzeguène, a permis de collecter 180 tiques à Bouzeguène et 66 tiques à Azazga. Deux méthodes ont été utilisées : la collecte directe sur les bovins et la méthode du drap sur la végétation.

Les résultats ont révélé la présence de quatre espèces appartenant à la famille des Ixodidae, à savoir *Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma marginatum*, *Ixodes ricinus* et *Dermacentor marginatus*. Une nette dominance de *Hyalomma marginatum*, espèce bien adaptée aux conditions climatiques des zones d'Azazaga et Bouzeguène durant cette période hiverno-printanière.

Cependant, les résultats de la RT-PCR a révélé l'absence de détection du virus TBEV et du CCHFV qui peut s'expliquer par plusieurs facteurs. D'abord, la durée relativement courte de l'échantillonnage et le nombre limité de spécimens collectés ne permettent pas de refléter toute la diversité et la dynamique des tiques. De plus, la qualité de l'échantillonnage, associée au manque de produits de conservation adaptés pour préserver l'intégrité du matériel viral, a pu influencer négativement la sensibilité des analyses. Ensuite, l'absence ou la faible présence des oiseaux migrateurs durant cette période a certainement réduit les chances de détecter une circulation virale, sachant que ces oiseaux jouent un rôle clé dans l'introduction et la dispersion des arbovirus. Tous ces éléments peuvent expliquer l'absence ou la faible circulation du virus dans les échantillons analysés.

Parallèlement, la mise en évidence de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia* constitue un résultat important. Ce micro-organisme est connu pour influencer la biologie des arthropodes et pourrait jouer un rôle dans la compétence vectorielle des tiques. Les études les plus approfondies représentent donc une piste prometteuse pour la recherche, notamment dans le cadre de stratégies innovantes de lutte biologique.

En perspective, il serait essentiel de prolonger les campagnes d'échantillonnage sur une durée plus longue et de diversifier les hôtes étudiés, tout en améliorant les méthodes et les conditions de conservation des échantillons. L'utilisation de techniques de détection plus sensibles, combinée à l'étude du rôle des oiseaux migrateurs et de *Wolbachia*, permettra de mieux comprendre la dynamique épidémiologique des tiques en Algérie et de développer des stratégies de surveillance et de prévention plus efficaces face aux maladies émergentes transmises par ces arthropodes.

- Balashov, Y. S. (1972). Bloodsucking ticks (Ixodoidea)—vectors of diseases of man and animals. *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America*, 8(2), 161–376.
- Beati, L., Nava, S., et Guglielmone, A. A. (2012). Systematics and taxonomy of ticks with a world list of valid species. In D. Bowman et A. Nuttall (Eds.), *Ticks: Biology, Disease and Control*. Cambridge University Press; pp. 1–43.
- Bell, J. (1989). "The polymerase chain reaction: a new method for the amplification of dna." *Nature*, 339(6220), 305.
- Bell, J. (2008). "PCR: Principles and Applications." *Molecular Biology and Biotechnology*, 2nd ed.
- Bente, D. A., Forrester, N. L., Watts, D. M., mcauley, A. J., Whitehouse, C. A., et Bray, M. (2013). Crimean-Congo hemorrhagic fever: History, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Research*, 100(1), 159–189.
- Kaur, R., J.D. Shropshire, K.L. Cross, B. Leigh, A.J. Mansueto, V. Stewart, et S.R. Bordenstein, (2021) *Living in the endosymbiotic world of Wolbachia: A centennial review*. *Cell Host and Microbe* 29(6):879-893
- Adams, K L., D G. Abernathy, B C. Willett, E K. Selland, M A. Itoe et F Catteruccia, (2021). *Wolbachia cifB* induces cytoplasmic incompatibility in the malaria mosquito vector. *Nature Microbiology* volume 6, 1575–1582
- Ahmed, M. Z., Breinholt, J. W. et Kawahara, A. Y. (2016). Evidence for common horizontal transmission of Wolbachia among butterflies and moths. *BMC Evolutionary Biology* 16, 118.
- Bouattour, A. (2002). Clé dichotomique et identification de tiques (Acari: Ixodidae) parasites du bétail au Maghreb. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 43, 43-50.
- Bouattour, A., Dazrghouth, M. A., et Daoud, A. (2019). Ticks and tick-borne diseases in North Africa. *Veterinary Parasitology*, 267, 26–39.
- Bowman, A. S., et Sauer, J. R. (2004). Tick salivary glands: function, physiology and future. *Parasitology*, 129(S1), S67-S81.
- Camicas J.-L., Morel P.C. (1977). Position systématique et classification des tiques (Acarida: Ixodida). *Acarologia* 18(3), 410-420.

- Cavé, H., Acquaviva, C., Bièche, I., Brault, D., De Fraipont, F., Fina, F., Loric, S., Maisonneuve, L., Namour, F., et Tuffery, S. (2003). La RT-PCR en diagnostic clinique. *Annales de Biologie Clinique*, 61(6), 635-644.
- Chalfie, M., Tu, Y., Euskirchen, G., Ward, W. W., et Prasher, D. C. (1994). Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science*, 263(5148), 802–805.
- Chao, C. C., Belinskaya, T., Zhang, Z., et Ching, W. M. (2020). RNA stability in tick samples: best practices for arbovirus detection. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 11(3), 101402.
- Charrel, R. N., Attoui, H., Butenko, A. M., et al. (2017). Tick-borne virus diseases of human interest in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 23(7), 472–482.
- Cheng, Q., Ruel, T. D., Zhou, W., Moloo, S. K., Majiwa, P., O’Neill, S. L., et Aksoy, S. (2000). Tissue distribution and prevalence of Wolbachia infections in tsetse flies. *Medical and Veterinary Entomology*, 14(1), 44–50.
- Crossley, B.M., Bai, J., Glaser, A., Maes, R., Porter, E., Killian, M.L., Clement, T. and Toohey-Kurth, K. (2020) Guidelines for Sanger Sequencing and Molecular Assay Monitoring. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 32, 767-775.
- Dantas-Torres, F. (2008). The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. *Veterinary Parasitology*, 152(3–4), 173–185.
- Dantas-Torres, F. (2010). Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites et Vectors*, article 3, n : 26.
- Dantas-Torres, F., Chomel, B. B., et Otranto, D. (2013). Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends in Parasitology*, 28(10), 437–446.
- de la Fuente, J., Estrada-Peña, A., Venzal, J. M., Kocan, K. M., et Sonenshine, D. E. (2008). Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Frontiers in Bioscience*, 13, 6938-6946.
- Degui, D., et al. (2024). Seroprevalence of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in camels from Algeria. *Viruses*, 16(2), 240.
- Deubel, V., et Georges-Courbot, M.-C. (2002). Les arbovirus et les virus épizootiques. *Comptes Rendus Biologies*, 325(8), 855–861.

- Thinhinane DJOUAHER, Soumeya CHAHED, Assia BENELDJOUZI, Naouel EDDAIKRA et Karima BRAHMI (2023). Diversity of hard tick (Acari: Ixodidae) infesting small ruminants in some breeding farms in Tizi-Ouzou area (Northern Algeria). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. Volume 92 Numéro 1
- Duron, O., Binetruy, F., Noël, V., Cremaschi, J., McCoy, K. D., Arnathau, C., et Vavre, F. (2017). Evolutionary changes in symbiont community structure in ticks. *Molecular Ecology*, 26(11), 2905–2921.
- Duron, O., Bouchon, D., Boutin, S., Bellamy, L., Zhou, L., Engelstädter, J., et Hurst, G. D. (2017). The diversity of reproductive symbionts among arthropods: *Wolbachia* and beyond. *Nature Reviews Microbiology*, 15(4), 234–246.
- Duron S, Panjo H, Bohet A, Bigaillon C, Sicard S, Bajos N, Meynard J, Mérens A, Moreau C (2018). *Wolbachia* and the Control of Mosquito-Borne Diseases: Status and Perspectives. *Annual Review of Entomology*, 63, 81-99.
- Ergönül, O. (2006). Crimean-Congo haemorrhagic fever. *The Lancet Infectious Diseases*, 6(4), 203–214.
- Estrada-Pena. A (2015) – Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 34 (1) : 53-65.
- Estrada-Peña, A., Bouattour, A., Camicas, J. L., et Walker, A. R. (2013). Research on the ecology of ticks and tick-borne pathogens: methodological principles and caveats. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 4(1-2), 71-81
- Estrada-Peña, A., Bouattour, A., Camicas, J. L., et Walker, A. R. (2013). Ticks of domestic animals in the Mediterranean region: a guide to identification of species. *Veterinary Parasitology*, 193(1–3), 13–21.
- Estrada-Peña, A., et de la Fuente, J. (2014). The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. *Antiviral Research*, 108, 104–128.
- Estrada-Peña, A., et Venzal, J. M. (2007). Climate niches of tick species in the Mediterranean region: modeling of occurrence data, distributional constraints, and climate change effects. *Journal of Medical Entomology*, 44(5), 733–744.
- FAO (2020). Livestock tick control. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 7P.

- Ferhouh, H., et Djennadi, M. (2015). Inventaire comparatif des tiques de la région de Bouzeguène (2014–2015) et détection moléculaire des *Rickettsia*. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO). 51P.
- Florence. (2015). "Chaleur et humidité - les tiques en Lorraine, leur mode de vie, les maladies." NancyBuzz.
- Flushin, M. A., Dobler, G., et Pfeffer, M. (2010). Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical aspects, and prevention. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 160(23–24), 405–410.
- Flint, S. J., Enquist, L. W., Racaniello, V. R., et Skalka, A. M. (2015). Principles of Virology (4th ed.) ASM Press. vol 2. 600P.
- Fortier, JF. 2020. *Wolbachia* . Aquaportail, 5ap.
- Garibyan, L., et Avashia, N. (2013). "Applications of the Polymerase Chain Reaction (PCR) in Medical Diagnostics." *Biotechniques*, 54(3), 141-146.
- Ghosh, S., Azhahianambi, P., et de la Fuente, J. (2007). Control of ticks of ruminants, with special emphasis on livestock farming systems in India: Present and future possibilities for integrated control—a review. *Experimental and Applied Acarology*, 40(1), 49-66.
- Gifex, 2025. Carte vierge de la Wilaya de Tizi-Ouzou. 1P.
- Gould, E.A., et Higgs, S. (2009). Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(2), 109–121.
- Gray, J. S. (1991). The development and seasonal activity of *Ixodes ricinus* (L.) (Acari: Ixodidae) in Ireland. *Bulletin of Entomological Research*, 81(3), 361–370.
- Gray, J. S. (1998). The ecology of ticks transmitting Lyme borreliosis. *Experimental et Applied Acarology*, 22(5), 249–258.
- Gray, J. S., et Kahl, O. (2022). Ticks: Biology, ecology and diseases. In M. J. Boulanger (Ed.), *Vector biology and control* (pp. 45–70).
- Gray, J., Dautel, H., Estrada-Peña, A., Kahl, O., et Lindgren, E. (2013). Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2013, 1-12.

- Guglielmone, A. A., Robbins, R. G., Apanaskevich, D. A., Petney, T. N., Estrada-Peña, A., et Horak, I. G. (2010). The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: A list of valid species names. *Zootaxa*, 2528, 1–28.
- Guidoum, K. A., et al. (2023). Seroepidemiological survey of Crimean–Congo hemorrhagic fever virus in Algerian cattle. *One Health*, 16, 100535.
- Hall, T.A. (1999). "Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/nt." *Nucleic acids symposium series*, 41, 95– 98.
- Hancock, P. A., Sinkins, S. P., et Godfray, H. C. J. (2011). Population dynamic models of the spread of *Wolbachia*. *The American Naturalist*, 177(3), 323-333.
- Hein, I., Lehner, A., Rieck, P., Klein, K. U., Brandl, E., et Wagner, M. (2001). Comparison of different approaches to quantify inhibition in real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(8), 3741–3751.
- Hertig, M. (1936). The Rickettsia, *Wolbachia pipientis* (gen. et sp. n.) and associated inclusions of the mosquito, *Culex pipiens*. *Parasitology*, 28, 453–486.
- Hertig, M., et; Wolbach, S.B. (1924). Studies on Rickettsia-like microorganisms in insects. *Journal of Medical Research*, 44(3), 329–374.
- Hoffmann, A. A., Montgomery, B. L., Popovici, J., Iturbe-Ormaetxe, I., Johnson, P. H., Muzzi, F, et O’Neill, S. L. (2011). Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission. *Nature*, 476(7361), 454–457.
- Hoogstraal, H. (1985). Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Advances in Parasitology*, 24, 135–238.
- Hosokawa, T., et al. (2018). Vertical Transmission of *Wolbachia* Is Associated With Host Vitellogenin in *Laodelphax striatellus*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2016.
- Hussain, S., et al. (2022). The symbiotic continuum within ticks: opportunities for manipulation. *Frontiers in Microbiology*, 13, 821.
- Ishmael, N., et Hossain, M. (2008). "Molecular detection of pathogens in the environment: a review." *environmental science and technology*, 42(17), 6462-6468.
- Jongejans, F., et Uilenberg, G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitology*, 129(S1), S3–S14.

- Jonsson, N. N. (2006). The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Veterinary Parasitology*, 137(1-2), 1-10.
- Jonsson, N. N., Bock, R. E., et Jorgensen, W. K. (2008). Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensities of tick infestation. *Veterinary Parasitology*, 155(1-2), 1-9.
- Peter M. Howley, David M. Knipe - Fields Virology, 7th Ed., Volume 1 - Emerging Viruses-Wolters Kluwer (2021) – Compressed. 1137 P.
- Koch, C. L. (1844). Systematische Übersicht über die Ordnung der Zecken. Nürnberg: F. Enke. Vol 10 217P.
- Kuno, G., et Chang, G.J. (2005). Biological transmission of arboviruses: re-examining vector competence. *Annual Review of Entomology*, 50, 473–503.
- Labuda, M., et Nuttall, P. A. (2004). Tick-borne viruses. *Parasitology*, 129(S1), S221–S245.
- Labuda, M., et Randolph, S.E. (1999). Survival strategy of tick-borne encephalitis virus: role of co-feeding ticks. *Acta Virologica*, 43(4), 235–238.
- Lamoril, J., Ameziane, n., Deybach, J., Bouizegarène, P., et Bogard, M. (2008). Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie. Immuno-analyse et biologie spécialisée, 23(5), 260-279.
- Lejal, E. et al. (2012). Tick-Borne Pathogens and Symbionts in Ticks: A *One Health Perspective*. *PLoS ONE*, PMC3266912.
- Leta, S., Beyene, T. J., De Clercq, E. M., et al. (2018). Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *International Journal of Infectious Diseases*, 67, 25–35.
- Lejal, E. et al. (2012). Tick-Borne Pathogens and Symbionts in Ticks: A One Health Perspective. .
- Lew-Tabor, A. E., et Rodriguez Valle, M. (2016). A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against ticks and tick borne diseases. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 7(4), 573-585.
- Lindenbach, B.D., et Rice, C.M. (2003). Molecular biology of flaviviruses. *Advances in Virus Research*, 59, 23–61.

- Lindquist, L., et Vapalahti, O. (2008). Tick-borne encephalitis. *The Lancet*, 371(9627), 1861–1871.
- Macherey-Nagel GmbH et Co. KG. (2021). NucleoSpin RNA: User Manual. Düren, Germany. 47 P.
- Mackay, I. M., Arden, K. E., et Nitsche, A., 2002, real time PCR in virology. *Nucleic Acids Research*, 30(6), 1292-1305.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., et Stahl, D. A. (2019). *Brock Biology of Microorganisms* (16th ed.). 113P.
- Mandl, C.W. (2005). Steps of the tick-borne encephalitis virus replication cycle that affect neuropathogenesis. *Virus Research*, 111(2), 161–174.
- Manoj, R. R. S., Latrofa, M. S., Epis, S., et Otranto, D. (2021). Wolbachia: endosymbiont of onchocercid nematodes and their vectors. *Parasites; Vectors*, 14:245.
- McCoy, K. D. et Boulanger, N. (2015). Piroplasmosis and tick-borne viral diseases: overview and the importance of integrated control approaches. *Veterinary Research*, 46(1), 1-14.
- McCoy, K. D., et Boulanger, N. (2015). Tiques et maladies à tiques : écologie, génétique et contrôle. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 108(5), 307–309.
- Messina, J.P., Brady, O.J., Golding, N., Kraemer, M.U., Wint, G.R., et al. (2019). The current and future global distribution and population at risk of dengue. *Nature Microbiology*, 4(9), 1508–1515.
- Mizutani, T., Saijo, M., et Kurane, I. (2020). Molecular biology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Journal of General Virology*, 101(5), 437–450.
- Monath, T.P., et Vasconcelos, P.F.C. (2015). Yellow fever. *Journal of Clinical Virology*, 64, 160–173.
- Moreira, L. A., Iturbe-Ormaetxe, I., Jeffery, J. A., Lu, G., Pyke, A. T., Hedges, L. M., et O'Neill, S. L. (2009). A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, *Chikungunya*, and *Plasmodium*. *Cell*, 139(7), 1268–1278.
- Mukhopadhyay, S., Kuhn, R.J., et Rossmann, M.G. (2005). A structural perspective of the flavivirus life cycle. *Nature Reviews Microbiology*, 3(1), 13–22.
- Mullis, K.B., et Faloona, F. A. (1987). "Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction." *Methods in Enzymology*, 155, 335-350.

- Munazza Aslam, Rao Zahid Abbas et Abdullah Alsayeqh et al. (2023). Distribution pattern of Crimean–Congo Hemorrhagic Fever in Asia and the Middle East. *Frontiers in Public Health*, 11, 12 P.
- Muzammil, H. M., Ahmad, H., Hanif, A., et Ahsan, T. (2024). Crimean-Congo hemorrhagic fever: An updated review of epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and preventive strategies. *International Journal of Infectious Diseases*, 141, 50–59.
- Parola, P. Et Raoult, D. (2001). Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases*, 32(6), 897-928.
- Pérez-Eid C. (2007). Les tiques: identification, biologie, importance médicale et vétérinaire. Paris, France, Éd. Tec et Doc (Lavoisier), 314P.
- Poinso, D. (2012). *Transferts horizontaux des Wolbachia* chez les isopodes terrestres. Thèse de doctorat, Université de Poitiers. 273 P.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., et Klein, D. A. (2017). Microbiology (10th ed.). Mcgraw-Hill Education. 1014 P.
- QIAGEN. (2020). QIA Viral RNA Mini Handbook (5th ed.). Germantown, MD, USA. 52 P.
- Rajput, Z. I., Hu, S., Chen, W., Arijo, A. G., et Xiao, C. (2006). Importance of ticks and their chemical and immunological control in livestock. *Journal of Zhejiang University Science B*, 7(11), 912–921.
- Randolph, S. E. (2004). Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. *Parasitology*, 129(S1), S37–S65.
- Rey, F.A., Heinz, F.X., Mandl, C., Kunz, C., et Harrison, S.C. (1995). The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution. *Nature*, 375(6529), 291–298.
- Rizzoli, A., Hauffe, H. C., Carpi, G., Vourc'h, G. I., Neteler, M., et Rosa, R. (2014). *Lyme borreliosis* in Europe. *Euro-surveillance*, 16(27), 19906
- Rizzoli, A., Tagliapietra, V., Cagnacci, F., et Rosà, R. (2014). Epidemiology of tick-borne encephalitis in Europe and beyond. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 5(3), 252–262.
- Roehrig JT. 2013 West Nile virus in the United States- a historical perspective. *Viruses*; 5(12): 3088-108.

- Shoemaker, D.D., et al. (2002). Phylogenetic analysis of *Wolbachia* strains infecting terrestrial crustaceans. *Heredity*, 88(4), 295-301.
- Siguerdjidjene, S., et Seridj, T. (2024). Détection et caractérisation des arbovirus à partir des tiques de la région de Tizi-Ouzou (Mekla et Bouzeguène). Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO). . 63 P
- Smith, T., et Kilbourne, F. L. (1893). Investigations into the nature, causation, and prevention of Texas or southern cattle fever. *United States Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry Bulletin*, 1, 1–301.
- Sonenshine, D. E. (1991). *Biology of ticks*. Vol. 1. Oxford University Press.
- Sonenshine, D. E., et Roe, R. M. (2014). *Biology of ticks*. Vol. 2. Oxford University Press.
- Spengler, J. R., Bergeron, É., et Spiropoulou, C. F. (2016). Crimean-Congo hemorrhagic fever and expansion from endemic regions. *Current Opinion in Virology*, 16, 143–150.
- Stouthamer, R., Breeuwer, J. A. J., et Hurst, G. D. D. (1999). *Wolbachia pipientis*: microbial manipulator of arthropod reproduction. *Annual Review of Microbiology*, 53, 71–102.
- Süss, J. (2011). Tick-borne encephalitis 2010: epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia an overview. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2(1), 2–15.
- Swanson, S. J., Neitzel, D., Reed, K. D., et Belongia, E. A. (2006). Coinfections acquired from Ixodes ticks. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(4), 708–727.
- Tamura, K., Stecher, G., et Kumar, S. (2021). "MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11." *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027.
- Temani, M., Hachid, A., Garni, R., Guessoum, A. A., Benaissa, M. H., Khardine, A. F., Kimouche, A., Hakem, A., Bitam, I., Benallal, K. E., Lafri, I. 2023. "Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Africa 1 Lineage in *Hyalomma dromedarii* Ticks, Algeria," *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 31, No. 8: 1673-1676.
- Thomas, C. M. et Nielsen, K. M. (2005). Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 711–721.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., et Case, C. L. (2020). *Microbiology: An Introduction* (13th ed.).

- Tutoweb. (2021). "Les techniques de séquençage de l'ADN." *Tutoweb*. Consulté le 11 septembre 2024.
- Vassallo, M., Pérez-Eid, C. (2002). Comparative behavior and questing strategies of *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks (Acari: Ixodidae). *Experimental et Applied Acarology*, 27(1), 29-37.
- Velay, A., Argemi, X., Wendling, M.-J., Martinot, M., Hansmann, Y., et Fafi-Kremer, S. (2019). "l'encéphalite à tique en france : qu'en savons-nous aujourd'hui ?" *Revue francophone des laboratoires*, 2019(513), 34-43.
- Walker, A. R., Bouattour, A., Camicas, J. L., Estrada-Peña, A., Horak, I. G., Latif, A. A., Pegram, R. G., et Preston, P. M. (2014). *Ticks of Domestic Animals in Africa: A Guide to Identification of Species*. Edinburgh: Bioscience Reports. . 28P.
- Walter, M., Brugger, K., et Rubel, F. (2016). *The ecological niche of Dermacentor marginatus in Germany*. *Parasitology Research*, 115(6), 2165-2174.
- Weaver, S.C., et Reisen, W.K. (2010). Present and future arboviral threats. *Antiviral Research*, 85(2), 328–345.
- Weaver, S.C., et Barrett, A.D. (2004). Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. *Nature Reviews Microbiology*, 2(10), 789–801.
- Weidmann, M., Sanchez-Seco, M. P., Sall, A. A., Ly, P. O., Thiongane, Y., Lô, M. M., et Hufert, F. T. (2003). Rapid detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(12), 5456–5460.
- Werren, J. H., Baldo, L., et; Clark, M. E. (2008). Wolbachia: masters of manipulation. *Annual Review of Microbiology*, 62, 451-476.
- White, P. M., Pietri, J. E., Debec, A., Russell, S., Patel, B., et Sullivan, W. (2017). Mechanisms of horizontal cell-to-cell transfer of *Wolbachia* spp. in *Drosophila melanogaster*. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(9), e03425-16.
- Whitehouse, C. A. (2004). Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 64(3), 145–160.
- Wilhelmsson, P., Jaenson, T. G. T., Olsen, B., Waldenström, J., et Lindgren, P-E. (2020). Migratory birds as disseminators of ticks and the tick-borne pathogens *Borrelia* bacteria and tick-borne encephalitis (TBE) virus: a seasonal study at Ottenby Bird Observatory in south-eastern Sweden. *Parasites et Vectors*, 13:607.

- WHO (2020). Crimean-Congo hemorrhagic fever - Key facts. 9P.
- World Health Organization (WHO). (2020). Tick-borne encephalitis. In WHO Fact Sheets. 7P.
- Zug, R., et Hammerstein, P. (2012). Still a host of hosts for *Wolbachia*: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected. *PLoS ONE*, 7(6), 3P.

Annexe 1 - Les divers laboratoire (Figure 1, 2,3).

Laboratoire P1



Figure 1 - Les caractéristique et l'organisation de laboratoire P1

Laboratoire P2

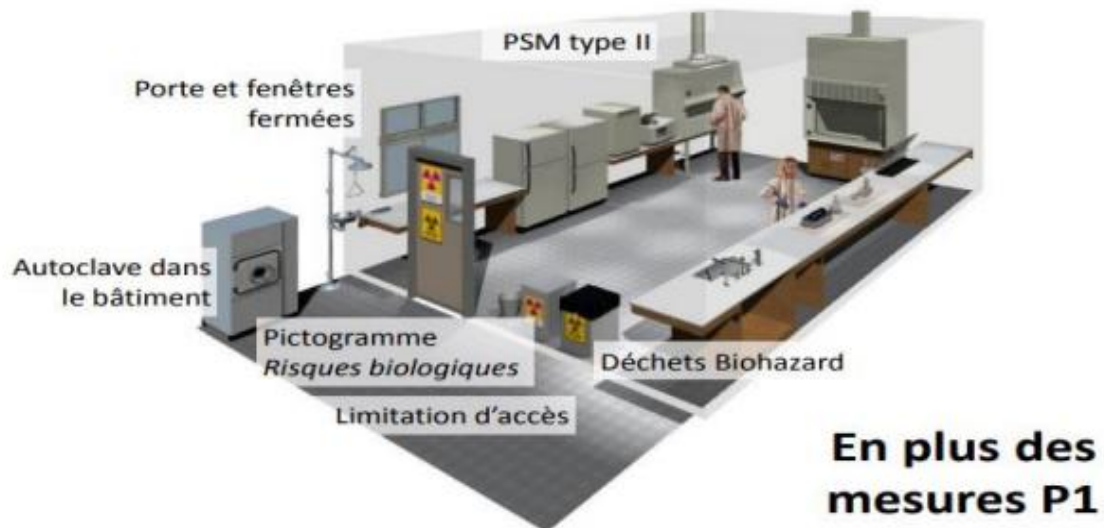


Figure 2 - Les caractéristiques et l'organisation de laboratoire P2

Laboratoire P3



Laboratoire P3

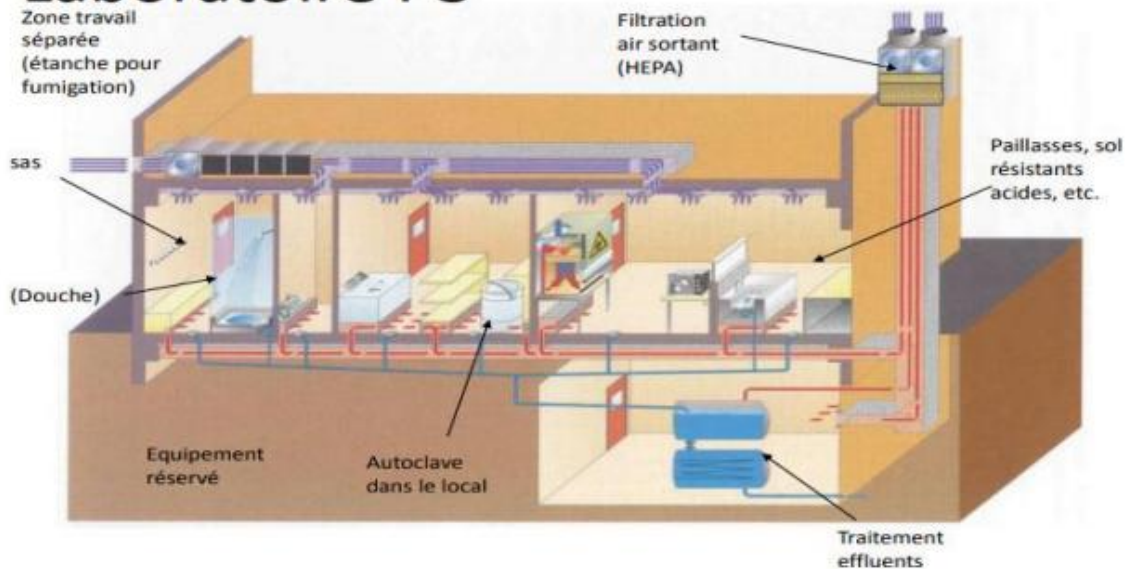


Figure 3 - Les caractéristiques et l'organisation de laboratoire P3

Annexe 2 - caractéristiques des tiques dans chaque tube et leurs régions de collecte (tableau 1).

Tableau 1 - Caractéristiques des tiques dans chaque tube et leurs régions de collecte.

Échantillon	Observation	Région
AZ1	3 mèles	<i>Azazga libre</i> (Technique de drapeau)
AZ2	3 mèles	
AZ3	3 mèles	
AZ4	3 mèles	
AZ5	3 mèles	

AZ6	1 femelle adulte		
AZ7	3 femelles		
AZ8	3 femelles		
AZ9	3 femelles		
AZ10	3 femelles		
AZ 11	3 femelles (Qiagen)		
AZ 12	3 femelles (Qiagen)		
AZ 13	3 femelles (Qiagen)		
AZ 14	3 femelles (Qiagen)		
AZ 15	3 femelles (Qiagen)		
AZ 16	2 femelles		
AZ 17	1 femelle à séquencer		
AZ 18			
AZ 19	3 femelles		
AZ 20			
AZ 21	4 mâles		
AZ 22			
AZ 23			
B1	femelle adulte		<i>Bouzguène (Vaches)</i>
B2	femelle adulte		
B3	Femelle adulte		
B4	2 femelles		
B5	2 mâles		
B6	2 femelles		
B7	1 femelles		
B8	3 mâles		
B9	Femelle (<i>Ixodes ricinus</i>)		

Annexe 3 - compositions des milieux utilisés

- Ampicilline “ampiline®” 1g/5ml : (SAIDAL,N°Lot :088 /1, fab :02/15, exp :11/17)

Préparation d'une solution de travail à 100 ug/ml avec milieu L-15+10ù SNN/Faire une dilution au 1/2000éme : 25 ul Ampicilline 200mg/ml +L-15 Qsp 50ml

- **Gentamycine “ Gentaxyn” 40mg/2ml :** (Frater-Razes,N°Lot : 005, fab :01/14, exp :01/16)

Préparation d'une solution de travail a50 ug/ml avec milieu L-15+10ùSNN : Faire une dilution au 1/400éme : 125 ul G éntamycine 20 mg/ml ++L-15 Qsp 50ml

- **AmphotércineB250 ug/ml :** (GIBCO ?N°Lot :158660,fab :01/14,exp :10/15)

Préparation d'une solution de travailà2.5ug/ml avec milieuL-15+10ùSNN : faire une dilution au 1/100éme :250ul Amphotércine B250ug/ml+L-15Qsp50ml

Annexe 4 - Les compositions de tampon TBE et leurs rôle.

- Tris (hydroxyméthyl) aminométhane : utilisé comme tampon pour maintenir le pH de la solution, généralement à 8,0 à 8,3.
- Acide borique : contribue également à la capacité tampon et aide à la migration des acidesnucléiques.
- EDTA (acide éthylènediaminetétraacétique) : un agent chélateur qui se lie aux ions métalliques, empêchant leur interaction avec les acides nucléiques, ce qui est crucial pour éviter la dégradation de l'ADN et de l'ARN.

Annexe 5 - les matériaux biologiques utilisés.

Tableau 2 - les matériaux biologiques utilisés.

Materiel non biologique
Micropipettes
Ambouts a filtre
Eppendof
Vortex
Spiner
Centrifugeuse
Psm
Thermocycleur
Colecteur
Colone
Autoclave

Réfrigérateur
Congélateur
loupe binoculaire
Blouse blanche
Tubes à essai
Etiquettes
Marqueur
pince souple
Mivroonde
Plateau de gal
Cuve d'electrophorèse
Séquenceur
Paraffine
Gants
Matériel informatique
Transilluminateur UV
Hotte à UV
Micro-centrifugeuse
bloc réfrigérant
Kits d'extraction d'ADN/ARN
Réactifs de PCR
Plaques et tubes PCR
Portoirs
Boite
Flacon

Résume :

Une étude sur la détection et caractérisation des arbovirus : virus de l'Encéphalite à tiques (TBEV), virus de la fièvre hémorragique du Crimée-Congo (CCHF) et de la bactérie endosymbiote *Wolbachia* à été menée dans deux zones de la région de Tizi-Ouzou, à savoir Bouzguène et Azazga. Deux méthodes de collecte de tiques ont été utilisés : la méthode de collecte directe sur les bovins qu'a permis de collecter 13 tiques, tandis que la méthode du drap a permis de collecter 53 tiques. L'identification moléculaire a permis de détecter 4 espèces : *Ixodes Ricinus*, *Hyalomma marginatum*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor marginatus* appartenant à quatre genres de tiques : *Ixodes*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus* et *Dermacentor*. Cependant les analyses RT-PCR n'ont pas révélé la présence des deux virus recherchés de l'Encéphalite à tiques (TBEV) et le virus de la fièvre hémorragique du Crimée-Congo (CCHF). Pour la bactérie *Wolbachia* l'analyse PCR standard a révélé la présence de cette endosymbiote dans plusieurs échantillons, principalement chez *Hyalomma marginatum* et *Rhipicephalus sanguineus*.

Abstract :

A study on the detection and characterization of arboviruses — Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV), Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus (CCHFV) — and the endosymbiotic bacterium *Wolbachia* was conducted in two areas of the Tizi-Ouzou region, namely Bouzguène and Azazga. Two tick collection methods were employed: the direct collection method on cattle, which allowed the recovery of 13 ticks, and the flagging method, which yielded 53 ticks. Molecular identification revealed four species: *Ixodes ricinus*, *Hyalomma marginatum*, *Rhipicephalus sanguineus*, and *Dermacentor marginatus*, belonging to four genera: *Ixodes*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, and *Dermacentor*. However, RT-PCR analyses did not detect the presence of the two targeted viruses, TBEV and CCHFV. In contrast, standard PCR analysis revealed the presence of the endosymbiont *Wolbachia* in several samples, mainly in *Hyalomma marginatum* and *Rhipicephalus sanguineus*.

ملخص

أجريت دراسة حول الكشف عن الفيروسات المنقولة بالمفصليات وتحديد خصائصها، وهي: فيروس التهاب الدماغ المنقول ، وبكتيريا الوبخية المتعايشة داخلياً، في محطتين بمنطقة (CCHF) ، وفيروس حمى القرم والكونغو النزفية (TBEV) بالقراد تيزي وزو، هما بوزگان وعزازقة. استخدمت طريقتان لجمع القراد: الجمع المباشر من الماشية، والذي أتاح جمع القراد، ، *Ixodes Ricinus* و *Hyalomma marginatum* ، وطريقة العلم. أتاح التحديد الجزيئي الكشف عن أربعة أنواع ، *Ixodes* ، تنتمي إلى أربعة أجناس من القراد *Dermacentor marginatus* ، و *Rhipicephalus sanguineus* ، مع ذلك، لم تكشف تحليلات تفاعل البوليميراز المتسلسل العكسي. *Dermacentor* ، *Rhipicephalus* ، و *Hyalomma* و فيروس حمى القرم الكونغولية (TBEV) عن وجود الفيروسين المطلوبين، وهما التهاب الدماغ المنقول بالقراد (RT-PCR) أما بالنسبة لبكتيريا الوبخية، فقد كشف تحليل تفاعل البوليميراز المتسلسل القياسي عن وجود هذا الكائن (CCHF). النزفية وريبيسيفالوس سانجوينيوس (*Hyalomma marginatum*) المتعايش في عدة عينات، لا سيما في بكتيريا هيلوما مارجيناتوم (*Rhipicephalus sanguineus*)



Introduction



Chapitre I

Synthèse Bibliographique



Chapitre II
Matériel et méthodes



Chapitre III

Résultats



Conclusion



**Références
bibliographiques**



Chapitre IV
Discussion