

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ANIMALE ET VEGETALE



Mémoire

En vue de l'obtention du titre de

Master



Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Parasitologie appliquée aux organismes animaux et végétaux

Thème

Inventaire comparatif des tiques de la région de Bouzeguène, et la détection moléculaire des *Rickettsia* (bactéries à développement intracellulaire obligatoire).

Présenté par :

FERHOUH Hanafi et *DJENNADI Mahdi*

Devant le jury composé de :

Mme SADOUDI DJ.	Professeur	U M M T O	Présidente
Mme BRAHMI K.	Maître de Conférences A	U M M T O	Promotrice
Mr KERNIF T.	Maître de recherche	Institut Pasteur Alger	Co-promoteur
Mme LEKMACHE Y.	Maître assistante A	U M M T O	Examinatrice
Mme ABDELLAOUI K.	Maître assistante A	U M M T O	Examinatrice
Mr BRAHAMI M.	Doctorant	U M M T O	Examineur

Année universitaire : 2014/2015

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donnés la force pour réaliser ce mémoire.

Nos sincères remerciements vont particulièrement à notre promotrice le Dr BRAHMI Karima, sa disponibilité et sa confiance nous ont permis de trouvé tout le soutien nécessaire pour mener à terme ce travail. Pour toute la confiance et la patience dont il a fait preuve à notre égard, qu'elle trouve ici l'expression de notre parfaite gratitude et de notre sincère reconnaissance.

Nos remerciements s'adressent également à notre co-promoteur le Dr KERNIF Tahar, maitre de recherche à l'Institut Pasteur d'Alger qui nous a beaucoup soutenus durant la réalisation de ce mémoire, au pré de lui nous avons trouvé compréhension, conseils et coopération, que vous voyez dans cet aboutissement le témoignage de notre gratitude.

Nous tenons à remercier Mr HARRAT Z, chef de service d'éco épidémiologie parasitaire et génétique des populations à l'institut pasteur d'Algérie, pour nous avoir accueillis au sein de son laboratoire.

Nous remercions également Mme NAKHILI Sofi, Mme BENELEDJOUZI Assia et Mr EL-OUZMI, les conseils et recommandations qui nous ont été d'un grand apport.

Nous exprimant aussi nos sincères remerciements aux membres de jury :

Mme SADOUDI Djamila qui nous a fait l'honneur de présider notre soutenance

Mme LEKMACHE YASMINE, Mme ABDELLAOUI Karima et Mr BRAHAMI Mohand d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions également Mme ALI AHMED Samira pour son aide à la réalisation des analyses statistiques.

Nous tenons à remercier Dr AMELLAL RABAH qui nous a aidé à réaliser les diverses récoltes sur le terrain.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À la mémoire de mon père, tu es toujours dans mon cœur et tu le reste à jamais.

À ma chère mère, que je ne saurai j'aimais remercier suffisamment.

À mon frère et mes sœurs.

À mes beaux-frères.

À mes neveux et nièces.

À toute la famille FERHOUH.

À tous mes ami(e)s.

À mon binôme mahdi.

HANAFI.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*À mes chers parents, pour tous ce que vous m'avez offerts
d'amour de sacrifices depuis ma naissance.*

À toutes ma famille.

À tous mes ami(e)s.

À mon binôme Hanafi.

À tous ceux qui me sont chers .

MAHDI

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : Températures moyennes, mensuelles, minimales et maximales corrigées de la région de Bouzeguène pour une période allant de 2000 à 2014.....	15
Tableau 2 : Précipitations moyenne et mensuelles de la région de Bouzeguene, durant la période de (2000-2014).....	16
Tableau 3 : Composant du mix (Mix Quantitect) de la PCR en temps réel	29
Tableau 4 : Sonde et amorce utilisé en PCR en temps réel	29
Tableau 5 : Liste des espèces inventoriées dans la région de Bouzeguene durant l'année 2014 et l'année 2015.....	33
Tableau 6 : Richesse totale et moyenne des espèces des tiques capturées durant l'année 2014 et 2015 dans la région de Bouzeguene.....	35
Tableau 7 : Fréquences centésimales de différentes espèces des tiques récoltées dans la région de Bouzeguène avec la méthode de capture à la main durant l'année 2014 et l'année 2015.....	36
Tableau 8 : Résultats des indices parasitaires des différentes espèces de tiques récoltées dans la région de Bouzeguène durant l'année 2015.....	38
Tableau 9 : Tableau croisé/ test du Khi-2 (x 2) en fonction des effectifs des espèces durant deux années (l'année 2014 et l'année 2015).....	38
Tableau 10 : Liste des échantillons pris en considération lors de la PCR en temps réel.....	39

Liste des figures

Liste des figures

Figure1a : tiques dures	4
Figure1b : tiques moles	4
Figure1c : Nuttalliellidae	4
Figure2 : Classification des <i>Metastigmata (Ixodida)</i>	5
Figure3 : cycle de vie des tiques	7
Figure4 : Distribution géographique de la fièvre boutonneuse dans le Nord de l'Afrique.....	10
Figure5 : situation géographique de la région d'étude dans la wilaya de Tizi-Ouzou	13
Figure6 : Courbes d'accroissement de la pluie avec l'altitude	17
Figure7 : Diagramme Ombrothermique de la région de Bouzeguène durant la période de 15 ans (2000-2014)	18
Figure8 : Climagramme pluviométrique d'Emberger de la région de Bouzeguene	20
Figure9 : Etables à la région de Bouzeguène (originale)	22
Figure10 : méthode de la récolte des tiques (originale).....	23
Figure11 : Clé d'identification des tiques	25
Figure12 : Principales étapes d'extraction d'ADN	27
Figure13 : Préparation du mix	28
Figure14 : Protocole expérimental de la PCR en temps réel	31
Figure15 : Les espèces de tiques recensées dans la région d'étude durant l'année 2015 (Photos originales).....	34
Figure16 : Abondance relative des tiques dans la région de bouzeguene durant l'année 2015.....	37
Figure17 : Abondance relative des tiques dans la région de bouzeguene durant l'année 2014.....	37

Liste des figures

Figure18 : Graphe de résultats de la détection de la bactérie <i>Rickettsia</i> par PCR en temps réel	40
--	-----------

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ADN : Acide **D**ésoxyribo Nucléique

AR : Abondance **R**elative

ARN : Acide **R**ibo Nucléique

B : *Boophilus*

C.R.E.A.D : Centre de **R**echerches en **E**conomie Appliquée pour le **D**éveloppement

H : *Hyalomma*

H. d : *Hyalomma detritum*

H. m : *Hyalomma marginatum*

I : *Ixodes*

m : Mètre

ml : Millilitre

mm : Millimètre

mn : Minute

nmol : Nano mol

pmol : Pico mol

R : *Rickettsia*

Rh : *Rhipicephalus*

% : Pourcentage

µg : Microgramme

µM : Micro molaire

µl : Microlitre

°C : degré Celsius

Sommaire

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....	1
Chapitre I : Partie bibliographique.....	3
I.1. - Généralité sur les tiques	3
I.2. - Systématique	5
I.3. – Morphologie	6
I.3.1.–Morphologie externe	6
I.3.2. - Morphologie interne	6
I.4. - Cycle de vie des tiques	6
I.4.1. – Œuf	7
I.4.2. - La larve de la tique.....	7
I.4.3. – Le stade de nymphe	8
I.4.4. – Le stade adulte	8
I.5. – Les tiques, vecteurs virulent de maladies.....	8
I.5.1. - Les rickettsioses	9
I.5.1.1. - Distribution géographique des Rickettsioses	9
I.5.1.2. - Rickettsioses boutonneuses	9
I.5.1.3. - La fièvre boutonneuse méditerranéenne (<i>Rickettsia conori</i>)	10
I.5.2. - Autres maladies	11
Chapitre II - Présentation de la région d'étude.....	12
II.1. – Situation géographique de la région de Bouzeguene	12
II.2. - Facteur écologique	12
II.2.1. - Facteurs abiotiques	12
II.2.1.1. - Facteurs édaphiques de la région de Bouzeguene	12
II.2.1.2. - Caractéristiques hydro-géographiques de la région de Bouzeguene.....	14
II.2.1.3. - Facteurs climatiques de la région de Bouzeguene	14
II.2.1.3.1. – Etude des températures.....	14

Sommaire

II.2.1.3.2. – Pluviométrie	15
II.2.1.3.3. - Humidité relative	16
II.2.1.3.4. - Synthèse climatique	17
II.2.1.3.4.1. - Diagramme Ombrothermique de Bagnols et Gausсен.....	17
II.2.1.3.4.2. - Quotient pluviométrique et Climagramme d'Emberger.....	19
II.2.2. -Facteurs biotiques	19
II.2.2.1. - Données bibliographiques sur la faune de la région de Bouzeguène	19
II.2.2.2. - Données bibliographiques sur la flore de la région de Bouzeguène	21
Chapitre III – Matériel et méthodes.....	22
III.1. – Choix et description de la station d'étude	22
III.2. –Méthodologie de travail	23
III.2.1. –Méthode de travail sur le terrain	23
III.2.2. - Méthodes utilisées au laboratoire	23
III.2.2.1. - Identification des tiques	23
III.2.2.1.1. - Méthodes d'identification	23
III.2.2.1.1.2. - Base de l'identification	24
III.2.2.2. -Diagnostic moléculaire par la PCR (polymérase chaîne réaction).....	26
III.2.2.2.1. - Extraction d'ADN	26
III.2.2.2.2. -Détection de <i>Rickettsia</i> spp par la PCR en temps réel.....	26
III.2.2.2.2.1. – Principe	26
III.2.2.2.2.2. - Préparation du mix	26
III.2.2.2.3.- Amplification par SmartCycler	29
III.3. – Méthodes d'exploitation des résultats	30
III.3.1. –Richesse spécifique (ou totale)	30
III.3.2. –Richesse moyenne	30
III.3.3. -Fréquence centésimale ou abondance relative	32
III.3.4. –Exploitation des résultats par les indices parasitaires	32
III.3.5. - Emploi du test du Khi-2 (χ^2).....	32

Sommaire

Chapitre IV : Résultats.....	33
IV.1. Résultats de l'inventaire des tiques dans la région d'étude durant deux ans, 2014 et 2015.....	33
IV.2. -Exploitation des résultats obtenus dans la région d'études	35
IV.2.1. - Expression des résultats par la richesse totale et moyenne des espèces de tiques récoltées dans la région d'étude durant les années 2014 et 2015.....	35
IV.2.2. Fréquences centésimales de différentes espèces de tiques récoltées dans la région de Bouzeguène.....	35
IV.2.3. – Exploitation des résultats par les indices parasitaires des espèces récoltées dans la région de Bouzeguène durant l'année 2015.....	38
IV.2.4. – Résultat de l'analyse statistique par le Khi-deux.....	38
IV.3. Résultats de la PCR en temps réel	39
Chapitre V – Discussion des résultats.....	41
V.1. – Discussion sur l'inventaire des tiques dans la région d'étude durant l'année 2014 et l'année 2015.....	41
V.2. – Discussion sur les résultats obtenus dans la région d'étude durant l'année 2014 et l'année 2015.....	42
V.2.1. – Richesse totale des espèces collectées dans la région d'étude durant l'année 2014 et l'année 2015.....	42
V.2.2. – Richesse moyenne des espèces collectées dans la région d'étude durant l'année 2014 et l'année 2015.....	42
V.2. 3. – Fréquences centésimale de différentes espèces des tiques récoltées dans la région d'étude dans les deux années 2014 et 2015.....	42
V.3. – Discussion sur les résultats obtenus par les indices parasitaires.....	43
V.4. – Discussion sur les résultats de la PCR en temps réel.....	44
Conclusion et perspectives.....	45
Références bibliographiques.....	47
Annexes	
Résumé	

Introduction

INTRODUCTION

Les tiques sont des arthropodes hématophages obligatoires, parasites de multitudes de classes des vertébrés dans le monde entier (**WALKER et al., 2003**). Elles appartiennent à la classe des Arachnida et l'ordre d'Ixodida qui comprend trois familles, dont la famille des Ixodidae. Cette dernière est la plus importante avec 13 genres et plus de 694 espèces. En plus de leurs parasitismes, certaines espèces de cette famille sont reconnues comme vecteurs de différentes maladies (bactériennes, virales, parasitaires, toxiques) chez l'Homme et la quasi-totalité des vertébrés (**PAROLA & RAOULT, 2001**). L'étude de l'épidémiologie des agents pathogènes transmis par les tiques passe par une identification adéquate de ces différentes espèces vectrices et vice versa. Pour ce faire, plusieurs guides d'identifications des espèces (clés dichotomiques) ont été proposées depuis plusieurs années. Les clés les plus connues de continent africain sont ceux de **WALKER et al.** (2003) et **ESTRADA-PEÑA et al.** (2004), qui présentent avec beaucoup de détails les différentes espèces mâles et femelles des tiques d'Afrique et du pourtour méditerranéen, respectivement.

Auparavant, exactement en **1972**, **MOREL et PEREZ** ont même tenté de mettre en place un guide d'identification des pré-imaginaux (larves et nymphes) des Ixodidae. Par ailleurs, des outils moléculaires, comme la réaction de polymérase en chaîne (PCR), ont été utilisés ces quinze dernières années pour établir une phylogénie des tiques en se basant sur des gènes d'ADN mitochondrial ou nucléaire (**PAROLA et RAOULT, 2001 ; BEATI et KEIRANS, 2001**). Cependant, il existe des inconvénients techniques et logistiques dans l'utilisation de biologie moléculaire, cette approche est en outre limitée par la disponibilité des séquences de certains gènes dans GenBank (Data base des séquences). Très récemment, une technique dite désorption-ionisation laser assistée par matrice utilisée en spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS) afin d'analyser des profils protéiques, est maintenant de plus en plus commune pour l'identification des arthropodes, y compris les tiques (**YSSOUF et al., 2013**).

En Algérie, les premiers travaux connus sur les tiques ont été réalisés sur plus de 30 ans par **SENEVET (1922 a, b et 1924)** et **SERGENT (1936 et 1945)**, des équipes de chercheurs de l'Institut Pasteur d'Alger de l'époque. Plusieurs d'autres études sur la dynamique des tiques ixodiennes ont été réalisées ces dix dernières années qui ont ciblé quelques wilayas (**BOULKABOUL, 2003 ; BENCHIKH-ELFEGOUN et al., 2007 ; BOUHOUS et al., 2008**), sauf celle faite par **MEDDOUR - BOUDERDA et MEDDOUR (2004)** entre 1985 et 1995 qui a touché les wilayas de l'Est du pays jusqu'à la frontière tunisienne sans avoir la

Introduction

distribution exacte des espèces de tiques sur chaque wilaya. Où encore, l'inventaire fait par **KERNIF et al. 2009** sur des tiques reçues ou collectées dans plusieurs wilayas par des équipes de l'Institut Pasteurs d'Algérie dans le cadre de surveillance des maladies vectorisées par les tiques. Sachant que ces tiques sont les principaux vecteurs connus des rickettsioses du groupe boutonneux, en 2010, l'une des enquêtes de surveillance des tiques dans la wilaya de Tizi-ouzou, plus exactement dans la région de Bouzeguene, a permis de mettre en évidence la détection moléculaire de *Rickettia monacensis* et *Rickettsia helvetica* dans des tiques d'espèce *Ixodes ricinus*. Ces bactéries sont responsables de la fièvre boutonneuse (**KERNIF et al. 2012**).

La présente étude a pour objectif de comparer les différentes espèces de tiques ectoparasites des bovins de la région de Bouzeguene sur ces deux dernières années et dans deux sites à différentes altitudes. Notre deuxième objectif est la surveillance moléculaire des rickettsioses sur les tiques.

Nous avons décidé de présenter notre mémoire comme suite :

Le premier chapitre traite les généralités sur les tiques et les principales maladies transmises par les tiques ;

Le deuxième chapitre traite la présentation de la région d'étude notamment les conditions climatiques et les données bibliographiques floristiques et faunistiques de la région d'étude (Bouzeguene) ;

Le troisième chapitre présente les diverses méthodes employées sur le terrain et au laboratoire, ainsi les méthodes utilisées pour exploiter les résultats obtenus.

Le quatrième chapitre rassemble les résultats obtenus ;

Notre dernier et cinquième chapitre porte sur la discussion ;

Ce travail est clôturé par une conclusion et des perspectives.

CHAPITRE I – Partie bibliographique sur les tiques

CHAPITRE I – Partie bibliographique sur les tiques

Ce chapitre présente notre objet d'étude: les tiques. De leur systématique à leur morphologie externe et interne, leur cycle de vie et les principales maladies transmises, plus particulièrement les rickettsies.

I.1. - Généralités sur les tiques

Les tiques appartiennent au règne animal, embranchement des Arthropodes, classe des Arachnides, ordre des Ixodida (**Horak et al., 2010**). Ce sont des acariens, au corps globuleux, leur taille à jeun varie entre 1,5 et 15 mm (**SACCA, 1984**). Jusqu'à ce jour, quelques 869 espèces et sous-espèces valides dans le monde ont été répertoriées et réparties en trois familles (**PAROLA et al., 2001**):

- Les tiques dures, ou les Ixodidae : représentent environ 670 espèces connues; elles possèdent des zones de tégument chitines (**Figure 1a**).
- Les Argasidae, environ 180 espèces ont un tégument sans sclérisation qui leur vaut le nom de tiques molles (**Figure 1b**).
- Un seul représentant des Nuttalliellidae a été identifié, il appartient à une famille intermédiaire entre les deux précédentes (**Figure 1c**).

Cette étude porte un intérêt particulier à la famille des Ixodidés qui constitue la famille la plus importante en nombre et en pathologie humaine et vétérinaire (**PAROLA et al., 2001**). Les tiques Ixodidae sont caractérisées par un corps globuleux, l'abdomen (opisthosoma) et le céphalothorax (prosoma) sont fusionnés. Le corps, en apparence non segmenté, est protégé par une carapace simple, membraneuse, souvent extensible notamment chez la femelle (**CASIER et al., 1998**), dont le corps devient volumineux quand elle se gorge de sang.

CHAPITRE I – Partie bibliographique sur les tiques



Figure 1a - Tiques dures



Figure 1b - Tiques moles



Figure 1c - Nuttalliellidae

CHAPITRE I – Partie bibliographique sur les tiques

I.2. - Systématique

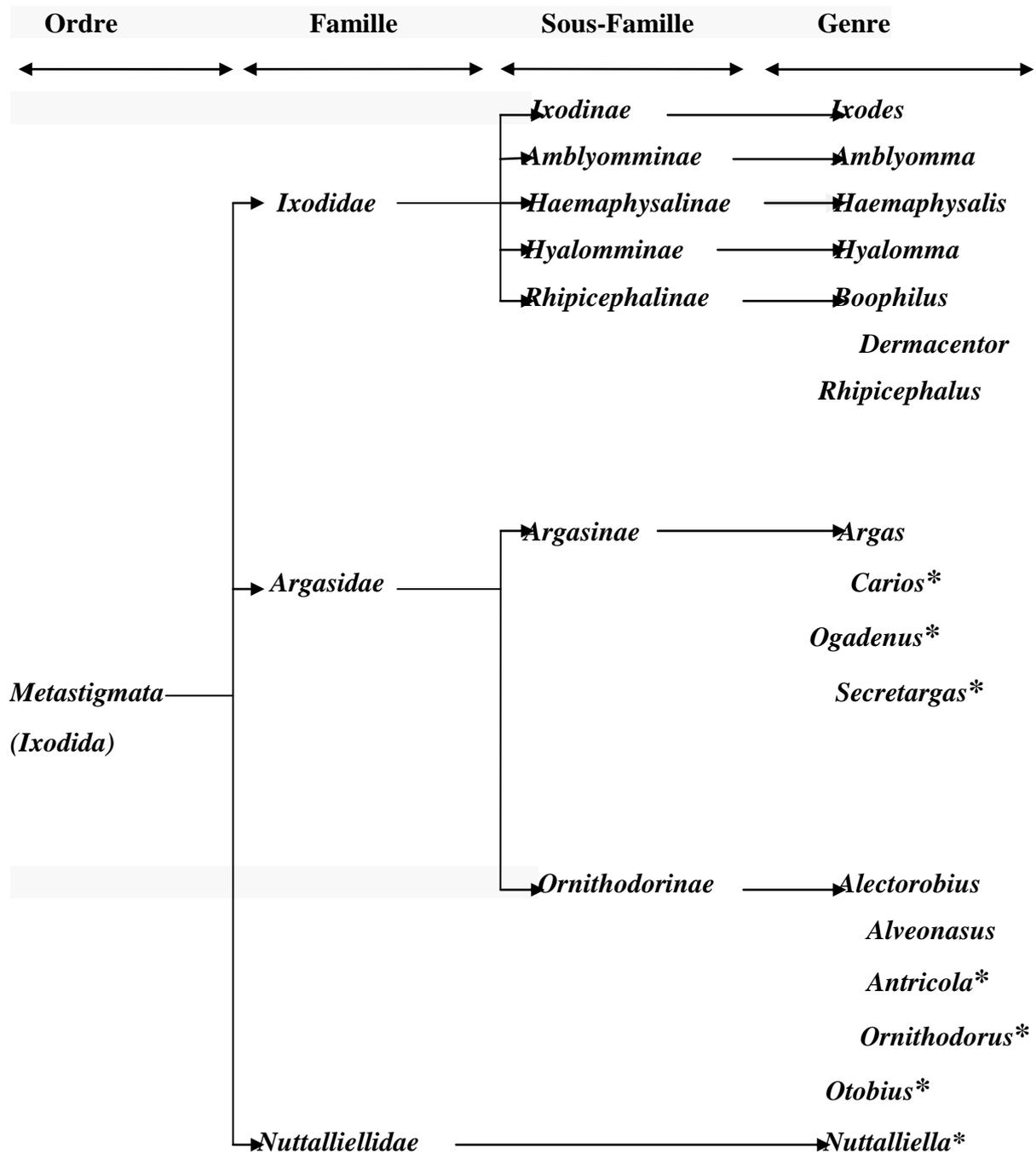


Figure2 : Classification des *Metastigmata (Ixodida)* (MOULINIER, 2002).

CHAPITRE I – Partie bibliographique sur les tiques

I.3. – Morphologie de la tique

I.3.1. - Morphologie externe

La morphologie externe de la tique comprend deux parties. Cette caractéristique est commune pour tous les arachnides. Nous décrivons communément un capitulum portant les pièces buccales, et un idiosome avec les appendices locomoteurs: le podosome qui porte les pattes (SOCOLOVSKI et *al.*,2008) dont la première paire porte l'organe de Haller qui sert à détecter la chaleur des hôtes (HALLER, 1992), et un opithosome où s'ouvre l'anus. Sur la face dorsale de l'idiosome, une plaque dure sclérotisée recouvre la totalité du corps chez le male, alors que chez la femelle, chez les larves et chez les nymphes, elle est limitée sur la partie antérieure (GUETARD, 2001).

I.3.2. - Morphologie interne

Selon GUETARD (2001), trois organes sont particulièrement développés chez les tiques.

- Les glandes salivaires: formées d'acini organisés en grappes.
- Le tube digestif: comprend l'estomac et de nombreux caecums, l'ensemble permettant le stockage d'une grande quantité de sang. Il se termine par une ampoule rectale et un anus.
- L'appareil génital femelle: l'ovaire est énorme, et en fer à cheval, présentant à chacune de ses extrémités un oviducte; ces derniers débouchent dans l'utérus, dans lequel s'abouche la spermathèque. Les œufs formés sortent par le gonopore.

I.4. - Cycle de vie des tiques

Selon MARVAL (2000), le cycle de développement des Ixodidae comprend quatre stades évolutifs (œuf, larve, nymphe et adulte) (Figure 3).

CHAPITRE I – Partie bibliographique sur les tiques

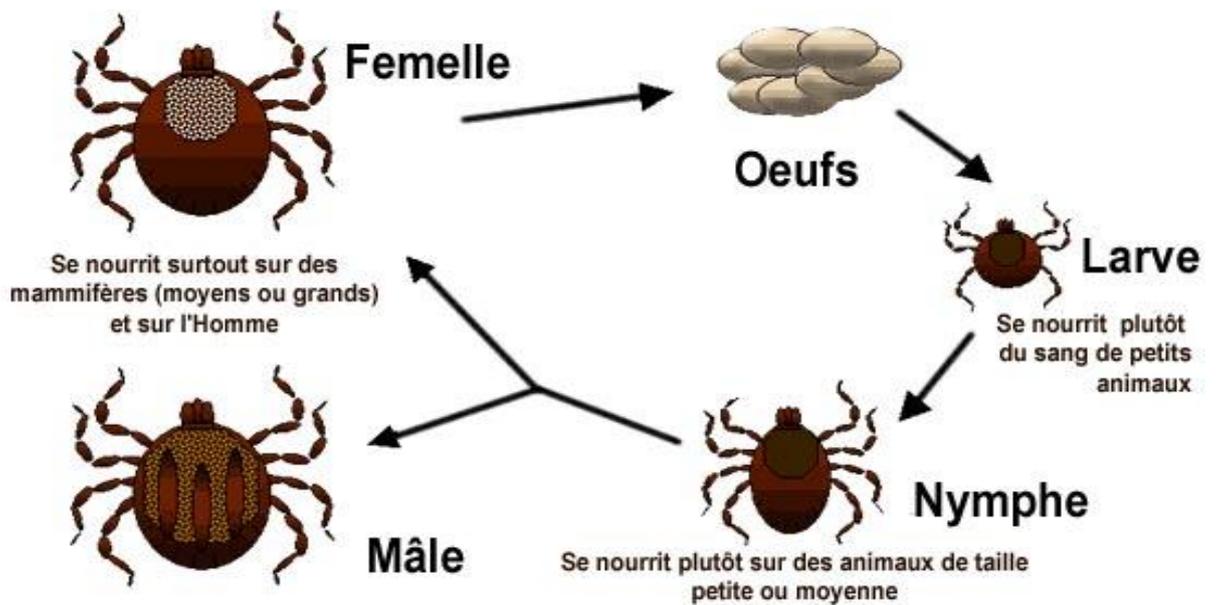


Figure 3 - Cycle de vie des tiques (SAHIBI et RHALEM, 2007).

I.4.1. - Œuf

Après l'accouplement qui a lieu sur l'hôte, la femelle fécondée et gorgée se détache et pond au sol généralement dans des endroits abrités (sous une pierre, dans la litière végétal, dans les crevasses du sol) (SACCA, 1984), sauf pour les *Boophilus* qui sont considérées comme des tiques monotropes alors la femelle pond ses œufs directement sur l'hôte (BITAM et al., 2002). Le nombre d'œufs varie avec l'espèce, la taille de l'espèce et l'importance du repas. L'adhésion des œufs et leur protection contre la dessiccation sont assurées par l'application d'un produit sécrété par l'organe de gène (disposé à la base du capitulum de la femelle) au moment de la ponte. Le temps d'incubation (20 à 50 jours en général) est variable avec l'espèce et les conditions climatiques, une brusque variation de températures ou défaut de l'humidité peut détruire les œufs (RODHAI et PEREZ, 1985).

I.4.2. – La larve de la tique

A la sortie de l'œuf, la larve est gonflée, mesure 1mm, et a trois paires de pattes (AUBRY-ROCES et al., 2001). Elle se durcit en quelques jours et se met à la recherche d'un hôte. L'hôte trouvé, la larve prend un repas qui dure trois à douze jours suivant l'espèce et les conditions climatiques. Quand elle termine son repas, elle tombe au sol, et cherche un abri

CHAPITRE I – Partie bibliographique sur les tiques

pour effectuer la mue. Après deux à huit semaines, la larve se métamorphose en nymphe (octopode) (AUBRY-ROCES *et al.*, 2001).

I.4.3. – Le stade de nymphe

Comme la larve, elle met quelques jours pour durcir. Dès lors ses activités sont identiques à celles du stade précédent en ce qui concerne ses déplacements, la recherche de l'hôte et la durée du repas. C'est alors qu'elle subit une deuxième métamorphose, après huit à quinze semaines au sol ou sur l'hôte lui-même, pour donner la tique adulte (SACCA 1984: AUBRY-ROCES *et al.*, 2001).

I.4.4. – Le stade adulte

Après un temps de durcissement, l'adulte se met à la recherche d'un hôte. Le repas sanguin est plus long, il dépend également de la température et de l'humidité (SACCA, 1984).

La femelle ne commence son repas, qui dure 5 à 10 jours, qu'après avoir été fécondée. Cependant elle peut le commencer si l'accouplement tarde mais ne le termine qu'après la fécondation, puis se détache de l'hôte, tombe au sol et pond après 3 à 4 semaines. La ponte dure 10 à 30 jours, elle est de plusieurs milliers d'œufs selon les espèces et le sang ingéré, puis s'ensuit la mort de la tique (RODHAN *et PEREZ*, 1985).

Les mâles ne subissent pas de transformations morphologiques et n'ont pas à assurer la maturation des œufs, c'est la raison pour laquelle ils s'alimentent très peu ou pas de tout (c'est le cas des mâles du genre *Ixodes*). Les mâles meurent généralement après l'accouplement.

I.5. – Les tiques, vecteurs virulent de maladies

Après les moustiques, les tiques sont considérées comme étant le plus important vecteur de maladies infectieuses pour l'homme et les animaux, en transmettant de nombreux agents pathogènes (bactéries, virus, protozoaires) (PAROLA *et RAOULT*, 2001). De nombreuses zoonoses bactériennes et virales impliquent une tique dans leur cycle de transmission: borréliose de Lyme, encéphalite à tique, rickettsioses, Babésiose, Anaplasmose, mais dans notre étude nous nous intéressons plus spécifiquement aux rickettsioses.

CHAPITRE I – Partie bibliographique sur les tiques

I.5.1. - Les rickettsioses

D'après **PAROLA et al. (2013)**, les rickettsioses constituent un ensemble de maladies infectieuses provoquées par des rickettsies qui sont des bactéries intracellulaires strictes. De nombreuses rickettsies ont été découvertes ces dernières années. Elles impliquent une transmission à l'homme par une morsure de tique. Leur distribution est mondiale mais varie avec l'écologie de la rickettsie, de son (ses) vecteur(s) et réservoir(s).

I.5.1.1. - Distribution géographique des rickettsioses

D'après **KERNIF et al. (2012)**, dans de nombreux cas, les rickettsies pathogènes des tiques peuvent infecter et coloniser des organes de tiques, en particulier les glandes salivaires et les ovaires des femelles adultes. Ce modèle d'infection permet à certaines espèces de tiques de transmettre des rickettsies aux hôtes vertébrés pendant les repas et à partir de la 1^{ère} génération de la tique à l'autre. En Afrique du Nord (**Figure 4**), 8 espèces de rickettsies, tous agents pathogènes humains, ont été détectés dans des tiques ou des cas humains, dont *R. conorii* sous-espèce *conorii*, *R. conorii* sous-espèce *israelensis*, *R. aeschlimannii*, *R. sibirica mongolitimonae*, *R. massiliae*, *R. slovacae*, *R. raoultii* et *R. Monacensis*

I.5.1.1. - Rickettsioses boutonneuses

Les rickettsioses à tiques sont causées par des bactéries intracellulaires obligatoires appartenant au groupe boutonneux du genre *Rickettsia*, de la famille des rickettsiaceae. On a longtemps cru que la fièvre boutonneuse méditerranéenne due à *R. conorii conorii* était la seule rickettsiose à tique en Afrique. En fait, dès les années 30 une autre rickettsiose avait été décrite mais les travaux avaient été contestés puis oubliés. Il s'agissait de la fièvre à tique Africaine, dont l'agent *R. africae*, n'a été redécouvert puis caractérisé qu'en 1992 (**PAROLA et al., 2005**). Depuis 2001, 6 nouvelles rickettsies pathogènes du groupe boutonneux ont été décrites en Afrique: *R. slovacae*, *R. aeschlimannii*, *R. sibirica monogolitimonae*, *R. massiliae*, *R. conorii caspia*, *R. monacensis* et *R. raoultii*.

CHAPITRE I – Partie bibliographique sur les tiques

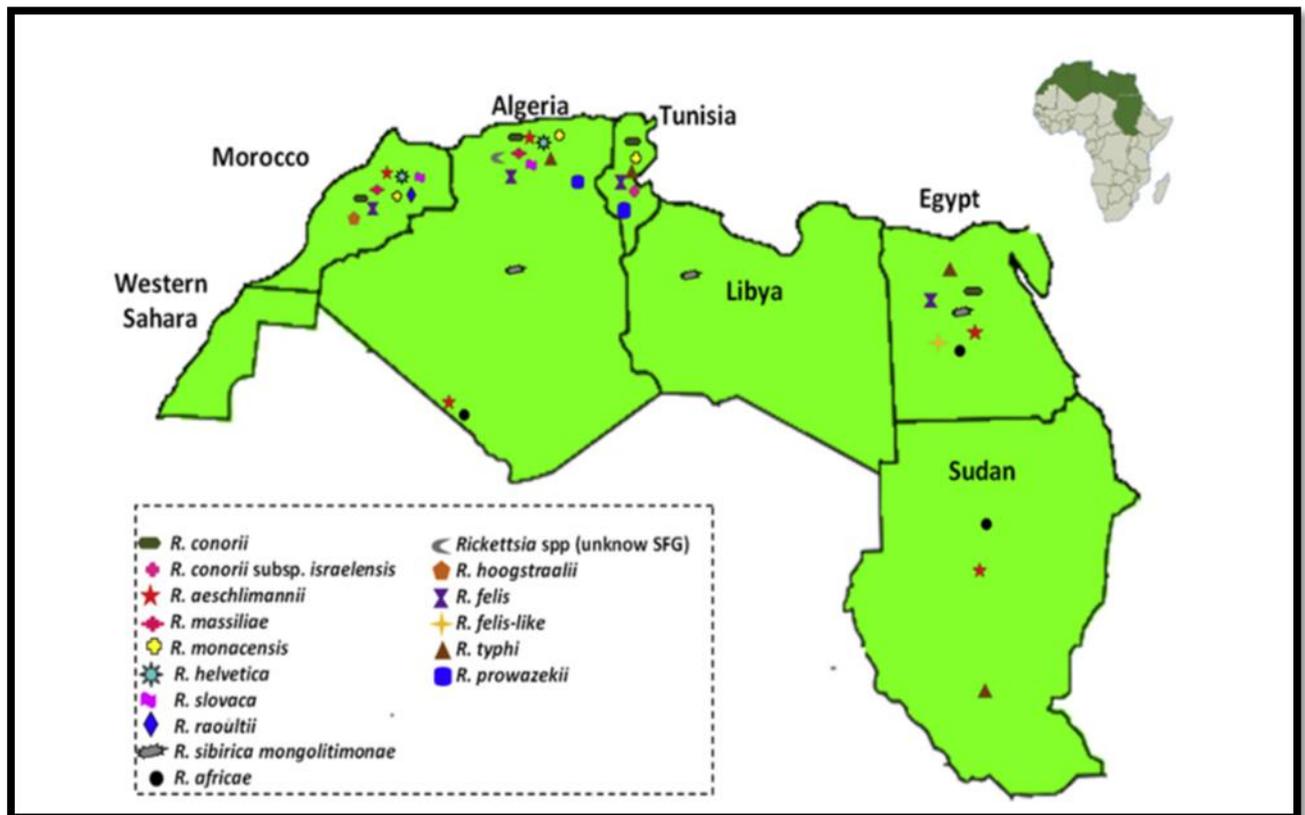


Figure 4 – Distribution géographique de la fièvre boutonneuse dans le Nord de l'Afrique, (KERNIF et al., 2012).

I.5.1.2. - La fièvre boutonneuse méditerranéenne (*Rickettsia conorii*)

D'après PILLY (2003), la fièvre boutonneuse méditerranéenne est une zoonose due à *Rickettsia conorii conorii*, transmise par la piqûre de la tique *Rhipicephalus sanguineus* qui en est le réservoir. Chez la tique, la rickettsie est transmise de génération à génération par voie transovarienne (ACHA et al., 1989). C'est une maladie urbaine et péri-urbaine endémique dans le pourtour méditerranéen, en Afrique où elle est largement répandue, mais aussi sur le continent Asiatique de la Turquie, en Birmanie et en Malaisie (RODHAIN et PEREZ, 2002).

La fièvre boutonneuse méditerranéenne est une maladie saisonnière, estivale (mai à octobre), avec un pic épidémique de juillet à septembre, ce qui correspond à la période d'activité des formes immatures des tiques, dont la piqûre indolore passe souvent inaperçue (PAROLA et al., 2005). Au sein d'une zone géographique, l'incidence de la maladie peut varier d'une

CHAPITRE I – Partie bibliographique sur les tiques

partie à une autre. Cette distribution géographique est associée à la présence de chien et aussi à une séroprévalence plus élevée chez ces canidés (RAOULT *et al.*, 1992).

Le traitement de la fièvre boutonneuse repose sur les tétracyclines, aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant (RAOULT, 1991).

I.5.2. - Autres maladies

D'autres pathologies sont toutefois transmises par les tiques qui peuvent être d'origine bactériennes (la maladie de Lyme, la fièvre Q, Ehrlichioses et Anaplasmoses...) ou virales (la fièvre de Crimée-Congo, encéphalite à tique d'Europe centrale et de l'Est) et même parasitaire (Babésioses, Theilériose...). Enfin, citons la paralysie à tique qui est une pathologie causée par une neurotoxine sécrétée avec la salive de certaines tiques.

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

Nous aborderons la situation géographique et les facteurs écologiques de la région de Bouzeguène.

II.1. – Situation géographique de la région de Bouzeguène

La région de Bouzeguène est située à 70 km au Sud-est de la ville de Tizi-Ouzou (Kabylie). Elle s'étend sur une superficie de 6.690 ha (**Figure 5**). Elle est limitée au Nord par la rivière Assif Oussardoune et la forêt de Yakourène, à l'Est et au Sud par la forêt de l'Akfadou et à l'Ouest par deux rivières celles d'Assif Boubhire et d'Assif Sahel (4° 33' à 4° 37' E. ; 36° 33' à 36°37' N.). La région d'étude est située sur le versant Sud-Est de la chaîne côtière dans sa zone de jonction avec le massif du Djurdjura (**C.R.E.A.D., 1987**).

II.2. - Facteur écologique

Selon **DAJOZ (1979)**, tout organisme est soumis dans le milieu où il vit aux actions climatiques ou biotiques très variés. Nous appelons facteurs écologiques tous éléments du milieu susceptible d'agir directement sur les êtres vivants au moins durant une phase de leur cycle de développement.

II.2.1. - Facteurs abiotiques

Les facteurs abiotiques sont des facteurs indépendants de la densité, ils agissent donc sur les organismes avec une intensité qui ne dépend pas de leur abondance (**DAJOZ, 2006**). Ils peuvent être représentés par les facteurs climatiques (température, précipitation, l'humidité et vent) et la synthèse climatique.

II.2.1.1. - Facteurs édaphiques de la région de Bouzeguène

Les facteurs édaphiques ou pédologiques sont des facteurs écologiques liés aux caractéristiques physiques et chimiques du sol. Les facteurs édaphiques des deux sites d'étude seront présentés séparément. L'aspect pédologique influe sur la répartition de la microfaune dans les différents types du sol. **KHIDAS (1997)** signale que le long de la zone côtière jusqu'à l'extrémité orientale de la Kabylie, un très large affleurement s'étend, formé principalement d'argiles schisteuses dans lesquelles s'intercalent surtout des grès quartzites.

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

Dans la partie orientale de la Kabylie du Djurdjura, les marnes et les calcaires dominent d'après FLANDRIN (1952) et THIEBAUT (1952) cités par KHIDAS (1997).

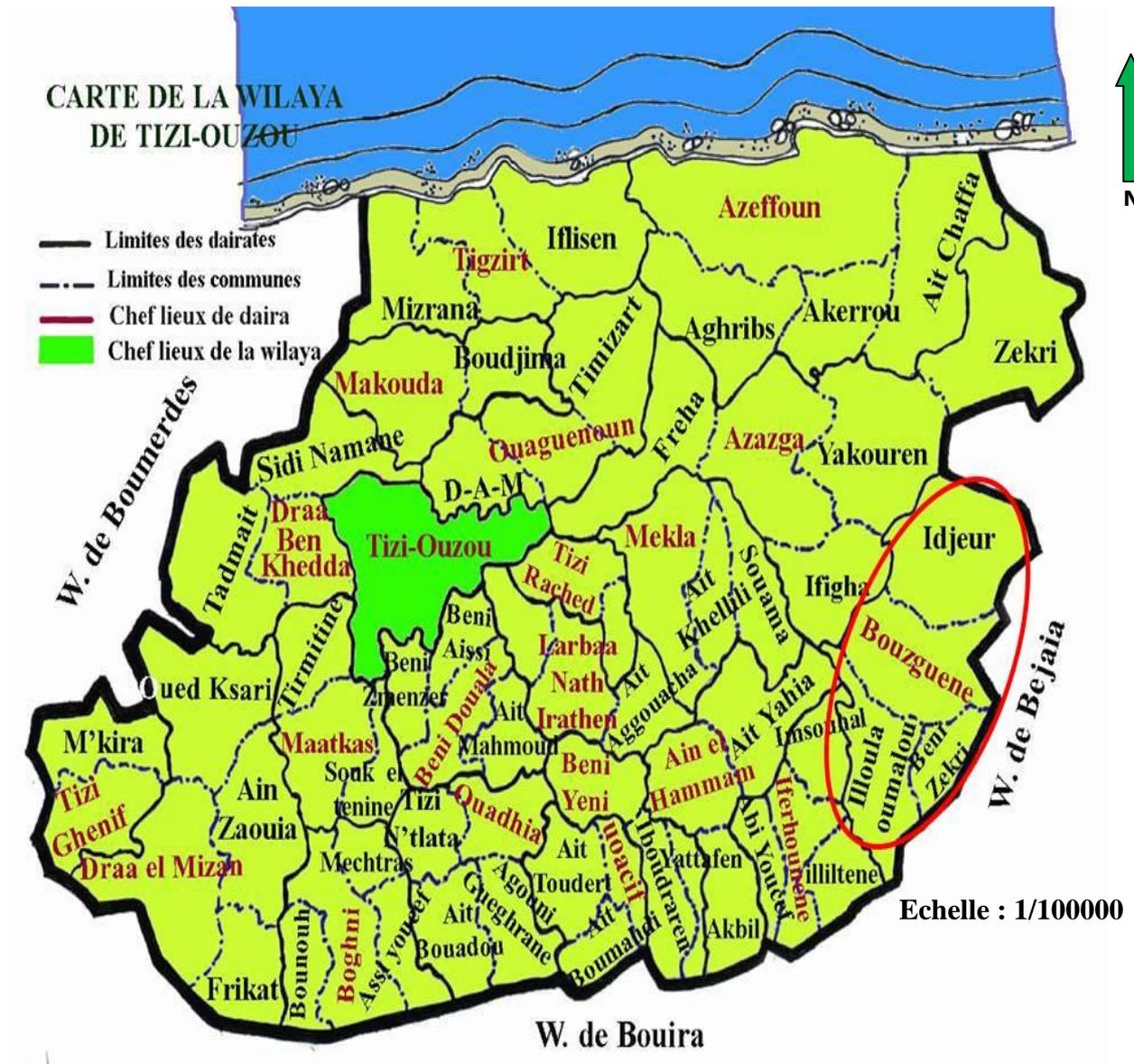


Figure 5 - Situation géographique de la région d'étude : Bouzeguène, sise dans la wilaya de Tizi-Ouzou (Kabylie, Google Earth, 2015)

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

Dans la partie montagneuse de Bouzeguène (Quiquave), les sols sont tantôt argileux, tantôt marneux et quelquefois caillouteux.

II.21.2. - Caractéristiques hydro-géographiques de la région de Bouzeguène

Le climat et le relief du versant Sud-est de la chaîne côtière allant jusqu'au massif de Djurdjura offrent une très grande richesse en eau. Les débits des torrents et des cours d'eau qui descendent des flancs montagneux sont élevés durant la période pluvieuse. Les eaux sont drainées au Sud vers les vallées d'Assif Sahel et d'Assif Boubhir et à l'Est vers celle d'Assif Ousserdoune. Il arrive quelquefois que les oueds Boubhir et Sahel connaissent des crues. Par ailleurs les rivières Ighezer n'Itelata et d'Ighezer Ibouissefen s'alimentent à partir de sources naturelles.

II.2.1.3. - Facteurs climatiques de la région de Bouzeguène

Le climat est l'un des principaux facteurs ayant un impact majeur sur le développement et la répartition des espèces animales et végétales. Notre étude climatologique est basée sur les températures et les précipitations (**DJIOUA, 2011**). Tizi-Ouzou se situe au nord dans la zone du climat méditerranéen. Elle présente un climat de type sublittoral qui est caractérisé par un hiver doux et pluvieux et un été chaud et sec (**LOUNACI, 2005**).

II.2.1.3.1. – Etude des températures

Selon **SELTZER (1946)**, la température minimale et maximale diminue respectivement de 0,4 et 0,7 pour chaque augmentation de 100 m d'altitude. La température est le facteur climatique le plus important, il influe sur la répartition géographique des espèces et contrôle l'ensemble de la réaction métabolique. En effet chaque espèce ne peut vivre que dans un certain intervalle de températures qui lui est favorable (**DREUX, 1980**). La différence d'altitude entre la région de Bouzeguène (800 m) et celle de la station météorologique de Tizi-ouzou (154m) s'élève à 646 m. On applique des corrections pour adapter les données climatiques de station météorologique de Boukhalfa à la région de Bouzeguène. Les températures moyennes maximales et minimales de la période d'étude sont regroupées dans le **tableau 1**.

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

Tableau 1 – Températures moyennes, mensuelles (minimales et maximales corrigées) de la région de Bouzeguène pour la période : 2000-2014

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC
Tm	3,8	4,1	6,1	8,5	11,7	15,5	18,8	19,2	16,1	13,6	8,5	5,1
TM	10	11,7	14,8	17,5	21,6	27,4	31,2	30,5	26,7	23,2	15,8	12
(M+m)/2	6,9	7,9	10,4	13	16,6	21,4	25	24,8	21,9	18,4	12,1	8,5

(S.M.T.O., 2015)

TM: température moyenne maximale (°C); **Tm** : température moyenne minimale (°C); **(M+m)/2**: Moyennes de température mensuelle (°C).

Les hausses de températures annoncent la venue du printemps et de l'été, les baisses de températures celle de l'automne et de l'hiver. Les valeurs les plus élevées de la température moyenne mensuelle sont enregistrées en juillet (25 °C) et août (24,8 °C). Les mois les plus froids sont janvier (6,9 °C) et février (7,9 °C).

II.2.1.3.2. – Pluviométrie à Bouzeguène

La pluviométrie constitue un facteur écologique d'importance fondamentale. C'est la hauteur annuelle des précipitations en un lieu, exprimée en centimètres ou en millimètres. Selon **EMBERGER (1952)**, dans les pays méditerranéens, la presque totalité des pluies tombent pendant la période de végétation de l'automne au printemps, l'été est sec. Selon **SELTZER (1946)**, les pluies en Algérie sont d'origine orographique et torrentielle, elles augmentent avec l'altitude. Les précipitations constituent un facteur écologique fondamental dans l'alternance de la saison des pluies et de la saison sèche qui joue un rôle régulateur des activités écologiques (**SELTZER, 1946**). Afin de déterminer la pluviométrie d'une station située à haute altitude par rapport à celle d'une station sise à faible altitude, des corrections sont effectuées. Dans ce but, des calculs sont faits pour connaître l'augmentation de la pluie en fonction de l'altitude, en utilisant l'une des trois courbes d'accroissement de la pluie proposées par **SELTZER (1946)**. Il existe une différence de 646 m d'altitude entre la station météorologique de Tizi-Ouzou et la région de Bouzeguène. Compte tenu de cette valeur altitudinale, la projection sur la courbe concernant l'Atlas tellien (**Figure 5**) correspond à un accroissement de précipitation égal à 230 mm, à répartir entre les différents mois. Cette dernière est représentée par l'indice A. Pour calculer l'accroissement mensuel, nous avons utilisé la formule suivante :

$$NI = A \times B / X$$

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

Ni: est la valeur à ajouter pour chaque mois.

A: est l'accroissement de la pluie obtenue par la projection graphique.

B: est la valeur des précipitations de chaque mois.

X: est le total des précipitations pour les 15 années (2000- 2014). Les précipitations recueillies durant une période de 15 ans corrigées dans la région de Bouzeguène sont rassemblées dans le **tableau 2**.

Tableau 2 – Précipitations moyenne et mensuelles de la région de Bouzeguène, durant la période 2000-2014

Mois	JAN	FEV	MAR	AVR	MAI	JUI	JUIL	AOU	SEP	OCT	NOV	DEC	Cumul
P (mm)	152,6	112	104,4	99,9	82,9	13,6	2,7	7,9	44,3	74,1	219,4	158,3	1072,1

(S.M.T.O., 2015)

Nous pouvons noter que les précipitations se concentrent en automne. Elles sont irrégulières et mal réparties dans le temps. Les pluies tombent surtout sous la forme d'averses brutales en quelques jours entrecoupées par des périodes sans précipitations. Le tableau ci-dessus fait ressortir une moyenne de précipitation totale de 1072,1mm au cours de la période allant de 2000 jusque 2014. Le mois le plus pluvieux est le mois de novembre, avec une moyenne de 219,4 mm et une faible quantité de pluie est enregistrée durant le mois de juillet avec une moyenne de 2,7mm.

II.2.1.3.3. - Humidité relative

L'humidité relative ou degré hygrométrique est définie comme le pourcentage de vapeur d'eau qui existe réellement dans l'air (l'humidité absolue) par rapport à la quantité maximale que pourrait contenir l'atmosphère dans les mêmes conditions de pression et de température (MOUHOUN, 2008). La disponibilité de l'eau dans le milieu et l'hygrométrie atmosphérique joue un rôle essentiel dans l'écologie des organismes. L'humidité relative de l'air influe sur la densité des populations en provoquant des diminutions du nombre d'individus et de ponte lorsque les conditions hygrométriques deviennent défavorables (DAJOZ, 2006).

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

II.2.1.3.4. - Synthèse climatique

La synthèse climatique d'une région donnée peut se faire par l'analyse du diagramme ombrothermique de **BAGNOULS et GAUSSEN (1953)** et par le diagramme d'**EMBERGER (1955)**.

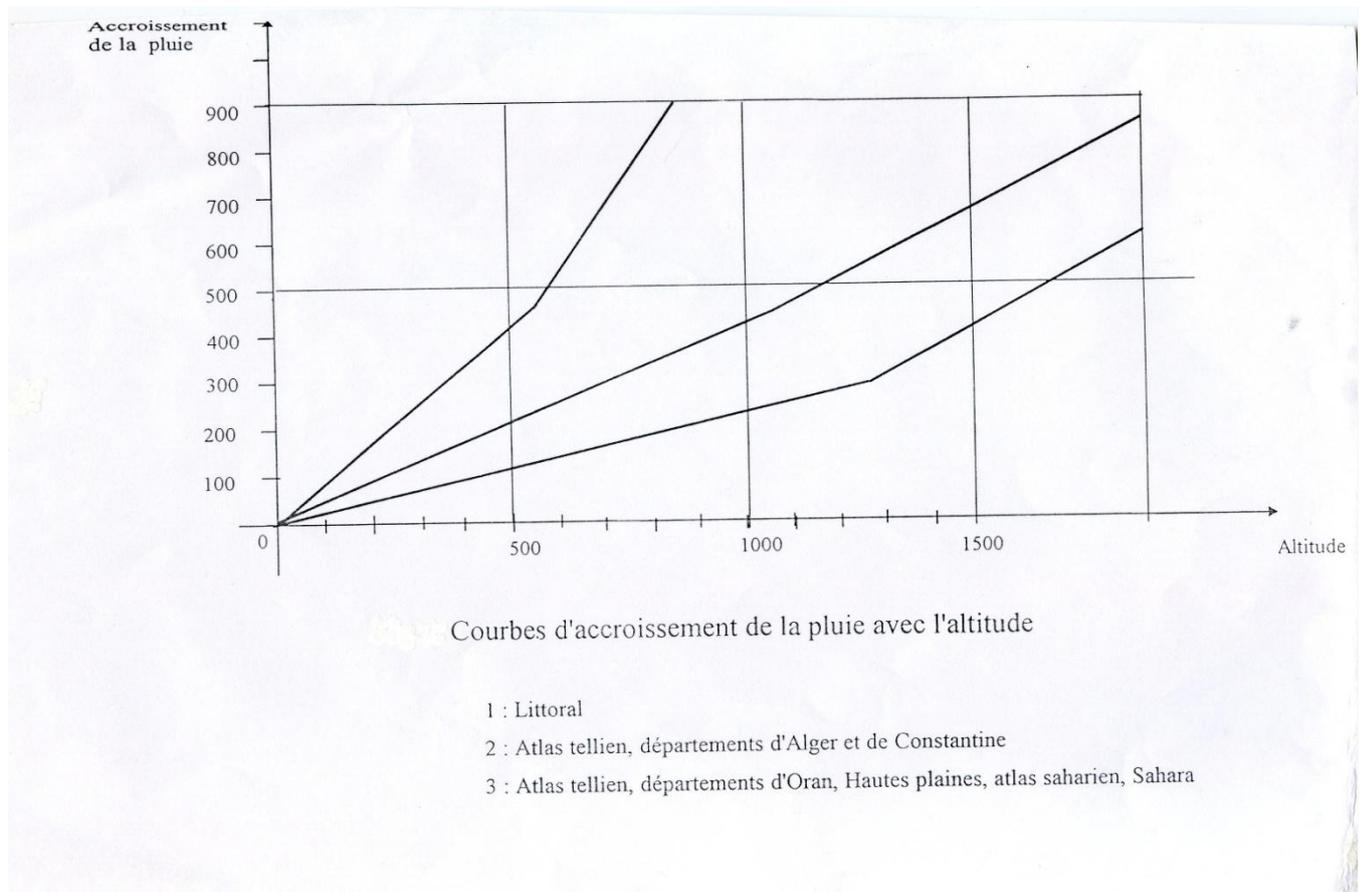


Figure 6 – Courbes d'accroissement de la pluie avec l'altitude (SELTZER, 1946).

II.2.1.3.4.1. - Diagramme Omrothermique de Bagnols et Gausson

Selon **MUTIN (1977)**, le diagramme Omrothermique de Bagnouls et Gausson permet de définir les périodes sèches. C'est un mode de représentation classique du climat d'une région déterminée (**DAJOZ, 2000**). Il tient compte des valeurs mensuelles de la pluviosité et de la température moyenne. Ce diagramme juxtapose les données de températures et de précipitations d'une région au cours d'une année. Elles sont portées sur deux axes où l'échelle

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

de la pluviosité est double de celle de la température $P = 2T$. **BAGNOULS et GAUSSEN (1953)**, considèrent qu'un mois est sec si les précipitations (P) exprimées en millimètres sur l'axe des ordonnées à droite sont inférieures au double de la température moyenne (T) exprimée en degrés Celsius en ordonnée, à gauche (**Figure 7**).

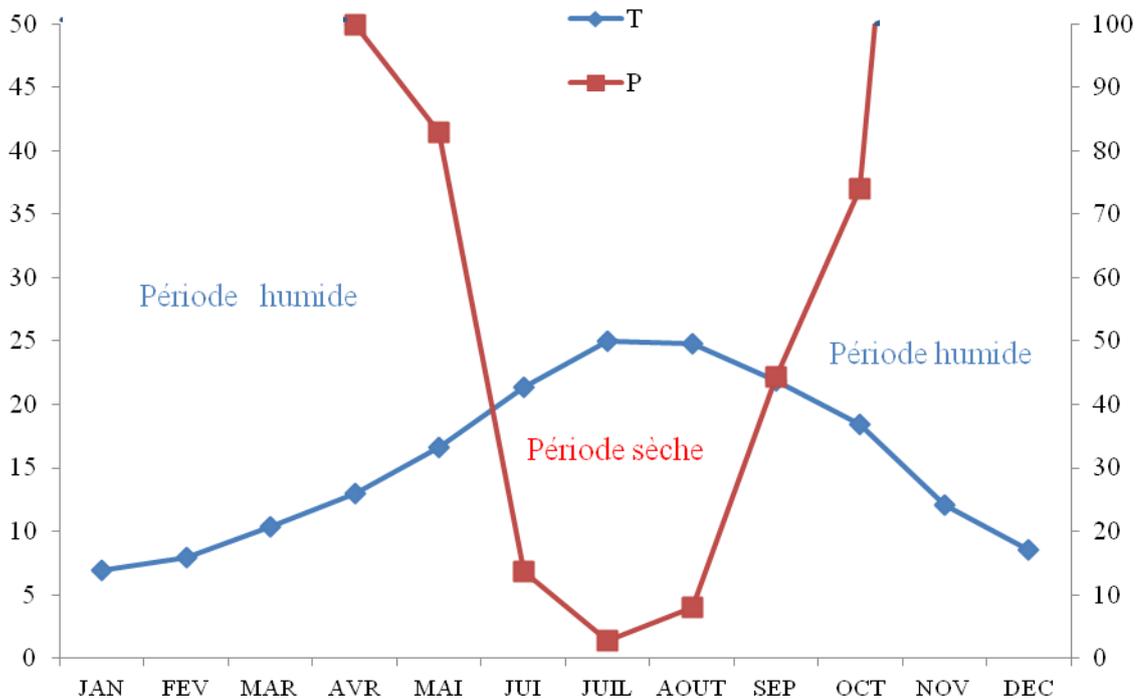


Figure 7 - Diagramme Ombrothermique de la région de Bouzeguène de 2000 à 2014 (15 ans)

Le diagramme Ombrothermique de Gausсен conçu pour une période de 15 ans pour la région de Bouzeguène montre deux périodes : l'une sèche et chaude, et l'autre humide et fraîche, qui s'alternent de façon régulière. La première, qui est humide, débute début septembre et va jusqu'à début juin. La sécheresse commence à partir de mi-juin et s'achève au mi-septembre.

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

II.2.1.3.4.2. - Quotient pluviothermique et climagramme d'Emberger

Le climagramme d'Emberger a été mis au point pour la zone méditerranéenne. Il permet de situer la région d'étude dans l'étage bioclimatique qui lui correspond (**DAJOZ, 1982**). La valeur du quotient pluviométrique de **STEWART (1969)** dans notre région d'étude est obtenue par la formule suivante :

$$Q_3 = 3,43 \times P / (M - m)$$

Q₃: quotient pluviométrique d'Emberger.

P.: pluviométrie moyenne annuelle (en mm).

M. : Moyenne des maxima du mois le plus chaud (en °C).

m. : Moyenne des minima du mois le plus froid (en °C)

Le quotient pluviométrique est calculé pour une période de 15 ans. Pour la région de Bouzeguène, la pluviométrie moyenne annuelle est de 1072,1 mm. La température moyenne des maxima du mois le plus chaud est de 31,2 °C et celle des minima du mois le plus froid égale à 3,8 °C. De ce fait, la valeur du quotient pluviométrique est de 129,48 ce qui permet de placer la région d'étude dans l'étage bioclimatique humide à hiver tempéré (**Figure 8**).

II.2.2. - Facteurs biotiques

Ces facteurs représentent l'ensemble des êtres vivants, aussi bien végétaux qu'animaux, pouvant par leur prestance ou leur action modifier ou entretenir les conditions du milieu (**FAURIE et al., 2003**). Il s'agira dans cette partie d'exposer les données bibliographiques concernant la faune et la flore de Bouzeguène.

II.2.2.1. - Données bibliographiques sur la faune de la région de Bouzeguène

L'inventaire de l'entomofaune, de l'avifaune et des mammifères de notre terrain d'étude est particulièrement bien décrite.

➤ Entomofaune de la région de Bouzeguène :

Selon **BRAHMI (2001)**, la faune orthoptéroïde de la région d'étude est composée de 37 espèces, réparties entre les Ensifères, les Caelifères et les Mantoptères.

➤ Peuplements aviens et mammaliens de la région de Bouzeguène

CHEBINI (1987) a recensé 60 espèces aviennes et 15 espèces de mammifères dans la forêt de l'Akfadou.

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

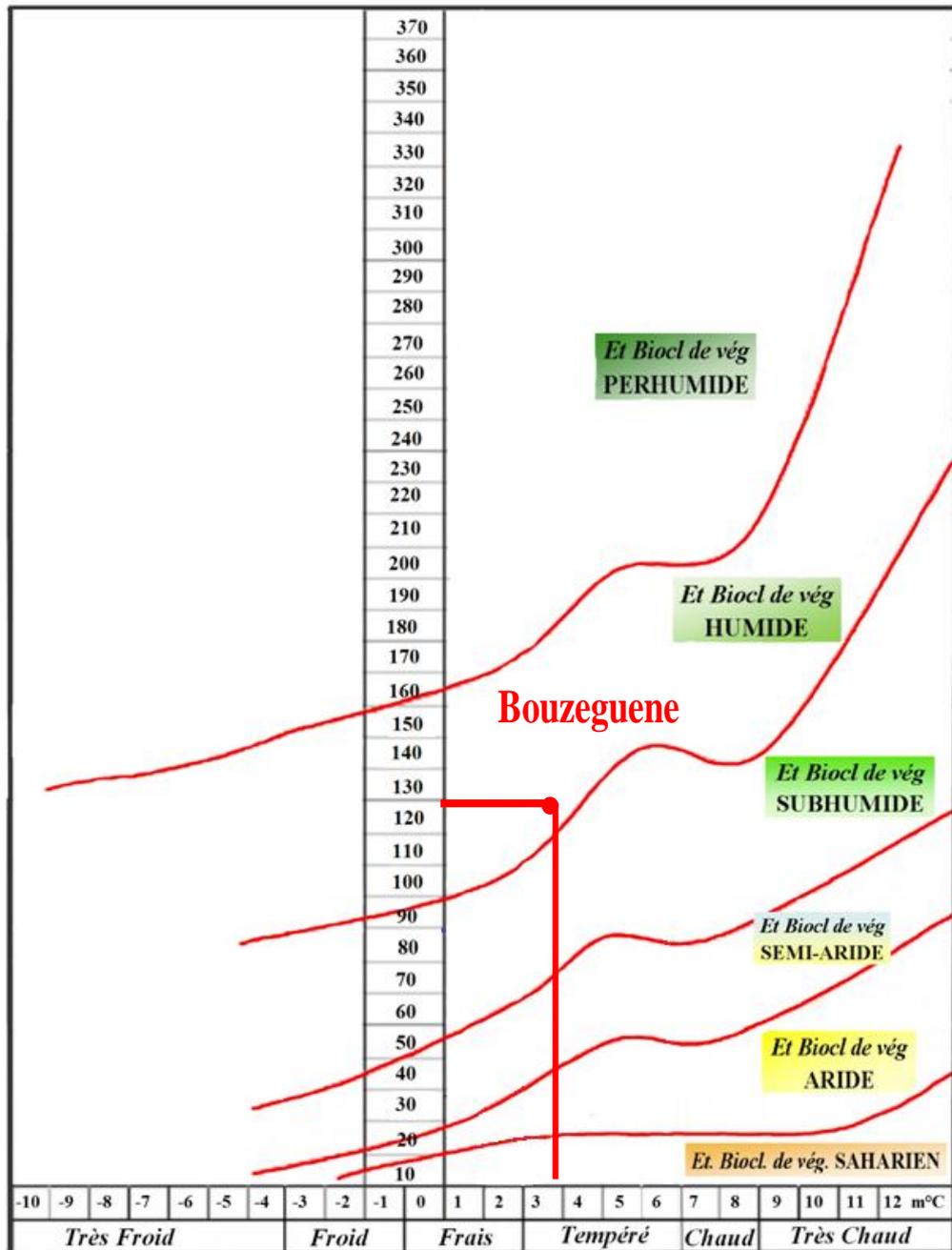


Figure 8 - Climagramme pluviométrique d'Emberger de la région de Bouzeguène

Chapitre II - Présentation de la région d'étude

II.2.2.2. - Données bibliographiques sur la flore de la région de Bouzeguène

La végétation joue un rôle important dans la répartition des espèces. Elle constitue une sorte d'encrant entre l'arthropode et les conditions de son environnement (VIAL, 1974 cité par OULD EL HADJ, 2004). Bouzeguène est rattachée à la forêt domaniale d'Akfadou. La forêt d'Akfadou se caractérise par la densité du couvert végétal où se présente deux strates, la strate arborescente qui est composée de chêne zeen (*Quercus canariensis*), chêne afaras (*Quercus afaras*), chêne liège (*Quercus suber*), les bouquets d'ifs (*Taxus baccata*), de houx (*Illex aquifolium*), le cèdre (*Cedrus atlantica* Manetti), le châtaignier (*Castanea sativa* mill.), le laurier (*Daphnee monogyna*), arbousier (*Arbutus unedo*). La strate herbacée est presque absente en hiver et très importante au printemps, elle est représentée par les fougères, narcisses, le cyclamen (*Cyclamen africanum*), la menthe et par de nombreuses espèces de graminées. (MESSAOUDENE, 1989).

Chapitre III – Matériel et méthodes

Chapitre III – Matériel et méthodes

Après le choix de la station d'étude, les méthodes de travail sur le terrain et les méthodes utilisées au laboratoire telle que l'identification des tiques, diagnostic moléculaire par la PCR sont traitées. Les techniques employées pour l'exploitation des résultats sont développées.

III.1. – Choix et description de la station d'étude

Nous avons choisi la région de Bouzeguène d'une part pour son accessibilité aux fermes d'élevage et d'autre part pour poursuivre un précédent travail de recherche effectué durant l'année 2014 dans cette même région (LARBI K, BOUIZEGARENE S., 2014), où il avait été détecté la présence de quelques maladies dues aux tiques comme les *Babesia* et les *Rickettsia*.

L'échantillonnage a été réalisé dès le mois de janvier 2015 jusqu'au mois de mai 2015 en faisant des sorties dans les fermes d'élevage à Bouzeguène (5fermes) qui sont réparties sur un massif montagneux.

Les fermes se trouvent à 800m d'altitude, sont modernes, les étables sont construites avec des briques et du ciment. La surface à l'intérieur respecte le nombre de sujets trouvés dans l'étable, elles sont aérées, propres et les éleveurs sont équipées de matériels tels que les machines à traire et appareils de nettoyage (Figure 9).



Figure 9 – Etables à Bouzeguène (originale)

Chapitre III – Matériel et méthodes

III.2. – Méthodologie de travail

III.2.1. – Méthode de travail sur le terrain

Les tiques ont été récoltées et prélevées à l'aide d'une pince fine près du capitulum, pour ne pas briser le rostre qui est élément essentiel pour l'identification du genre et de l'espèce (**Figure10**). Puis, les tiques ont été mises dans des tubes avec de l'alcool à 70°. Ces derniers ont été soigneusement numérotés, des notes ont été prises: numéro du tube, date du prélèvement, site d'échantillonnage.



Figure10 : méthode de la récolte des tiques (originale)

III.2.2. - Méthodes utilisées au laboratoire

Nous avons travaillé dans le laboratoire de parasitologie médical et d'épidémiologie à l'Institut Pasteur d'Algérie à Alger.

III.2.2.1. - Identification des tiques

III.2.1.1.1. - Méthodes d'identification

L'identification a été faite sur la base des caractéristiques morpho-anatomiques (**Figure 11**) et une clé d'identification des tiques de **WALKER et al., (2003)**.

L'identification a été réalisée à l'aide d'une loupe binoculaire. La manipulation des tiques s'est faite dans des boîtes de Pétri, en utilisant des pinces fines. Après l'identification, les tiques ont été remises dans l'alcool à 70° pour empêcher leur dessiccation et conservées à 4° C. Les résultats obtenus ont été enregistrés en fonction du site (ferme) de prélèvement:

Chapitre III – Matériel et méthodes

numéro de l'échantillon, nombre total des tiques prélevés, quantité et nom des espèces des spécimens, et nombre de mâles et de femelles.

III.2.1.1.2. - Base de l'identification

On commence par identifier le genre, puis l'espèce. L'identification du genre est basée généralement sur les caractères morphologiques de certaines parties de corps:

- La position du sillon anal par rapport à l'orifice anal.
- La longueur et la forme du rostre.
- Forme de la base de capitulum.
- Présence ou l'absence des festons postérieurs.

L'identification des espèces basée sur certains détails morphologiques tels que:

- La ponctuation de l'écusson.
- La couleur des pattes et la présence de marbrures (anneaux)
- La forme de stigmates (en virgule ou ronde)
- Les caractères des sillons.
- Les festons et la forme des yeux.
- Les aires poreuses (forme, dimension et distance les séparent).
- le nombre de plaque adanales et leurs formes.

Chapitre III – Matériel et méthodes

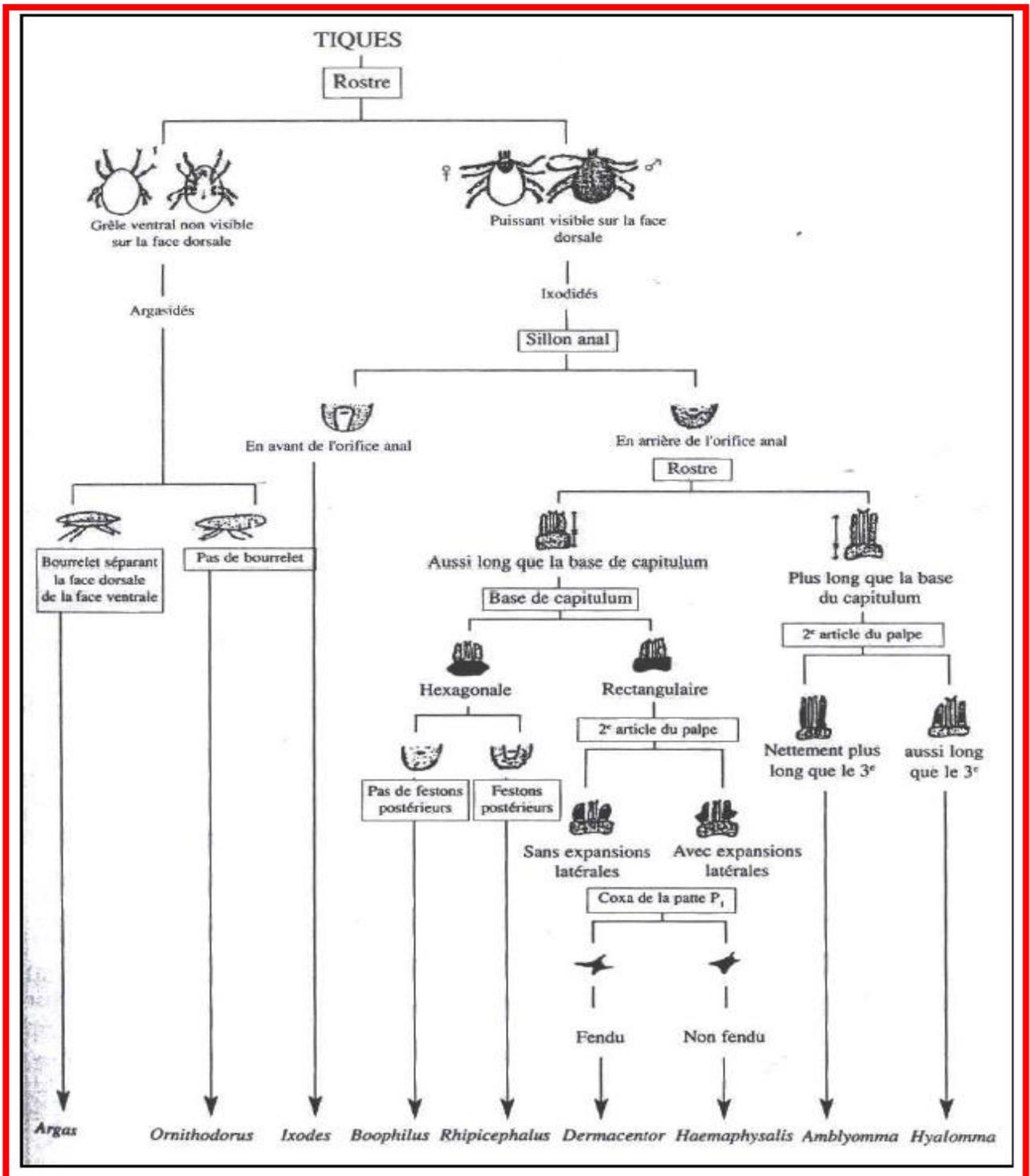


Figure 11 - Clé d'identification des tiques (MOULINIER, 2002).

Chapitre III – Matériel et méthodes

III.2.2.2. - Diagnostic moléculaire par la PCR (polymérase chaîne réaction)

La PCR en temps réel a été utilisée pour la détection moléculaire de l'ADN de *Rickettsia* spp., les amorces utilisées sont spécifiques aux gènes amplifiés. Les espèces de tiques utilisées sont ceux de l'inventaire de l'année 2014

III.2.2.2.1. - Extraction d'ADN

La technique consiste à désorganiser les membranes cellulaires en émulsionnant leurs lipoprotéines à l'aide d'un détergent, ensuite faire précipiter l'ADN et enrouler les filaments (**Figure 12**).

III.2.2.2.2. Détection de *Rickettsia* spp par la PCR en temps réel

III.2.2.2.2.1. - Principe

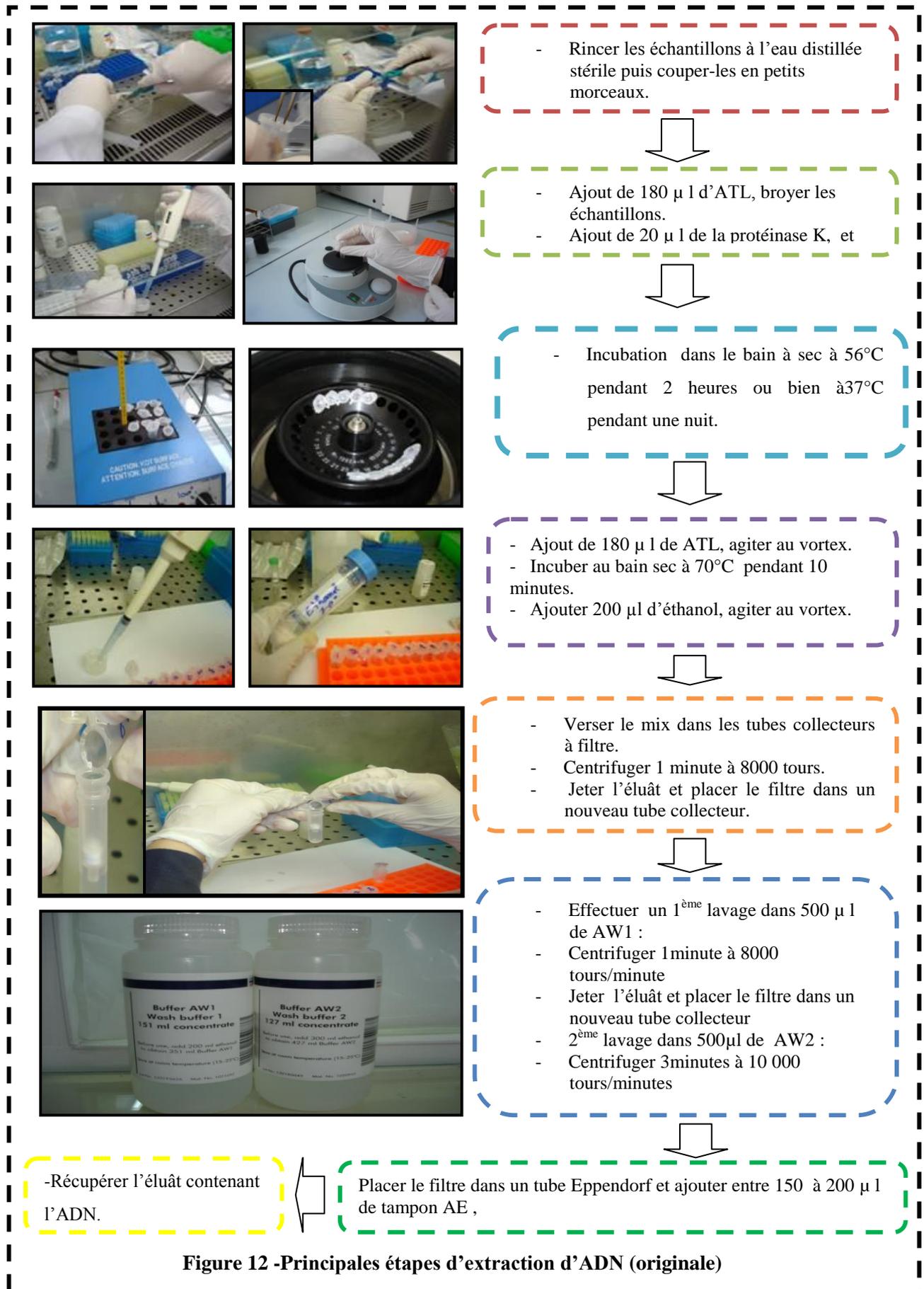
La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est une technique de la biologie moléculaire. Elle permet l'amplification *in vitro* des séquences d'ADN ou d'ARN, en utilisant essentiellement des amorces oligonucléotidiques spécifiques ou complémentaires à l'ADN ou l'ARN qui sera amplifiées et un ADN polymérase (taq polymérase).

Dans notre travail, nous avons-nous aussi recherché l'ADN des espèces de bactéries du genre *Rickettsia* spp., par l'utilisation d'une PCR en temps réel. La PCR en temps réel est basée sur la détection et la qualification d'un reporter fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la qualité d'amplicons générés pendant la réaction PCR. Etant donné qu'elle utilise généralement des systèmes en tubes fermés et que la quantification ne requiert aucune manipulation post- amplification, le temps d'analyse et les problèmes de contamination post-PCR par les amplicons sont significativement réduits. Le processus complet est automatisé du début à la fin rendent cette technologie très performante pour des applications d'analyses à grande échelle.

III.2.2.2.2.2. - Préparation du mix

La préparation du mix est une étape cruciale du diagnostic moléculaire. Elle doit être effectuée dans une pièce entièrement dédiée à cet usage, avec le port de gants, et dans des conditions aseptiques, sous une hôte biocap exempté de toute contamination (**Figure 13**). Le mix devra comprendre les réactifs qui sont cités dans le **tableau 3**.

Chapitre III – Matériel et méthodes



Chapitre III – Matériel et méthodes



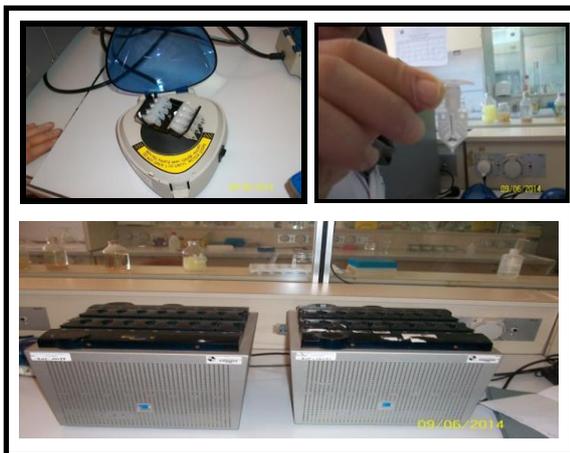
Le mix devra comprendre les réactifs

Produit	Rôle	Volume pour un échantillon
Master mix	Remplace le Kit	10 μ l
Primer 1	Le reverse et le foward	0.5 μ l
Primer 2		0.5 μ l
Sonde (Radioactive)	Détection du Pathogène	2 μ l
Eau distillée stérile	Pour l'équilibre	2 μ l
Total mix	-	15 μ l

La préparation du mix est une étape cruciale du diagnostic moléculaire, elle doit être effectuée dans une pièce entièrement dédiée à cet usage, avec le port de gants, et dans des conditions aseptiques, sous une hôte bio cap pour éviter toute contamination.

Chaque constituant du mix est multiplié par le nombre d'échantillons étudiés, 15 μ l de ce mélange sont distribués dans chaque tube de barrettes de 8 spécifiques à la PCR, avec 5 μ l de l'échantillon d'ADN à tester (issu de l'extraction) alors que :

- Témoin négatif : 5 μ l d'ADN négatif plus 15 μ l du mix
- Témoin positif : 5 μ l d'ADN positif avec 15 μ l du mix



Une centrifugation de quelques secondes, à l'aide des centrifugeuses adaptées au format des tubes de types « SmartCycler® professionnel » a été effectuée. Après cela, les tubes ont été placés dans deux blocs reliés au SmartCycler®, contenant chacun 16 compartiments indépendants.

Figure 13 –Préparation du mix

Chapitre III – Matériel et méthodes

Tableau 3 - Composant du mix (Mix Quantitect) de la PCR en temps réel

Réactif	Volume nécessaire pour un seul échantillon	Concentration finale
Master mix (2X)	10µl	1X
Sonde (2µM)	2µl	0,2µM
Amorce F forward (20µM)	0,5µl	0,5µM
Amorce R reverse (20µM)	0,5µl	0,5µM
H ₂ O	2µl	
Total mix	15µl	
Total avec ADN	20µl	

Chaque constituant de ce mix est multiplié par le nombre d'échantillons étudiés, puis 15 µl de ce mélange est distribué dans chaque tube Eppendorf PCR stériles (Annexe 1):

- **Témoin négatif:** 5µl d'ADN négatif plus 15 µl de mix dans un tube.
- **Témoin positif:** 5µl d'ADN positif plus 15 µl de mix dans un tube.
- **Echantillons:** 5µl d'ADN extrait ajouté à 15 µl du mix dans chaque tube.
- **Volume total:** 20µl par échantillons (les témoins ou les échantillons a analyser).

Une centrifugation de quelques secondes, à l'aide de centrifugeuse adaptées au format des tubes de type «SmartCycler professionnel» a été effectuée. Puis, les tubes ont été placés dans le SmartCycler.

III.2.2.2.2.3. - Amplification par SmartCycler

La PCR en temps réel utilisée est basée sur la technologie TaqMan mise en œuvre sur des prélèvements biologiques, elle utilise les sondes et amorces décrite dans le **tableau 4**.

Tableau 4 – Sonde et amorce utilisée en PCR en temps réel.

Organisme ciblés	Séquence ciblée	Amorce et Sonde	Séquence (5'-3')
<i>Rickettsia</i> spp. Spotted fever group	<i>gltA</i>	RKND03F	5'-GTG-AAT-GAA-AGAT-TAC-ACT-ATT-TAT-3'
		RKND03R	5'-GTA-TCT-TAG-CAA-TCA-TTC-TAA-TAG-C-3'
		RKND03S	6FAM-CTATTATGCTTGCGGCTGTCGGTTC

Après avoir préparé le mélange réactionnel en additionnant des sondes et des amorces (tableau4), ainsi que l'ajout des ADN de nos échantillons et du témoin positif, l'amplification est réalisée sur l'automate SmartCycler qui est couplé à un spectrofluorimètre qui est piloté

Chapitre III – Matériel et méthodes

par un ordinateur (Annexe 2) qui permet l'acquisition et le suivi en temps réel des données ainsi que leur traitement. Cet appareil présente l'avantage d'avoir 32 puits fonctionnant indépendamment les uns des autres, et permet de lancer différents PCR en même temps (**Figure 14**).

L'amplification comprend deux étapes:

1. Activation de la Taq polymérase: chauffage à 95° pendant 2 minutes.
2. Suivie de 40 cycles d'amplification de 75 sec chacun :

Dénaturation de l'ADN : 15sec à 95° C

Hybridation : 30sec à 60° C

Extension : 30sec à 72° C

La fluorescence émise par les sondes d'hydrolyse est mesurée lors de l'étape d'hybridation.

Les résultats obtenus sont exprimés en nombre de cycles de PCR, nécessaire pour que la quantité d'ADN amplifier soit suffisante, et que la fluorescence soit détectable. Ainsi plus la quantité d'ADN initial est faible plus le nombre de cycle de PCR nécessaire pour dépasser le seuil de fluorescence sera élevé, inversement.

III.3. – Méthodes d'exploitation des résultats

Les résultats obtenus sont traité par: la richesse totale et moyenne, l'abondance relative, les indices parasitaires et le test du Khi-deux.

III.3.1. – Richesse spécifique (ou totale)

D'après (**RAMADE, 1984**), la richesse totale symbolisée par **S** est le nombre total des espèces que comporte le peuplement pris en considération.

III.3.2. – Richesse moyenne

La richesse moyenne correspond au nombre moyen d'espèces présentes dans un échantillon du biotope (**RAMADE, 1984**)

Chapitre III – Matériel et méthodes

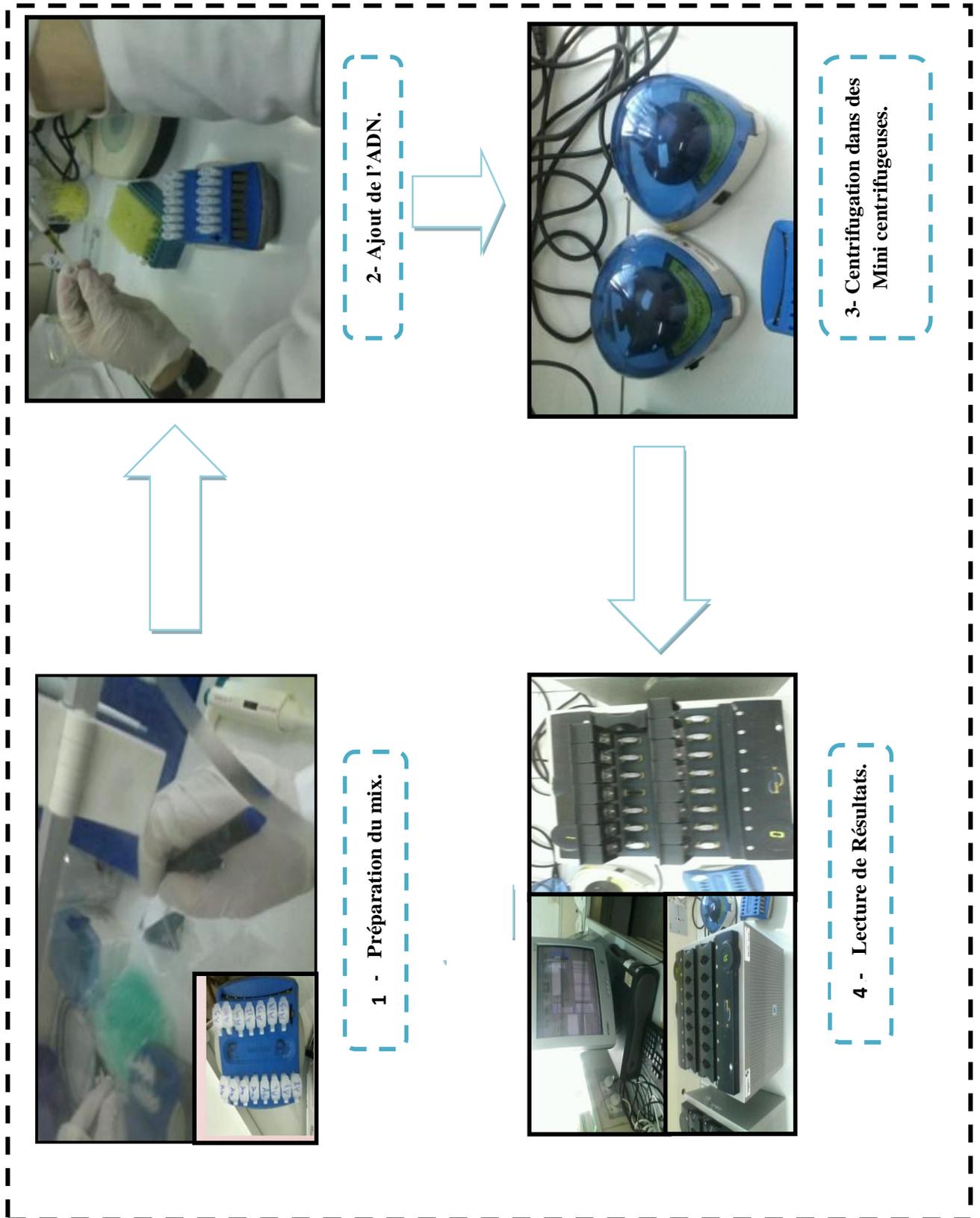


Figure 14 - Protocole expérimental de la PCR en temps réel.

Chapitre III – Matériel et méthodes

III.3.3. – Fréquence centésimale ou abondance relative

La fréquence F est le pourcentage des individus d'une espèce N_i par rapport au nombre totale des individus N (DAJOZ, 1975)

$$F (\%) = N_i/N*100$$

N_i : nombre des individus de l'espèce prise en considération

N : nombre total des individus de toutes les espèces

III.3.4. – Exploitation des résultats par les indices parasitaires

La prévalence est calculée, ainsi que l'abondance et l'intensité moyenne de tiques trouvées chez les bovins. Les indices parasitaires proposés par MARGOLIS et al. (1982) sont les suivant:

La prévalence (P) :

C'est le rapport en pourcentage du nombre d'hôtes infestés (N) par une espèce parasite.

$$P (\%) = N/H*100$$

L'abondance (A) :

Elle comprend au rapport du nombre total des individus d'une espèce parasite (n) au nombre total des individus examinés H

$$A = n/H$$

Intensité parasitaire (I)

Elle correspond au rapport du nombre total d'individus d'une espèce parasite (n) dans un échantillon d'hôtes au nombre d'hôtes infestés (N) dans l'échantillon.

$$I = n/N$$

III.3.5. – Emploi du test du Khi-2 (χ^2)

Selon SNEDECOR et COCHRAN (1971), le Khi-2 (χ^2) est l'une des distributions théoriques les plus utilisées en statistique. Le calcul de Khi-2 (χ^2) est calculé par logiciel R 3.0.2. Le Khi-2 (χ^2) représente la somme des rapports entre les carrés des écarts et les effectifs théoriques. Il est utilisé pour comparer les moyennes des espèces échantillonnées durant l'année 2014 et l'année 2015.

Chapitre IV - Résultats

Chapitre IV - Résultats

Les résultats sur l’inventaire des espèces de tiques qui parasitent les bovins sur deux sites (fermes d’élevage) dans la région de Bouzeguène entre 2014 et 2015, sont exploités par la richesse totale et moyenne; par l'abondance relative; par les indices parasitaires et une analyse de statistique par le test de Khi-deux. Nous présenterons ici aussi les résultats de la PCR en temps réel.

IV.1. - Résultats de l’inventaire des tiques dans la région d’étude durant 2 ans, 2014

2015

Les espèces inventoriées sont le résultat des sorties effectuées au cours de 5 mois (du mois de Janvier au mois de Mai en 2014 et en 2015). Pour l’année 2015, nous avons capturé 36 individus répartis en ordre des Ixodida, famille des Ixodidae.

Pour l’année **2014 (LARBI K, BOUIZEGARENE S., 2014)**, 54 individus ont été prélevés. Ils font partie du même ordre et famille des espèces capturées durant l’année 2015. Le **tableau 5** regroupe les différentes espèces recensées lors de l’échantillonnage sur nos terrains d’étude.

Tableau 5 – Liste des espèces inventoriées dans la région de Bouzeguène durant l’année 2014 et l’année 2015.

Ordre	Famille	Espèces	Année 2014	Année 2015
Ixodida	Ixodidae	<i>Hyalomma marginatum marginatum</i>	+	+
		<i>Hyalomma detritum</i>	+	+
		<i>Hyalomma</i> sp.*	+	+
		<i>Rhipicephalus bursa</i>	–	+
		<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	+	+
		<i>Rhipicephalus</i> sp.*	+	+
		<i>Boophilus</i> sp.**	–	+
		<i>Ixodes ricinus</i>	+	–
		<i>Ixodes</i> sp.*	+	–

** : Nymphes; * : Femelle gorgée

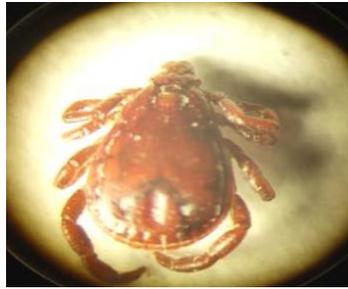
L’inventaire effectué dans la région de Bouzeguène durant l’année 2014 et 2015 a révélé l’existence de 09 espèces. Elles font toutes parties de l’ordre des Ixodida (Tab. 5) et de la famille des Ixodidae (**Figure 15**). Les tiques, qui ont été recensées durant les deux années d’étude sont : *Hyalomma marginatum marginatum*, *Hyalomma detritum*, *Hyalomma* sp, *Rhipicephalus sanguineus* et *Rhipicephalus* sp. Par contre, les espèces *Ixodes ricinus* et *Ixodes*

Chapitre IV - Résultats

spn'ont été échantillonnées que durant l'année 2014, mais pour *Rhipicephalus bursa* et *Boophilus* sp. sont présentes dans l'inventaire de cette année (2015).



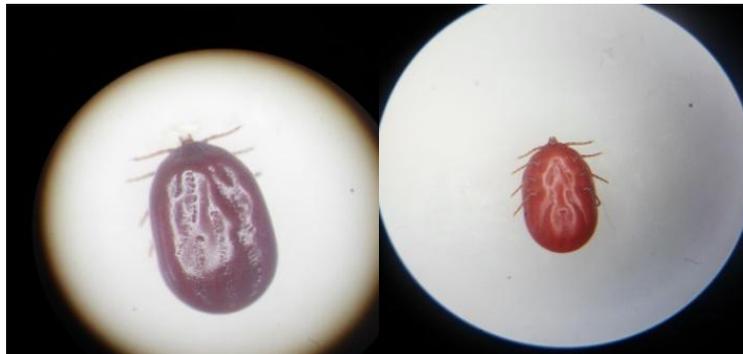
Rhipicephalus sp.



Rhipicephalus sanguineus



Rhipicephalus bursa



Boophilus sp.



Hyalomma marginatum



Hyalomma detritum



Hyalomma sp.

**Figure 15 - Les espèces de tiques recensées dans la région d'étude durant l'année 2015
(Photos originales)**

Chapitre IV - Résultats

IV.2. - Exploitation des résultats obtenus dans la région d'études

Durant la période d'échantillonnage, qui s'est étendue sur 05 mois, nous avons utilisé la méthode de capture manuelle à l'aide d'une pince afin de prélever les tiques sur les bovins. Les résultats concernant les tiques échantillonnées dans la région de Bouzeguène sont exploités à l'aide de la richesse totale et moyenne, l'abondance relative et les indices parasitaires.

IV.2.1. - Expression des résultats par la richesse totale et moyenne des espèces de tiques récoltées dans la région d'étude durant les années 2014 et 2015

Les résultats concernant les tiques échantillonnées dans la région de Bouzeguène sont exprimé par la richesse totale et moyenne et l'abondance relative. Les valeurs des richesses totales (S) et la moyenne (Sm) des espèces de tiques échantillonnées durant les années 2014 et 2015 sont mentionnées dans le tableau 6.

Tableau 6 - Richesse totale et moyenne des espèces des tiques capturées durant les années 2014 et 2015 dans la région de Bouzeguène

	Année 2014	Année 2015
Richesse totale (S)	7 espèces	7 espèces
Richesse moyenne (Sm)	1,4 espèce	1,4 espèce

La richesse totale des espèces de tiques collectées dans la région de Bouzeguène durant l'année 2014 est égale à celle de l'année 2015. Elle est de 7 espèces avec une richesse moyenne de 1,4 espèce (Tableau 6).

IV.2.2. - Fréquences centésimales de différentes espèces de tiques récoltées dans la région de Bouzeguène

La répartition des espèces capturées à la main, dans la région de Bouzeguène durant les années 2014 et 2015 en fonction des espèces, sont regroupées dans le **tableau 7** et représentée sous forme de graphe (**Figure 16 et 17**).

Chapitre IV - Résultats

Tableau7 - Fréquences centésimales des différentes espèces des tiques récoltées dans la région de Bouzeguène durant l'année 2014 et l'année 2015.

Espèces	Année 2014		Année 2015	
	Nbr d'individus	AR %	Nbr d'individus	AR %
<i>Hyalomma marginatum marginatum</i>	20	37,03%	5	13,88%
<i>Hyalomma detritum</i>	8	14,81%	1	2,77%
<i>Hyalomma sp.</i>	2	3,70%	2	5,55%
<i>Rhipicephalus bursa</i>	-	-	1	2,77%
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	4	7,40%	8	22,22%
<i>Rhipicephalus sp.</i>	1	1,85%	2	5,55%
<i>Boophilus sp.</i>	-	-	17	47,26%
<i>Ixodes ricinus</i>	15	27,81%	-	-
<i>Ixodes sp.</i>	4	7,40%	-	-
Total	54	100%	36	100%

Le tableau ci-dessus montre que les abondances relatives des espèces de tiques récoltées dans la région de Bouzeguène durant l'année 2015 varient entre 2,77 % à 47,26 %. C'est l'espèce *Boophilus sp.* qui est la plus échantillonnée, avec un pourcentage de 47,26 %, elle est suivie par *Rh. sanguineus*, avec 22,22 %, puis l'espèce *Hyalomma sp.* (5,55 %); *Rhipicephalus sp.* (5,55 %), *H. d. detritum* (2,77 %) et *Rh. bursa* (2,77 %).

Pour l'année 2014, les abondances relatives varient entre 1,85 % à 37,03 %. *H. m. marginatum* est l'espèce dominante en abondance relative, avec un pourcentage de 37,03 %, suivie par *I. ricinus* avec 27,81%, vient ensuite l'espèce *H. d. detritum* (14,81 %), *Rh. sanguines* (14,81 %), puis *Ixodes sp.* (7,40 %), *Hyalomma sp.* (3,70 %) et *Rhipicephalus sp.* (1,85 %).

Chapitre IV - Résultats

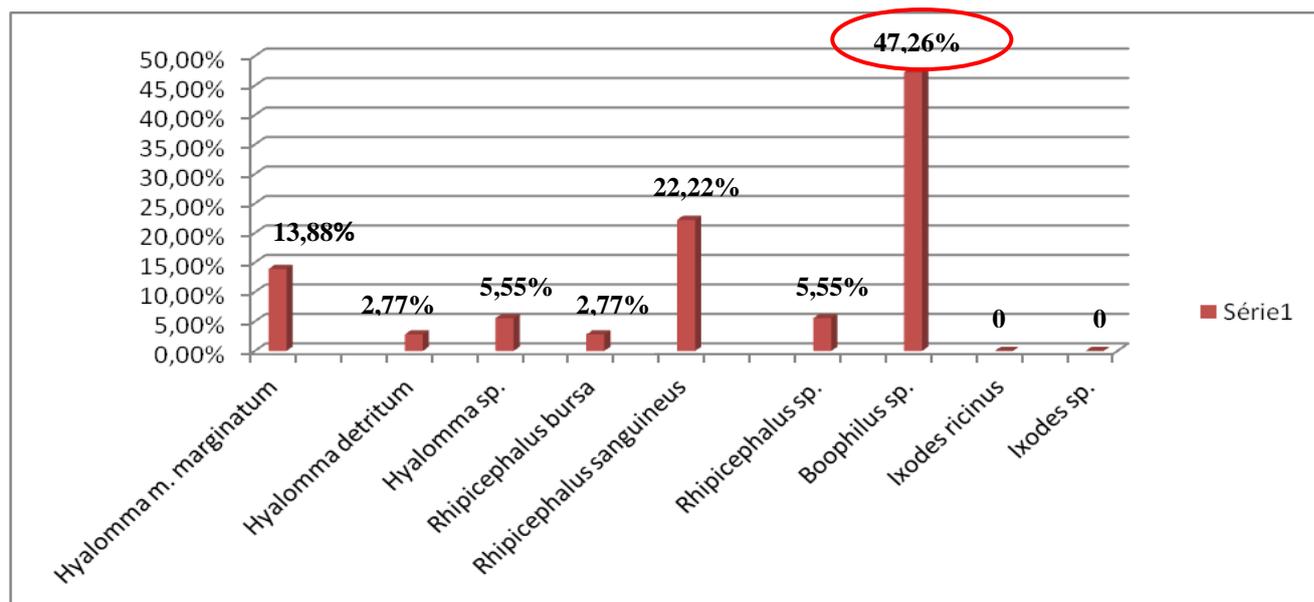


Figure 16 – Abondance relative des tiques dans la région de Bouzeguène durant l'année 2015

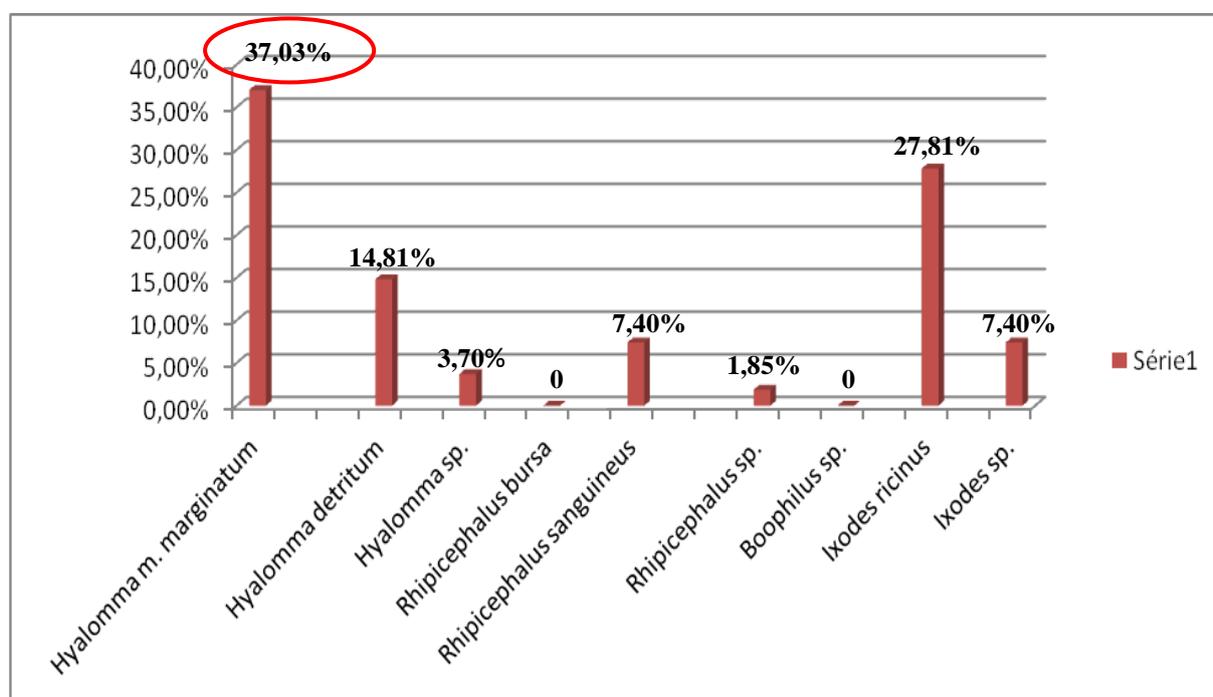


Figure 17 – Abondance relative des tiques dans la région de bouzeguène durant l'année 2014

Chapitre IV - Résultats

IV.2.3. – Exploitation des résultats par les indices parasitaires des espèces récoltées dans la région de Bouzeguène durant l'année 2015

Les résultats concernant les tiques échantillonnées dans la région de Bouzeguène durant l'année 2015 sont exploités à l'aide des indices parasitaires qui sont la prévalence (**P**), l'abondance (**A**) et l'intensité parasitaire (**I**). Les résultats sont mentionnés dans le **tableau 8**.

Tableau 8 - Résultats des indices parasitaires des différentes espèces de tiques récoltées dans la région de Bouzeguène durant l'année 2015.

	H Nombre total des individus	N Nombre d'individus infestés	n Nombre d'espèces parasites	P Prévalence	A Abondance	I Intensité parasitaire
Ferme1	11	7	2	63,6%	0,18	0,28
Ferme 2	09	7	4	77,8%	0,44	0,57
Ferme 3	14	4	2	28,6%	0,14	0,5
Ferme 4	17	3	1	17,6%	0,05	0,33
Ferme 5	13	6	2	46,1%	0,15	0,33
Total	64	27	7	42,2%	0,06	0,26

Le calcul des indices parasitaires montre que le taux d'infestation le plus élevé est enregistré dans la ferme 2 avec un pourcentage de 77,8%, par rapport à la ferme 1 qui enregistre seulement 63,6%, et le taux le plus bas est enregistré dans la ferme 4 avec un pourcentage de 17,6%.

En ce qui concerne l'intensité et l'abondance, les charges parasitaires les plus élevées sont observées dans la ferme 2, avec une valeur de 0,57 espèce parasite par individu infesté et 0,44 espèce parasite par individu examiné.

IV.2.4. – Résultat de l'analyse statistique par le Khi-deux

Pour une meilleure exploitation, nous avons procédé aux tableaux croisés/ test du Khi-2 (χ^2) en tenant compte des effectifs des espèces de tiques échantillonnées durant deux l'année 2014 et l'année 2015. Les résultats sont donnés dans tableau 9.

Tableau 9 – Tableau croisé/ test du Khi-2 (x 2) en fonction des effectifs des espèces durant deux années (l'année 2014 et l'année 2015)

Paramètres	Khi -2	Ddl	P
Totaux	52,78	8	1,191 ⁻⁸

Ddl : Degré de liberté; P: probabilité

Le test du khi-2 montre qu'il y a une différence très hautement significative entre les effectifs des espèces récoltées durant l'année 2014 et l'effectifs des espèces trouvées en 2015.(Tab. 9) (Khi-2 = 52,78; Ddl = 8; P < 0,050).

Chapitre IV - Résultats

IV.3. - Résultats de la PCR en temps réel

La PCR est un bon outil moléculaire pour l'identification des genres de bactéries. Lors de l'analyse par PCR, les résultats se sont révélés positifs, c'est-à-dire que l'ADN est détecté directement, dont les Primers utilisés sont spécifiques pour la bactérie (*Rickettsia*). Pour la réalisation de la PCR, nous avons examiné 03 espèces de tiques qui sont *Rh. sanguineus*, *Rh. turanicus* et *H. d. detritum*. Nous avons codé les échantillons pris en considération en fonction de leur lieu de prélèvement, du sexe de l'individu et de la date d'échantillonnage. Nous avons recherché la présence de genre *Rickettsia* sp., en utilisant les primers *gltA* spécifique pour le genre *Rickettsia*. Les résultats sont regroupés dans le **tableau 10** et représentés sous forme d'un graphique (**Figure 18**).

Tableau 10 -Liste des échantillons pris en considération lors de la PCR en temps réel

N°	Espèces	Sexe	Fermes	Date de capture	Test à <i>Rickettsia</i>	
					Résultat	CT*
01	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Mâle	Kassali	09-mai-2014	positif	36,65
02	<i>Hyalomma m.marginatum</i>	Mâle	Ammi	25-mai-2014	négatif	00
03	<i>Hyalomma. d. detritum</i>	Mâle	Kassali	09-mai-2014	positif	24,02

* CT : de l'anglais Cycle Threshold pour « cycle du seuil », les valeurs en X (en nombre de cycles) de ces intersections

Les résultats positifs portent sur l'espèce *Rhipicephalus sanguineus* et l'*Hyalomma detritum detritum* présente dans la ferme Kassali de la région de Bouzeguène, tique vectrice de la *Rickettsia* ; et pour l'espèce *Hyalomma m. marginatum* nous avons trouvé un résultat négatif dans la ferme Ammi.

Nous avons mis en évidence pour la première fois en Algérie (région de Bouzeguène, en Kabylie) de la présence de *Rickettsia* sp. portée par deux espèces de tique *Rhipicephalus sanguineus* et l'*Hyalomma detritum detritum*, qui avaient été détectées auparavant dans *Ixodes ricinus*.

Chapitre IV - Résultats

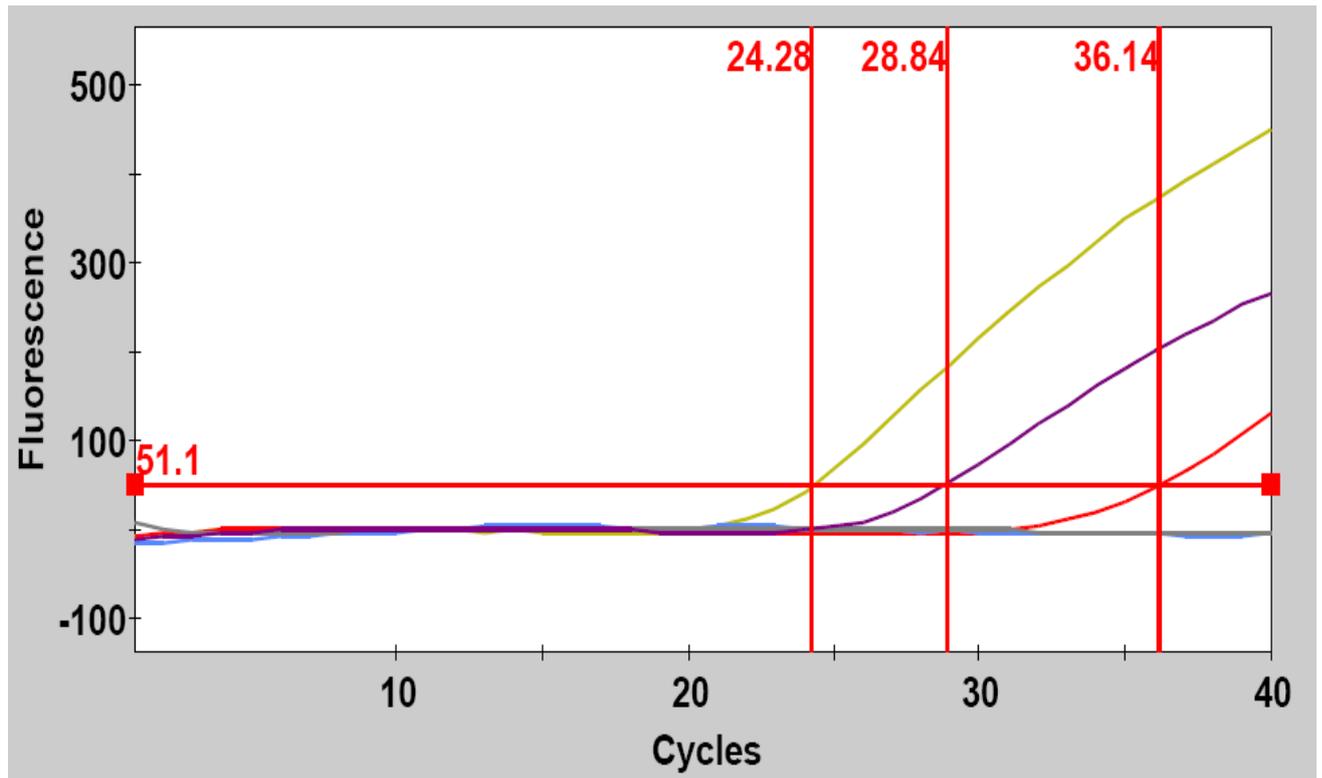


Figure 18 - Graphe des résultats de la détection de la bactérie *Rickettsia* par PCR en temps réel

L'amplification sous le seuil (la ligne droite) est identifiée comme bruit de fond, or la positivité du témoin positif est représentée par le premier tracé exponentiel au-dessus du seuil, tandis que les résultats positifs des échantillons analysés apparaissent après la première tracé. Les résultats sont mentionnés dans la figure 18 et le tableau 10.

Les tiques s'infectent en piquant un animal malade et restent infestées toute leur vie par la transmission trans-stadiale. Les tiques transmettent l'infection à leur descendance par voie trans-ovarienne. Les prochaines générations jouent ainsi un rôle important dans la conservation des *Rickettsia* sp. (BITAM et al, 2012). Chez l'homme, *Rickettsia* sp. est transmise lors d'une piqûre de tique par l'injection de salive infectée. Ce sont des tiques aux stades immatures (larve et nymphe) de *Rh. sanguineus* qui piquent plus souvent.

Plusieurs facteurs conditionnent l'infection par les tiques telles que la prévalence des tiques infectées dans la région, l'affinité de la tique pour l'animal et l'homme, la durée d'attachement de la tique.

L'infection des tiques par les *Rickettsia* peut être sans conséquence dans certain cas, en revanche dans d'autres, elle peut entraîner une forte mortalité.

Chapitre V – Discussion des résultats

Chapitre V – Discussion des résultats

L'inventaire des espèces de tiques qui parasitent les bovins dans 04 fermes de la région de Bouzeguène pour l'année 2014 et l'année 2015, nous a permis d'obtenir des données via la méthode de la richesse totale et moyenne; par l'abondance relative; par les indices parasitaires et une analyse de la variance. Les résultats de la PCR en temps réel nous apportent également un certain nombre de résultats.

V.1. – Discussion sur l'inventaire des tiques dans 04 fermes de la région de Bouzeguène durant l'année 2014 et l'année 2015

L'inventaire global effectué dans la région d'étude durant l'année 2014 et l'année 2015 a révélé l'existence de 9 espèces de tiques réparties en famille des Ixodidae (*H. m. marginatum*, *H. d. detritum*, *Hyalomma* sp, *Rh. bursa*, *Rh. sanguineus*, *Rhipicephalus* sp, *Boophilus* sp, *I. ricinus*, *Ixodes* sp). Il existe, sur les 2 années de prélèvement, des espèces communes, mais aussi des espèces absentes durant l'année 2014 mais présentes durant l'année 2015 et inversement. Cela peut s'expliquer premièrement par la différence d'altitude entre les différentes stations d'étude sachant que l'altitude des fermes de l'année 2014 culmine à 1.200m, alors que celles de 2015 se trouvent qu'à 800m. De plus, nous pouvons pointer la différence concernant l'état des étables. En 2015, les étables dans les fermes dans lesquelles nous avons fait nos échantillons de tiques sont modernes, par contre les étables des fermes de l'année 2014 étaient traditionnelles. Un autre paramètre qui pourrait justifier cette différence, c'est que les bovins de l'année passé étaient tous le temps à l'extérieur (pâturages dans la forêt d'Akfadou) par contre, en 2015, les tiques récoltées ont été prélevées sur des bovins qui se trouvaient tout le temps confinés dans leurs fermes respectives.

Les résultats de notre inventaire concorde avec les résultats de **KERNIF et al., (2009)** sur une étude faite en Algérie de 2001 à 2009, où ils ont pu identifier toutes les espèces trouvées que nous-mêmes avons aussi trouvées dans la région de Bouzeguène (en Kabylie). Cependant, les travaux de **BOULKABOUL, (2003)** sur les bovins à Tiaret et **BENCHIKH-ELFEGOUN et al., (2007)** sur les bovins à Jijel, ont pu identifier d'autres espèces (*Dermacentor marginatus* et *Haemaphysalis punctata*) que nous, nous ne retrouvons pas dans les individus prélevés de notre étude, ceci probablement à cause de la courte période d'échantillonnage effectuée.

Chapitre V – Discussion des résultats

V.2. – Discussion sur les résultats obtenus dans la région d'étude durant l'année 2014 et l'année 2015.

V.2.1. – Richesse totale des espèces collectées à Bouzeguène chez des bovins durant les années 2014 et 2015

HAUTIER et al., (2003) définissent la richesse comme le nombre d'unités systématiques présentes dans un écosystème donné. L'évaluation de cette dernière montre qu'elle est différente. La richesse totale des espèces des tiques collectées s'élève à 7 espèces durant l'année 2014, et idem pour le nombre pour l'année 2015. Une valeur proche signalée par **BOUHOUS, et al., (2008)** dans le sud Algérien, région d'Adrar dans son étude sur l'Ixodidae chez le dromadaire avec un richesse totale de 9 espèces. La même valeur (9 espèces) est signalée par **LAAMRI et al., (2012)** durant leur étude sur l'identification et la biogéographie des tiques parasites des bovins dans la région du Gharb-Chrarda-Beni Hssen (Maroc). **BENCHIKH-ELFEGOUN et al., (2007)** ont signalé une valeur de richesse totale de seulement 5 espèces durant son travail sur l'identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de Taher (Jijel).

V.2.2. – Richesse moyenne des espèces de tiques collectées à Bouzeguène sur des bovins durant les années 2014 et 2015

La richesse moyenne des espèces de tiques collectées dans la région d'étude est 1,4 espèce pour les deux années 2014 et 2015. Une valeur de richesse basse élevée est signalée par **BENCHIKH-ELFEGOUN et al., (2007)** dans la région de Jijel qui est égale à 0,21 espèce, une richesse moyenne égale à 0,67 espèce était trouvé dans une étude faite par **BOULKABOUL (2003)**, sur le parasitisme des tiques (Ixodidae) des bovins à Tiaret.

V.2. 3. – Fréquences centésimale de différentes espèces des tiques récoltées à Bouzeguène sur deux années 2014 et 2015.

Les fréquences centésimales des différentes espèces des tiques récoltées dans la région de Bouzeguène en Kabylie par la capture à la main durant l'année 2015 varient entre 2,77% et 47,26 %. Ce sont les *boophilus* sp qui dominent en abondance relative, avec un pourcentage de 47,26%, ils sont suivis par les *Rh. sanguineus*, avec 22,22%, puis l'espèce

Chapitre V – Discussion des résultats

Hyalomma sp et *Rhipicephalus* sp Avec 5,55%, et enfin *H. d. detritum* et *Rh. bursa* avec 2,77%. Et pour l'année 2014, les abondances relatives varient entre 1,85% et 37,03%.

Hyalomma m. marginatum sont les espèces dominantes en abondance relative, avec un pourcentage de 37,03 %, sont suivis par les *I. ricinus* avec 27,81%, ensuite l'espèce d'*H. d. detritum* avec un pourcentage de 14,81%, *Rh. sanguines* et *Ixodes* sp avec 7,40% puis *Hyalomma* sp avec 3,70% et les *Rhipicephalus* sp 1,85 %. Par contre, une étude réalisée par **BOULKABOUL (2003)** sur le parasitisme des tiques (Ixodidae) chez des bovins à Tiaret montrait des abondances variant entre 0,08% et 25,84%, *Rh. bursa* étaient les espèces dominantes en abondance relative avec un pourcentage de 25,84%, suivis par l'espèce *H. lusitanicum* avec un pourcentage de 22,02%. L'abondance la plus faible enregistrée est chez l'espèce *I. ricinus* avec un pourcentage de 0,08%. Par ailleurs, **BENCHIKH-ELFEGOUN et al., (2007)**, dans une recherche sur l'identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de Taher (Jijel), ont trouvé des abondances relatives variant entre 80% et 2,5%, *B. annulatus* était l'espèce la plus abondante avec un pourcentage de 80%, suivis par l'espèce *Rh. bursa* avec un pourcentage de 10% et *H. lusitanicum* avec un pourcentage de 5%, enfin l'espèce *Rh. turanicus* et *H. d. detritum* avec un pourcentage de 2,5% chacun.

V.3. – Discussion sur les résultats obtenus par les indices parasitaires

Le calcul des indices parasitaires montre que le taux d'infestation le plus élevé est enregistré dans la ferme 2 avec un pourcentage de 77,8% et la ferme 1 avec 63,6%, et le taux le plus bas est enregistré dans la ferme 4 avec un pourcentage de 17,6%.

En ce qui concerne l'intensité et l'abondance, les charges parasitaires les plus élevées sont observées dans la ferme 2, avec une valeur de 0,57 espèce parasite par individu infesté et 0,44 espèce parasite par individu examiné. De même, **BOULKABOUL (2003)**, dans son étude sur le parasitisme des tiques (Ixodidae) des bovins à Tiaret, a trouvé sur la base d'infestation que trois espèces avait une présence dominante sur les bovins : l'espèce de *H. excavatum* et *H. m. marginatum* avec un taux d'infestation de 13%, en seconde position l'espèce *Rh. bursa* avec un taux d'infestation de 11% et le taux d'infestation le plus faible était enregistré chez l'espèce *H. d. detritum* avec un pourcentage de 3%. Dans une autre étude, **BENCHIKH-ELFEGOUN et al., (2007)** durant leurs travaux sur l'identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de Taher (Jijel), montrait une évaluation du taux

Chapitre V – Discussion des résultats

de l'infestation des tiques chez les bovins en fonction de l'espèce de tique et présentait des conclusions où une large prévalence était représentée par *B. annulatus* (79,96%). La prévalence de l'infestation des animaux par les autres espèces de tiques est moins importante: *Rh. bursa*(9,35%), *Rh. turanicus* (2,64%), *H. lusitanicum* (5,48%), *H. d. detritum*(2,55%).

V.4. – Discussion sur les résultats de la PCR en temps réel

Cette étude démontre et confirme l'existence des germes pathogènes rickettsiales dans la région de Bouzeguène en Kabylie. Dans une étude qui a été effectuée par **KERNIF et al. (2012)**, à l'aide des *Ixodes ricinus* provenant de bovins de Tizi-Ouzou et *Dermacentor marginatus* recueillies sur la végétation de la région de Blida, deux régions situées dans le nord de l'Algérie. Les résultats de-PCR quantitative en temps réel spécifique d'une séquence partielle du gène du citrate synthèse (*gltA*) indiquaient que *Rickettsia* spp. étaient présentes dans 11/23 (48%) et 4/9 (44%) des tiques examinées de Tizi Ouzou et Blida, respectivement. Les séquences de *Rickettsia helvetica* et *Rickettsia. monacensis* ont été trouvées dans les tiques *I. ricinus* en utilisant des amorces *gltA*. En outre, *Rickettsia slovacica* a été détectée sur la base des séquences de la *gltA* et les gènes des protéines de la membrane externe (*OmpA*) de *D. marginatus*. Le séquençage d'ADN pour identifier les espèces de tique révèle pour la première fois la présence de *R. helvetica* dans des tiques *I.s ricinus* et *R. slovacica* dans *D. marginatus*, et a confirmé la présence de *R. monacensis*.

Dans une autre étude **KERNIF et al., (2012)** ont recueilli les tiques de chameaux dans 4 régions du sud de l'Algérie (El Oued, Béchar, Ghardia et Adrar) de Février à Octobre 2008 et en Avril 2011. Un total de 307 tiques représentant de multiples espèces (y compris *Hyalomma dromedarii*, *Hyalomma marginatum rufipes*, *Hyalomma impeltatum*, et *Hyalomma impressum*), a été testé pour la présence d'ADN de rickettsies du groupe de la fièvre pourprée utilisant GLTA-PCR en temps réel quantitative. La présence de *aeschlimannii Rickettsia* a été confirmée avec une nouvelle PCR quantitative utilisant des espèces-spécifiques des amorces et des sondes Taqman basée sur les gènes *sca2*. La séquence *R. aeschlimannii* a en outre été confirmée par la détection des gènes *gltA* et la protéine de la membrane externe (*ompA*) dans *H. m. rufipes*, *H. impeltatum*, et *H. dromedarii*. Ces résultats représentent le premier rapport de la détection de *R. aeschlimannii* dans les tiques recueillies auprès des chameaux du sud de l'Algérie.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La réalisation de cet inventaire comparatif des tiques collectées sur les bovins dans la région de Bouzeguene a permis de mettre en avant plusieurs observations pertinentes dans le domaine entomologique.

Nous avons commencé par réaliser notre propre inventaire lors des cinq premiers mois de l'année 2015. Ce dernier a pu mettre en évidence sept espèces de tiques de la famille Ixodidae : *Hyalomma marginatum marginatum*, *Hyalomma detritum detritum*, *Hyalomma* sp., *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus* sp. et *Boophilus* sp. Nous avons par la suite comparé nos résultats avec ceux retrouvés dans la même région de Bouzeguene mais sur un autre site à plus haute altitude par rapport à le notre. Par conséquence, nous avons observé la présence des espèces *Ixodes* dans leur site ; cependant, nous avons constaté l'absence des deux espèces *Rh. bursa* et *Boophilus* sp.

La différence de résultats entre ces deux années peut s'expliquer par la différence d'altitude des stations d'étude ou aussi la différence entre les types d'étables. En 2015, nous avons pu échantillonner dans des étables de fermes modernes par contre les étables de fermes de l'année 2014 étaient traditionnels. Ceci s'explique par le fait que les bovins de l'année passée sont la majorité du temps en pâture (forêt d'Akfadou). Tandis que ceux de cette année sont en stabulations.

La richesse totale des espèces de tiques collectées dans la région de Bouzeguène durant l'année 2014 qui est la même à celle de l'année 2015, sept espèces avec une richesse moyenne de 1,4 espèces. Les abondances relatives des espèces de tiques récoltées dans la région de Bouzeguene durant l'année 2015 qui varient entre 2,77% et 47,26 %. Ce sont les *Boophilus* sp. qui dominant en abondance relative, avec un pourcentage de 47,26%. Par contre, les abondances relatives varient entre 1,85% et 37,03% en 2014. Et c'est plutôt *Hyalomma m. marginatum* qui est l'espèce dominante en abondance relative, avec un pourcentage de 37,03%.

Le calcul des indices parasitaires pour l'année 2015 montre que le taux d'infestation le plus élevé est enregistré sur la ferme 2 avec un pourcentage de 77,8% et la ferme 1 avec 63,6%. Par contre, le taux le plus bas est enregistré dans la ferme 4 avec un pourcentage de 17,6%.

En ce qui concerne l'intensité et l'abondance, les charges parasitaires les plus élevées sont observées dans la ferme 2, avec une valeur de 0,57 espèce parasite par individu infesté et 0,44 espèce parasite par individu examiné.

Conclusion et perspectives

Après analyse des ADN des tiques collectées en 2014 pour la détection des *Rickettsia* avec le gène *gltA* avec PCR en temps réel, nous avons confirmé la présence de *Rickettsia* sp dans deux espèces de tiques *Rh. sanguineus* et *H. d. detritum*. Cette détection est considérée comme une deuxième après celle faite en 2010 sur des espèces *I. ricinus*. Cela démontre la présence des rickettsies dans différentes espèces de tiques dans cette région et le risque accru de transmission de ces agents pathogènes à l'Homme.

Pour faire suite à notre étude, plusieurs axes de travail peuvent être envisagés comme perspectives. Dans un premier temps, il serait intéressant d'élargir l'étude vers d'autres différents sites de notre région et les régions avoisinantes afin d'augmenter le nombre d'échantillonnage pour renforcer nos hypothèses sur l'influence de l'altitude et autres facteurs. Ces recherches peuvent aussi contribuer à améliorer nos connaissances sur la systématique et la bio-écologie des tiques, et de nous procurer une alternative prophylactique. L'émergence préjudiciable des bactéries pathogènes transmises par des vecteurs comme les tiques est un défi mondial de sécurité sanitaire qui peut être minimisé à condition qu'un certain nombre de mesures soient respectées:

Le développement des méthodes rapides et efficaces de détection des pathogènes dans les tiques comme le Maldi-tof ;

Etablir des réseaux d'alerte et/ou d'épidémio-vigilance, des laboratoires spécialisés et des outils de dépistage de maladies émergentes par vecteur comme les tiques;

Des enquêtes entomologiques permettront une meilleure compréhension de la fièvre boutonneuse à tiques et aidera à mettre en évidence les aspects épidémiologiques des rickettsioses en Algérie;

Enfin, améliorer les mesures de protection, les risques d'exposition aux tiques et la dynamique de ces maladies endémiques émergentes et ré-émergentes dans nos régions.

Références bibliographiques

1. **ACHA H, WRAITH DC, MCDEVITT HO, STEINMAN L., 1989** - T cell recognition as the target for immune intervention in autoimmune disease. *Cell.*, 57(5):709-15.
2. **AUBRY-ROCES M., BEAUVALLET Y., COCQUELIN A., FARRET D., FOURNAUD C., HUANG M., LECLERCQ L., POULAIN P. et RACAPE J., 2001** - Lutte contre les ectoparasites et agents nuisible au milieu hospitalier. Guide de bonne pratique. *Centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales de l'inter région Paris nord. CCLIN Paris Nord,*
3. **BAGNOULS F. et GAUSSEN H., 1953** - Saison sèche et indice xérothermique. *Bull. soc. Nat. De Toulouse*, P 293
4. **BEAU, C., 2008** - *Les maladies transmises par les tiques : problématique de Santé publique en Alsace : histoire de frontières.* Mémoire, Ecole Hautes Etudes de Santé publique, Alsace, France, 80p.
5. **BENCHIKH-ELFEGOUN M.C., BENAKHLA A., BENTOUNSI B., BOUATTOUR A., PIARROUX R., 2007** - Identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de Taher (Jijel) Algérie. *Ann. Méd. Vét.*, 151: 209-214
6. **BITAM I., GERN L., RAIS O., ZINE C., KEMIHA A., BOUBIDI S. C., HARRAT Z., BELKAID M., 2002** - Inventaire des populations de tiques (Acarina, ixodidae) parasite des bovidae en Algérie. *Journée, organisé par la société Algérienne de médecine vétérinaire au palais de la culture en décembre.*
7. **BITAM I. KERNIF T, HARRAT Z, PAROLA P, RAOULT D (2009).** *First detection of Rickettsia aeschlimannii in Hyalomma aegyptium from Algeria.* *Clinical Microbiology and Infection.* Volume 15, Issue Supplement s2, pages 253–254.
8. **BITAM I, BESSAS A., ZAIDI S., KERNIF T., (2012).** Détection moléculaire des agents responsables des zoonoses vectorielles (rickettsies et bartonelles). In : 6eme Séminaire International de Médecine Vétérinaire, Constantine (ALG), 2012/11/18-17.
9. **BOUGARD M, LAMORIL J., (1998).** Biologie moléculaire en biologie clinique. I : *Méthodes.* Ed. Elsevier, Paris.P178.
10. **BOUHOUS A., AISSI M., HARHOURA K.H., 2008** - Etude des Ixodidae chez le dromadaire dans le sud algérien, région d'Adrar. *Ann. Méd. Vét.*, 152, 52-58
11. **BOULKABOUL A., 2003** - Parasitisme des tiques (*Ixodidae*) des bovins à Tiaret, Algérie. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 56 (3-4) : 157-162

Références bibliographiques

12. **BRAHMI K. 2001** – *Inventaire de la faune des Orthoptéroïdes dans la région de l'Akfadou (Bouzeguène)*. Mem. Ing. Inst. Nati. Agro., El Harrach, 299 p.
13. **C.R.E.A.D., (1987) C.R.E.A.D., 1987** - *Monographie de la commune de Bouzeguène*. Ed. Centre rech. écon. appl. Dév., Tizi Ouzou, 92 p.
14. **CASIER P., COMBES C., GUY B. G., GRAIN J., RAIBAUT A., 1998** - *Le parasitisme un équilibre dynamique*. Ed., Masson, Paris, Pp 53-56.
15. **CHEBINI F. 1987** – *Inventaire ornithologique et recherches sur la reproduction des mésanges du genre Parus dans trois stations de la forêt de l'Akfadou*. Thèse magister, Inst. Nati. Agro., El-Harrach, 70 p.
16. **DAJOZ R., 1975** – *Précis d'écologie*. Ed. Dunod, Paris, 549 p.
17. **DAJOZ R., 1979** - *Précis d'écologie*. Ed. Dunod, Paris, 434 p.
18. **DAJOZ R., 1982**- *Précis d'écologie*. Ed. Bordas. Paris. 503p
19. **DAJOZ R, 2000** - *Insectes and Forest environnement*. Paris, Ed. Lavoisier. 668p.
20. **DAJOZ.R, 2006** - *Précis d'écologie*. Ed. Bordas. Paris.630p.
21. **DJIOUA O., 2011** - *Inventaire des Formicidae dans quelques milieux forestiers et agricoles de la Wilaya de Tizi-Ouzou*. Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou, Pp31.
22. **EMBERGER L., 1952** - Sur le quotient pluviothermique. *C. R. Acad. Sc.*, 234: 2508-2510.
23. **EMBERGER L., 1955** - Une classification biogéographique des climats. *Université Montpellier. Série botanique, Fac. 7*: 3-47.
24. **FAURIE C., FERRA C., MEDORI P., DEVAUX J., HEMPTINNE J. L, 2003** - *Ecologie approche scientifique et pratique*. Ed. Lavoisier, Paris, 407 p.
25. **GUETARD M., 2001** - *Ixodes ricinus* Morphologie, Biologie, Elevage, Données bibliographiques. Thèse Doctorat Vétérinaire. université Paul Sabatier de Toulouse. 188p.
26. **HALLER, X., 1992** - *Méningoencéphalite à tiques. Les cas alsaciens, le point en 1991. Eléments épidémiologiques des départements de l'Est*. Thèse, Université Louis Pasteur, Strasbourg. 130p.

Références bibliographiques

27. **HAUTIER L., PATINY S., THOMAS-ODJO A., GASPARD C. 2003**- *Evaluation de la biodiversité de l'entomofaune circulante au sein d'associations culturelles au Nord Bénin*, Notes fauniques de Gembloux, n° 52 (2003) : 39-51.
28. **HORAK, GUGLIELMONE, ROBBINS, APANASKEVICH, PETNEY, ESTRADA-Pena, SHAO et BARKER, 2010**: The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa*, (2528):1-28.
29. **JOHN F., ABDALLA A., DANIEL G., RONEL P., BEN J. et MANS, 2012** - Nuttalliella namaqua (Ixodoidea: Nuttalliellidae): First Description of the Male, Immature Stages and Re-Description of the Female. 7: Pp 41-51.
30. **KERNIF T., DOUMANDJI S., BITAM I., 2009** - La dynamique des tiques (Acari-Ixodidae) en Algérie (2001- 2009). XIII^{ème} *journée nationale de parasitologie, mycologie, le 19 Novembre 2009 à l'institut pasteur d'Algérie, organisée par SAPMM.*
31. **KERNIF T., MESSAOUDENE D., OUAHIOUNE S., PAROLA P., RAOULT D., BITAM I., 2012** - Spotted fever group *Rickettsiae* identified in *Dermacentor marginatus* and *Ixodes ricinus* ticks in Algeria. *Ticks Tick Borne Dis.*(5-6): P380-1.
32. **KERNIF T., PAROLA P., YSSOUF A., SOCOLOVSCHI C., TEMMAM S., LAGADEC E., TORTOSA P., 2014** - First molecular detection of *Rickettsia africae* in ticks from the Union of the Comoros. *PARASIT VECTORS.* 22: 444p.
33. **KHIDAS K., 1997** – *Distributions et norms de selection de l'habitat chez les Mammifères terrestres de la Kabylie du Djurdjura.* Thèse Doctorat Etat Scien. Natu., Univ. Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 235 p.
34. **LAAMRI M, EL KHARRIM K, BELGHYTI D, MRIFAG R, BOUKBAL M., 2012** - Identification et biogéographie des tiques parasites des bovins dans la région du Gharb-Chrarda-Beni Hssen (Maroc). Doctorat Parasitologie Comparée, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail Maroc. Pp1-12.
35. **LARBI K, BOUIZEGARENE S., 2014** - *Inventaire des arthropodes parasites les animaux d'élevage et étude de quelques parasitoses bovines dans la région de Tizi-Ouzou (BOUZEGUENE et MEKLA).* Mémoire de master en biologie, spécialité parasitologie appliquée aux organismes animaux et végétaux, U.M.M.T.O. 76P.
36. **LOUNACI A., 2005** - *Recherches sur la faunistique, l'écologie et la biogéographie des macros invertébrées des cours d'eau de Kabylie (Tizi-Ouzou, Algérie).*Thèse de Doctorat d'état. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou, 209p.

Références bibliographiques

- 37. MARGOLIS, L., ESCH, G.W., HOLMES, J.C., KURIS, A.M. & SHAD, G.A., 1982** - The use ecological terms in parasitology (Report of an ad hoc committee of the American Society of Parasitologists). *J. Parasitol.*, **68**, 131-133.
- 38. MARVAL F., 2000** - Revue information scientifique, laboratoire Bio analytique-Riotton. Edition Unilabs.
- 39. MESSAOUDENE, (1989). MESSAOUDENE M., 1989** - *Etude dendroécologique et productivité de Q. canariensis Willd. Et de Q.afars Pomel dans les massifs de l'Akfadou et de Beni-Ghobri en Algérie*. Thèses de doctorat en sciences, université Aix-Marseille III, 124 p.
- 40. MOUHOUN S., 2008** - *Etude comparative d'impact des déchets ménagers sur certaines propriétés physicochimiques et microbiologiques du sol de deux décharges Boukhalfa et Ain El Hammam (Wilaya de Tizi-Ouzou, Algérie)*. Mémoire de Magistère en Biologie, Spécialité Biologie et Ecologie des populations et des communautés, U.M.M.T.O.153P.
- 41. MOULINIER C., 2002** - Parasitologie et mycologie médicale. Eléments de morphologie et de biologie. Editions Médicales Internationales. Pp635-674. (nombre de page totale du livre 796)
- 42. MUTIN G., 1977** - *La Mitidja, décolonisation et aspect géographique*. Ed. Office presse Universitaire, Alger. 606p.
- 43. OULD EL HADJ M D., 2004** – *Le problème acridien au Sahara algérien. Coléoptères (deuxième partie)*. Ed. Librairie Delagrave, Paris, fasc. 6, 229p.
- 44. PAROLA P et RAOULT D., 2001** - Ticks and tick-borne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Erratum in: Clin Infect*; 33(5):749.
- 45. PAROLA P, PADDOCK CD, SOCOLOVSCHI C, LABRUNA MB, MEDIANNIKOV O, KERNIF T, ABDAD MY, STENOS J, BITAM I, FOURNIER PE, RAOULT D.,(2013)** Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin Microbiol Rev*;26(4):657-702.
- 46. PEREZ-EID C, GILOT B., 1998** - Bio-écologie des tiques induisant les pathologies les plus importantes en France, 7^{ème} Colloque sur le Contrôle Epidémiologique des Maladies Infectieuses. Institut Pasteur de Paris - 29 mai. Pp 325–334.
- 47. PILLY (2003)**. Maladies infectieuses et tropicales. Agence 2M2. 656 pages.
- 48. RAMADE.F, 1984** - Elément d'écologie, Ecologie Fondamentale. Ed., Mc graw-hill, Paris, 397p.
- 49. RAOULT, (1991)**. Antimicrobial therapy of rickettsial diseases. *Antimicrob Agents Chemother.* 12 P:57-62.

Références bibliographiques

50. **RAOULT D., TISSOT DUPONT H., CARACO P., BROUQUI P., DRANCOURT M., CHARREL C., 1992** - Mediterranean spotted fever in Marseille, descriptive epidemiology and the influence climatic factors. *Eur., Jour., Epidemiol.*, 8(2):192-7
51. **RIZZOLI et al., (2014) RIZZOLI A., SILAGHI C., OBIEGALA A., RUDOLF I., HUBÁLEK Z., FÖLDVÁRI G., PLANTARD O., VAYSSIER-TAUSSAT M., BONNET S., SPITALSKÁ E., KAZIMÍROVÁ M., 2014** - *Ixodes ricinus* and Its Transmitted Pathogens in Urban and Peri-Urban Areas in Europe: New Hazards and Relevance for Public Health. *Front Public Health*, 1;2, P:251.
52. **RODHAIN F. et PEREZ-EID C., 1985** - Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Edition Maloine, Paris. Chapitre 15. p : 341-362.
53. **RODHAIN F et PEREZ C, 2002** - *Précis d'entomologie médicale et vétérinaire -notion d'épidémiologie des maladies à vecteurs-* Edit. Maloine, 458p.
54. **S.M.T.O., 2015** – Bulletin d'information météorologique. Station de la météorologie, Tizi Ouzou. 8P.
55. **SACCA 1984 SACCA L., 1984** - *Les tiques (Emblyommidae) parasites des bovins en république de Benin. Ed : agence de coopération culturelle et technique.* Thèse Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires, Dakar, Pp15-26.
56. **SAHIBI H. et RHALEM A., 2007** - Séroprévalence de *Theileria annulata* chez les bovins dans la région du Gharb, Sais et moyen atlas du Maroc. *World journal of biological research, Rev. Mond. Rech. Biol.*12p.
57. **SELTZER P., 1946** - Les climats de l'Algérie. *Trav. Inst. Met. Phys. Algérie, hors. Serie.*
58. **SNEDECOR G.-W. et COCHRAN W.-G., 1957** – *Methodes statistiques.* Ed. Association cood. tech. agri. (A.C.T.A.), Paris, 649 p.
59. **SOCOLOVSCHI C, DOUDIER B, PAGES F et PAROLA P., 2008** - Tiques et les maladies transmises à l'homme en Afrique; *Med. Trop., N.* 68: 119-113.
60. **STEWART P., 1969** - Quotient pluviométrique et dégradation de la biosphérique. *Bull. Doc. Hist. Nat. Agro. El Harrachi:* p24-25
61. **WALKER A.R., BOUATTOUR A., CAMICAS J.-L., ESTRADA-PEÑA A., I.G.HORAK., LATIF A.A., PERGRAM R.G. and PRESTON P.M., 2003** - Ticks of Domestic Animals in Africa : a Guide to Identification of Species. 227 pp.
62. **Google Earth, (2015)**

Annexe 1 : Reconstitution des solutions lyophilisées de la PCR en temps réel :

1-Hydrolyse de sondes :

Les sondes sont fournis sous forme lyophilisées, pour être utilisées, elles doivent être hydratées et à une concentration de **6nmol**, pour ce faire :

-une centrifugation du tube contenant la sonde à 10000 tours/minute, pendant 1minute est requise.

-par la suite 100µl d'eau distillée pure lui sont ajoutés.

-le tube est ensuite laissé pendant 15minutes à température ambiante pour bien agir il est ensuite vortexé pendant quelques secondes

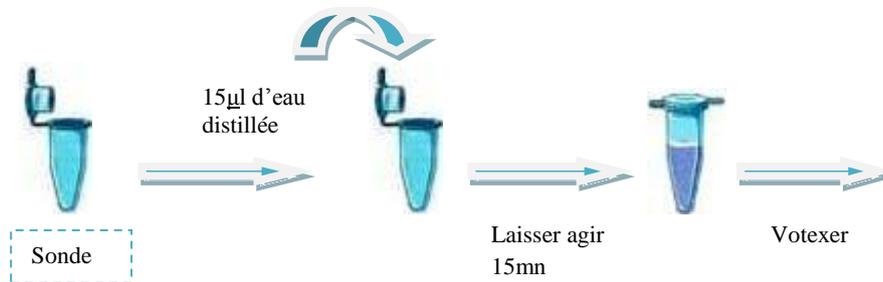


Figure I : Représentation des étapes d'hydrolyse de sonde lyophilisée

1.2. Hydrolyse des Amorces :

Les amorces sont aussi fournies sous forme lyophilisée, afin d'être utilisées dans le mélange réactionnel, elles doivent être hydratées, une solution mère à une concentration de **1nmol/µl** est alors obtenue comme suite :

- Une centrifugation à 10000 tours/minute pendant 1minute est effectuée.

- Suit de l'ajout de l'eau distillée pure au même volume que l'amorce.

- Les tubes sont ensuite laissés pendant 15minutes à température ambiante pour bien agir, et ensuite vortexé pendant quelques secondes.

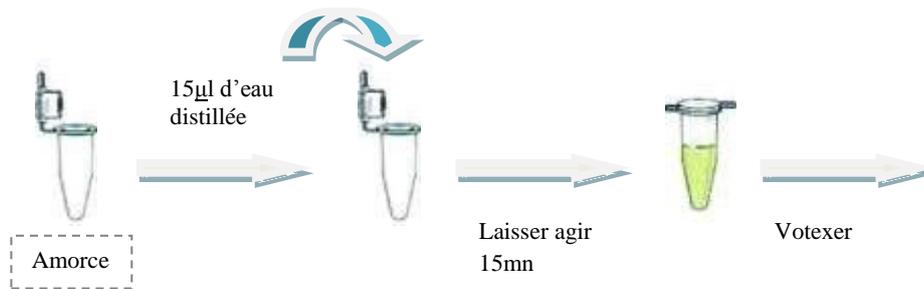


Figure II : Représentation des étapes d'hydrolyse d'amorces lyophilisée

2. Dilution de solution mère :

2.1. Reconstitution de la sonde :

Afin d'obtenir une dilution à **2 pmol/µl** : une dilution au **1/30** est effectuée cela signifie que **30 µl** de la sonde sont dilués dans **870 µl** d'eau distillée.

2.2. Amorce reconstituée (Perimer) :

Les deux amorces (Forward et Reverse) sont dilués au **1/50**, cela veut dire que pour **2 µl** de solution mère des amorces sont dilués dans **98 µl** d'eau distillée.

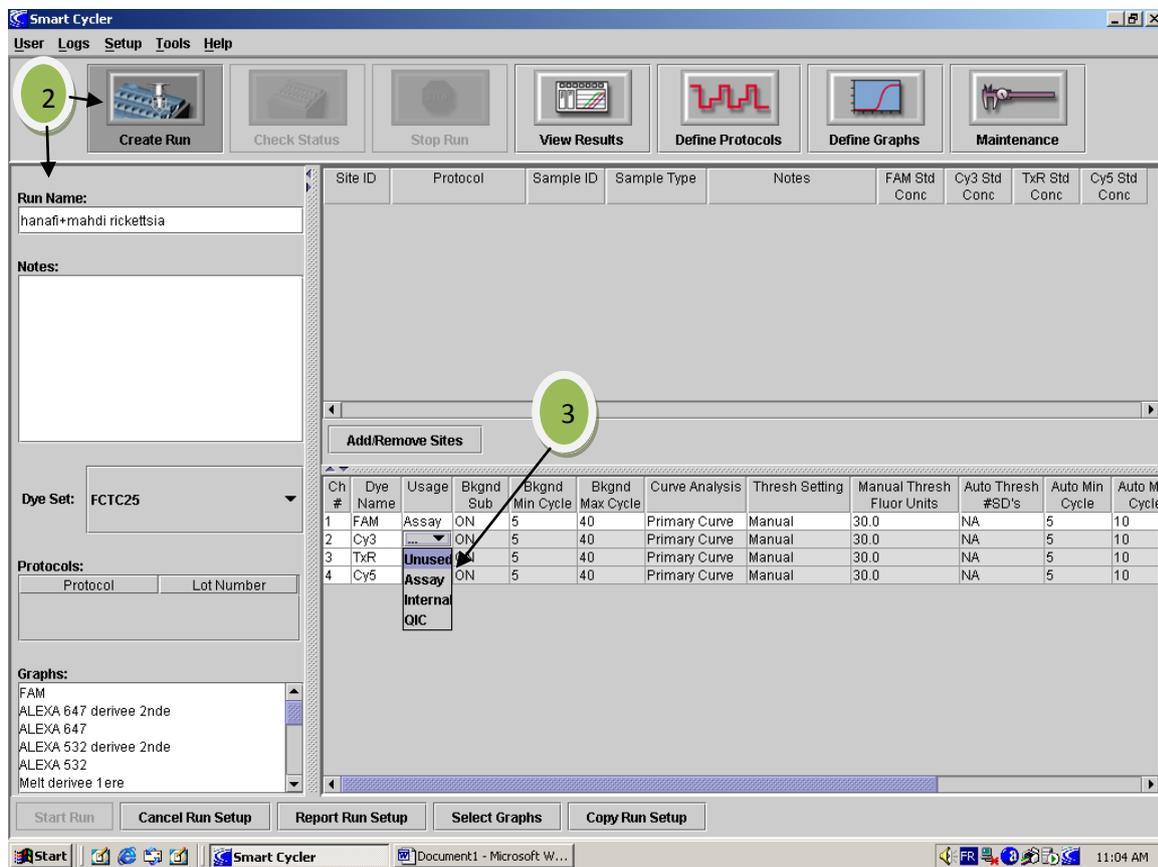
Annexe2 : programmation du SmartCycler

Le SmartCycler est programmé comme ceci :

1-allumer les blocs puis cliquer sur l'icône du programme « SmartCycler » installer sur le bureau de l'ordinateur, une connexion alors établie entre l'ordinateur et les blocs.

2- A l'aide d'une souris cliquer sur «Create Run » ceci permet de donner un nom au programme «Run Name », ex Mahdi Hanafi 21-05-2015.

3- Dans la partie «Usage » sélectionner uniquement le «FAM » conforme au type d'amorce quencher en le mettant sur **Assay**, et mettre le reste sur **unused**



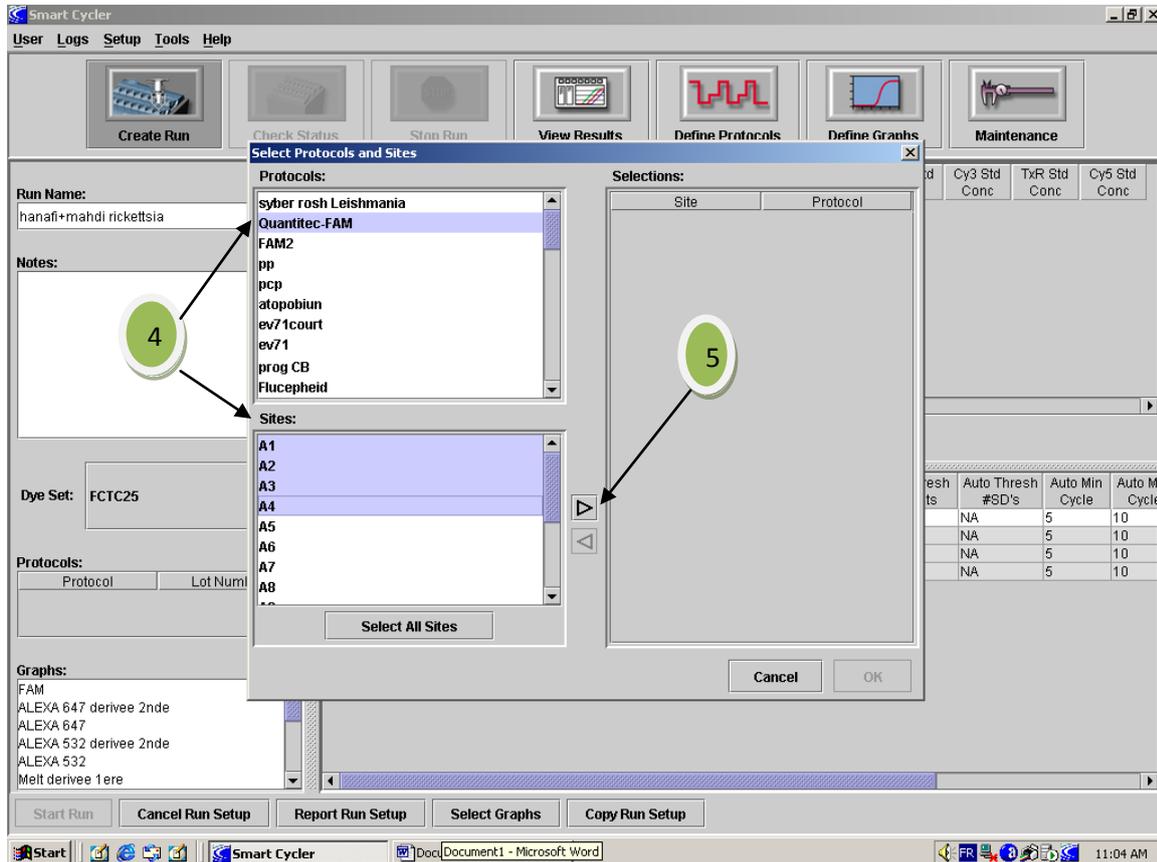
The screenshot shows the SmartCycler software interface. A green circle with the number '2' points to the 'Create Run' button in the top toolbar. Below the toolbar, the 'Run Name' field contains 'hanafi+mahdi rickettsia'. A second green circle with the number '3' points to the 'Usage' column in a table, where 'Assay' is selected for FAM and 'Unused' for Cy3, TxR, and Cy5.

Ch #	Dye Name	Usage	Bkgnd Sub	Bkgnd Min Cycle	Bkgnd Max Cycle	Curve Analysis	Thresh Setting	Manual Thresh Fluor Units	Auto Thresh #SD's	Auto Min Cycle	Auto M Cycle
1	FAM	Assay	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10
2	Cy3	Unused	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10
3	TxR	Unused	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10
4	Cy5	Unused	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10

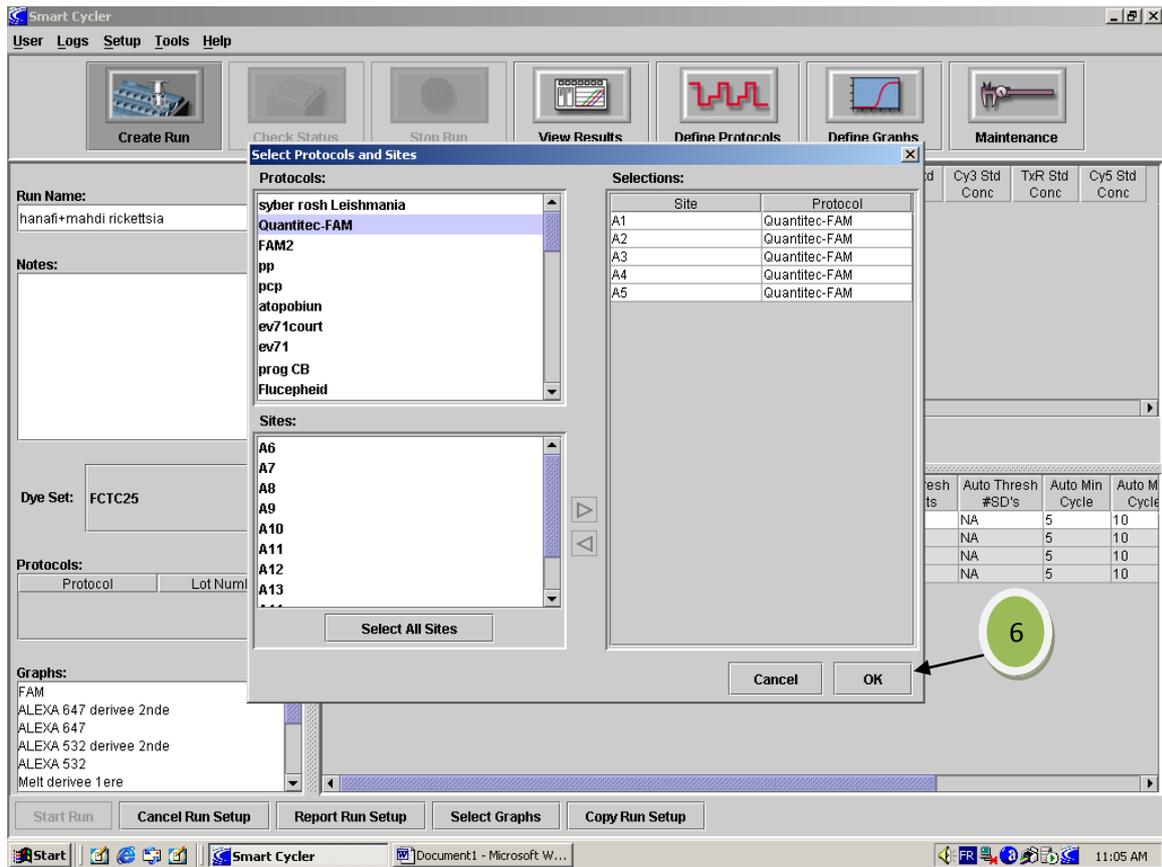
4- Cliquer sur «addRemovos Site», nous sélectionnons :

- Quantitec-FAM
- Ainsi que les sites des blocs contenant des échantillons à analyser

5- une fois sélectionné, cliquer sur le curseur



6- La page suivante apparait avec les différents échantillons sélectionnés réparties sur les différents sites des blocs, poursuivre en cliquant sur « OK » :



7- Insérer dans la partie « Sample ID » la codification des échantillons selon leurs code d'enregistrement, ne pas oublier le Témoin positif et le Témoin négatif.

8- vérifier que aucune erreur n'a été commises et que les lumières de chaque compartiment du bloque sont allumées, puis poursuivre en cliquant sur « Start run ».

The screenshot shows the Smart Cycler software interface. The 'Run Name' field contains 'hanafi+mahdi rickettsia'. The 'Sample ID' column in the table is highlighted with a green circle containing the number 7. The 'Start Run' button is highlighted with a green circle containing the number 8.

Site ID	Protocol	Sample ID	Sample Type	Notes	FAM Std Conc
A1	Quantitec-FAM		UNKN		
A2	Quantitec-FAM		UNKN		
A3	Quantitec-FAM		UNKN		
A4	Quantitec-FAM		UNKN		
A5	Quantitec-FAM		UNKN		

Ch #	Dye Name	Usage	Bkgnd Sub	Bkgnd Min Cycle	Bkgnd Max Cycle	Curve Analysis	Thresh Setting	Manual Thresh Fluor Units	Auto Thresh #SD's	Auto Min Cycle	Auto M Cycle
1	FAM	Assay	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10
2	Cy3	Unus...	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10
3	TxR	Unus...	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10
4	Cy5	Unus...	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10

9- La page suivante s'affiche, cliquer sur « Check Status » a fin de vérifier que la mise en marche est bien effectuée est qu'elle est opérationnelle.

10- Dans la partie « Run Started » il est possible d'observer le nom du programme, son statut, le nombre de site utilisés, la nature de fluorochrome reporteur utilisé (dans notre cas c'est le Quantitec-Fam), ainsi que le temps restant avant la fin de l'amplification.

The screenshot shows the Smart Cyclor software interface. At the top, there is a menu bar with 'User', 'Logs', 'Setup', 'Tools', and 'Help'. Below the menu bar is a toolbar with several icons: 'Create Run', 'Check Status', 'Stop Run', 'View Results', 'Define Protocols', 'Define Graphs', and 'Maintenance'. The 'Check Status' button is highlighted with a green circle and the number '9'. Below the toolbar, there is a 'Run Name' field containing 'hanafi+mahdi rickettsia'. To the right of the 'Run Name' field is a table with columns: 'Site ID', 'Protocol', 'Sample ID', 'Sample Type', 'Notes', and 'FAM Std Conc'. The table contains five rows of data:

Site ID	Protocol	Sample ID	Sample Type	Notes	FAM Std Conc
A1	Quantitec-FAM	tigue 1	UNKN		
A2	Quantitec-FAM	tigue 2	UNKN		
A3	Quantitec-FAM	tigue 3	UNKN		
A4	Quantitec-FAM	T neg	UNKN		
A5	Quantitec-FAM	T pos	UNKN		

Below the table is an 'Add/Remove Sites' button. To the left of the table, there is a 'Dye Set' dropdown menu set to 'FCTC25'. Below the 'Dye Set' menu is a 'Protocols' table with columns 'Protocol' and 'Lot Number'. The 'Protocols' table contains one row with 'Quantitec-FAM'. Below the 'Protocols' table is a 'Graphs' list containing: 'FAM', 'ALEXA 647 derivee 2nde', 'ALEXA 647', 'ALEXA 532 derivee 2nde', 'ALEXA 532', and 'Melt derivee 1ere'. At the bottom of the interface, there is a row of buttons: 'Start Run', 'Cancel Run Setup', 'Report Run Setup', 'Select Graphs', and 'Copy Run Setup'. The Windows taskbar at the bottom shows the Start button, several application icons, and the system tray with the time '11:06 AM'.

11- Il est possible de visualiser les résultats en temps réel en cliquant sur « View Results », la formation du produit PCR est suivie au cours du temps via l'émission de fluorescence *in situ*,

La détermination du Ct (« cycle threshold » ou « crossing point ») correspond au nombre de cycle minimum nécessaire pour que la fluorescence dépasse le seuil fixé au dessus du bruit de fond, à savoir au début de phase exponentielle d'amplification.

Après 1H de temps les résultats définitifs seront disponible aussi bien sous forme de graphe qu'en concentration en $\mu\text{g/ml}$

The screenshot shows the Smart Cycler software interface. The 'View Results' button is highlighted with a green circle containing the number 11. The interface displays a table of sample data and a detailed table of assay parameters.

Site ID	Protocol	Sample ID	Sample Type	Notes	FAM Std Conc
A1	Quantitec-FAM	tigue 1	UNKN		
A2	Quantitec-FAM	tigue 2	UNKN		
A3	Quantitec-FAM	tigue 3	UNKN		
A4	Quantitec-FAM	T neg	UNKN		
A5	Quantitec-FAM	T pos	UNKN		

Ch #	Dye Name	Usage	Bkgnd Sub	Bkgnd Min Cycle	Bkgnd Max Cycle	Curve Analysis	Thresh Setting	Manual Thresh Fluor Units	Auto Thresh #SD's	Auto Min Cycle	Auto M Cycle
1	FAM	Assay	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10
2	Cy3	Unus...	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10
3	TxR	Unus...	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10
4	Cy5	Unus...	ON	5	40	Primary Curve	Manual	30.0	NA	5	10

Résumé

Un inventaire de tiques a été réalisé dans la région de Bouzeguene à étage bioclimatique humide et hiver froid entre Janvier et Mai 2015. L'échantillonnage des tiques sur les bovins de différentes fermes a été réalisé par capture directe à la main. Cette technique nous a révélé l'existence de sept espèces de tiques de la famille Ixodidae : *Hyalomma marginatum marginatum*, *Hyalomma detritum detritum*, *Hyalomma* sp., *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus* sp. et *Boophilus* sp. L'étude comparative de notre étude à celle faite une année auparavant sur la même période a révélé l'abondance de l'espèce *Hyalomma marginatum marginatum* en 2014 avec un taux de 37,03% et plutôt des *Boophilus* sp. en 2015 avec un taux de 47,26%. Nous avons remarqué aussi l'absence des espèces *Ixodes* au cours de notre année d'étude, suspectant la basse altitude de notre site. Les indices parasitaires ont mis en évidence la différence des taux d'infestations et les charges parasitaires des espèces provenant des différentes fermes. Enfin, la détection moléculaire des rickettsies a été réalisée sur les tiques par PCR, confirmant l'existence de genre *Rickettsia* dans la région de Bouzeguene.

Mots clés: Inventaire; Tiques; Bovins; Indices parasitaires; Agent pathogène; *Rickettsia* sp.;
Région de Bouzeguene.

Summary

A tick inventory was carried out in the region of Bouzeguène to bioclimatic wet and cold winter between January and May 2015. Sampling of ticks on cattle of different farms was conducted by direct capture with hands. This technique has revealed the presence of seven species of ticks belonging to the family Ixodidae: *Hyalomma marginatum marginatum*, *Hyalomma detritum detritum*, *Hyalomma* sp, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus* sp. and *Boophilus* sp. The comparative study of our results with other data obtained in the previous year over the same period revealed the abundance of *H. m. marginatum* in 2014 with a rate of 37.03% and rather *Boophilus* sp. in 2015 with a rate of 47.26%. We also noted the absence of *Ixodes* species during our study, suspecting the small level of our region's altitude. The parasite rates highlighted the difference in infestation rates and parasite loads of species of different farms. Finally, molecular detection of *Rickettsia* was performed on ticks by PCR, confirming the presence of the genus *Rickettsia* in the region of Bouzeguene.

Keywords: Inventory; Ticks; Cattle; Parasite rates; Pathogen; *Rickettsia* sp .;
Bouzeguene area.