

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

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



MÉMOIRE

De fin d'études

En vue d'obtention du diplôme de
MASTER en Sciences Biologiques

Spécialité : Parasitologie



Thème

**Étude du portage asymptomatique des maladies transmises
par les tiques dans les élevages de bovins dans la région de
Tizi-Ouzou.**

Réalisé par : RAHMANI Sabrina

MAGMOUNE Zineb

KARAOUI Imane

Devant le jury composé de :

Président	SIFER K.	Maitre-assistant	UMMTO
Promotrice	BENELDJOUZI A.	Attachée d'études niveau II	Institut Pasteur Alger
Co-promoteur	BOUKHEMZA M.	Professeur	UMMTO
Examinatrice	BOUKHEMZA-ZEMMOUIRI N.	Professeure	UMMTO

2023 / 2024

Remerciements

Nous débutons en exprimant notre profonde reconnaissance envers Dieu pour nous avoir accordé la santé et la volonté pour mener à bien notre formation universitaire et ce travail de recherche. Nous adressons nos sincères remerciements à notre promotrice **Mme BENELDJOUZI Assia**, attachée d'études à l'institut Pasteur d'Alger, pour son soutien précieux, ses conseils éclairés et son accompagnement dévoué durant notre stage. Nous sommes également reconnaissants envers tout le personnel de l'institut Pasteur d'Alger pour leur guidance et leur collaboration précieuse.

Nous voulons aussi exprimer notre gratitude envers notre co-promoteur et enseignant, **Mr BOUKHEMZA Mouhammed**, professeur à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour sa patience infinie, sa diligence exemplaire et sa disponibilité sans faille tout au long de notre encadrement.

Nous tenons à remercier **Mme EDDAIKRA Naouel**, cheffe de laboratoire d'éco-épidémiologie parasitaire et génétique des populations à l'institut Pasteur d'Algérie, pour nous avoir accueillies.

Nous exprimons également nos remerciements sincères à **Mr SIFER Kamal**, maître-assistant à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.

Que **Mme BOUKHEMZA-ZEMMOUIRI Nabila**, professeure à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, trouve ici l'expression de nos vifs remerciements pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail en acceptant de l'examiner.

On tient à exprimer notre gratitude envers l'inspecteur vétérinaire de la wilaya de Tizi-Ouzou **Dr YATA Noureddine**, et les vétérinaires **Dr KHOUF**, **Dr MEZIANI** et **Dr ABED**, qui ont su consacrer une partie de leur temps précieux à la préparation de cette tâche.

Enfin, nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude envers nos respectés professeurs à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour leur enseignements enrichissant et leur soutien constant qui ont grandement contribué à notre parcours académique.

Dédicaces

Tout d'abord, je voudrais remercier Allah le Tout-Puissant de m'avoir donné la volonté et la patience pour mener à bien ce travail.

Je dédie ce travail à ma chère maman Zohra qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir, et qui a fait de nombreux sacrifices tout au long de ma scolarité et de mon enfance. Que Dieu la protège.

À mon cher père Kamel, j'exprime ma sincère reconnaissance pour l'affection et le soutien que tu m'as apportés depuis ma naissance. Ta bienveillance a été un pilier dans ma vie. Que Dieu le protège.

À mes sœurs Katia, Samira, et Lamia, ainsi qu'à mon petit frère Yacine, je vous remercie pour le soutien moral que vous m'avez offert dans les moments les plus difficiles.

Merci également à mes cousins, cousines, et amies.

Sabrina

Dédicaces

Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers le tout-puissant Allah de m'avoir accordé la volonté et la patience afin de réaliser ce travail.

En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Parasitologie je dédie ce mémoire :

À mes chers parents Nourdine et Zahia qui se sont toujours sacrifiés pour mon éducation, qui m'ont entourée de leur amour et de leur affection, je les remercie et je n'oublierai jamais leur soutien moral dans les moments les plus difficiles, que Dieu les protège.

À mon grand-père et ma grand-mère, qui sont toujours là avec moi grâce à ces prières.

À mes chère frères Bilal et Ibrahim.

À mon oncle Kamel et ma tante Hind, je vous remercie pour le soutien, que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

À mes cousines Nihad, Ikram, Romaissa, Aya et Malak, de m'avoir toujours encouragé, merci.

À mes amis proches Nihad, Imane, Roumaissa, Tina et Nadine, merci d'être toujours là dans les moments difficiles

À toutes les personnes qui m'ont apporté leur soutien tant moral que physique et de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Zineb

Dédicaces

Tout d'abord je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour pouvoir réaliser ce travail de recherche.

Je dédie ce travail à tous qui me sont chers :

À ma famille spécialement à ma chère mère Louiza, aucun dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis l'enfance, que dieu la protège.

À mon père Mohamed pour les efforts qu'il a déployés au cours de mon parcours universitaire.

À mes frères Alaaeddine, Faycel, Abderahman et ma sœur Romaïssa.

À mes amis qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

à mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de courage.

Imane

Liste des figures

Figure 1 : Classification systématique des tiques d'après (Moulinier, 2003).....	4
Figure 2 : La différence de taille entre les stades des tiques durs	5
Figure 3 : Morphologie générale d'un capitulum de tique dure. A : vue ventrale, B : vue dorsale	6
Figure 4 : Schéma de la morphologie générale des tiques dures, d'après.....	6
Figure 5 : Morphologie générale schématique d'une tique Ixodidé	7
Figure 6 : Représentation schématique du repas sanguin d'une tique	11
Figure 7 : Cycle de vie d'une tique Ixodidé.....	12
Figure 8 : Les trois types de cycle de vie des Ixodidé.....	13
Figure 9 : Les sept régions d'Afrique pertinentes pour la distribution des tiques	16
Figure 10 : Distribution de tous les membres de la famille Ixodidae en Algérie.....	17
Figure 11 : <i>Rickettsia conorii conorii</i> à l'intérieur d'une cellule endothéliale humaine. Coloration de Gimenez.....	21
Figure 12 : <i>Anaplasma marginale</i> chez un bovin	22
Figure 13 : Cellules endothéliales de vaisseaux capillaires de l'encéphale d'un bovin parasités par de nombreux <i>Babesia</i>	22
Figure 14 : <i>Babesia divergens</i> à l'intérieur des hématies de bovins.....	23
Figure 15 : Hématies de bovin infecté par <i>Babesia major</i>	24
Figure 16 : Répartition géographique des rickettsies pathogènes transmises par les tiques ...	26
Figure 17 : Piroplasmes intra érythrocytaires et mérozoïtes libres sur des prélèvements de cytoponction à l'aiguille et coloration Leishman.....	28
Figure 18 : Le cycle de transmission de <i>Babesia</i>	32
Figure 19 : Image d'une cellule Vero infectée par <i>C. burnetii</i> observée au microscope inversé (VCC, vacuole contenant des Coxiella).	33
Figure 20 : Le cycle développemental de <i>C. burnetii</i> dans la cellule eucaryotique.....	34
Figure 21 : Localisation des sites d'étude dans la wilaya de Tizi Ouzou	38
Figure 22 : Elevage à Tizi-Rached.....	39
Figure 23 : La région de Makouda.....	39
Figure 24 : Etable moderne (Tizi-Rached).....	40
Figure 25 : Étable moderne (Makouda)	41
Figure 26 : Bovin échantillonné	41
Figure 27 : Clé d'identification des genres des Ixodidés d'après.....	43

Figure 28 : Les étapes d'extraction d'ADN	46
Figure 29 : Spectrophomètre (Nano Drop)	47
Figure 30 : Dosage des échantillons.....	48
Figure 31 : L'électrophorèse.....	53
Figure 32 : Frottis de sang.....	55
Figure 33 : Représentation graphique des taux des bovins échantillonnés selon les différentes races.....	56
Figure 34 : Le sexe ratio des bovins échantillonnés.	57
Figure 35 : Les différentes tranches d'âge des bovins échantillonnés.	57
Figure 36 : <i>Hyalomma anatolicum</i> mâle sous loupe binoculaire (Gx40)	58
Figure 37 : Observation d'un frottis sanguin négatif Gx100 (lame E3B4).	60
Figure 38 : Observation d'un frottis sanguin positif à <i>Anaplasma phagocytophilum</i> Gx100 (lame E2B8)	60
Figure 39 : Détection du gène ompA de <i>Rickettsia</i> spp sur les 14 pools.	64
Figure 40 : Détection des échantillons infectés par <i>Rickettsia</i> spp parmi ceux qui sont présent dans les pools 01 et 12.....	64
Figure 41 : Graphe des résultats de la détection de <i>Coxiella burnetti</i> par PCR en temps réel	65
Figure 42 : Graphe des résultats de la détection de <i>Babesia</i> spp par PCR en temps réel.	66
Figure 43 : Graphe des résultats de la détection d' <i>Anaplasma phagocytophilum</i> par PCR en temps réel	66

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les volumes de réactifs utilisés dans le tampon de lyse.	44
Tableau 2 : Volumes des produits du mix.	49
Tableau 3 : Gène et amorces utilisées en PCR standard.	50
Tableau 4 : Volumes des produits du mix en utilisant le master mix.	51
Tableau 5 : Gènes, amorces et sonde utilisées en RT-PCR.	51
Tableau 6 : Répartition des bovins prélevés dans les deux régions d'études.	58
Tableau 7 : Résultats d'observation des frottis sanguins.	59
Tableau 8 : Les résultats du dosage d'ADN.	61
Tableau 9 : Le code des échantillons dans chaque pool.	63
Tableau 10 : Le rapport des bovins infectés par <i>Rickettsia</i> spp.	65
Tableau 11 : Résultats de la RT-PCR pour <i>Coxiella burnetti</i> , <i>Anaplasma phagocytophilum</i> et <i>Babesia</i> spp, et de la PCR standard pour <i>Rickettsia</i> spp.	67

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

°C : Degré Celsius.

µl : Microlitre.

Abs : Absence.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

B : Bovin.

BET : Bromure d'Ethidium.

CTAB : Cetyl Triméthyl Ammonium Bromide.

DO : Densité optique.

E : Eleveur.

G : Grossissement.

IS : Intergenic spacer region

Km : kilomètre.

Nég : Négatif.

Ng : Nanogramme.

nm : Nanomètre.

ompA : outer membrane protien A.

P : Pool.

Pb : Paire de bases.

PCR : Polymerase chain reaction.

Pos : Positive.

Pré : Présence.

RT-PCR : Real time polymerase chain reaction.

T° : Température.

TAE : Tris Acétat EDTA.

TTB : Transfusion-transmitted babesiosis.

UV : Ultraviolet.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

I.1. Généralités sur les Ixodidés :	3
I.1.1. Origine Phylogénique :	3
I.1.2. Systématique générale des tiques :	3
I.1.3. Morphologie :	4
I.1.3.1 Morphologie externe :	5
I.1.3.2. Morphologie interne :	8
I.1.3.2.1. Système digestif :	8
I.1.3.2.2. Glandes salivaires :	8
I.1.3.2.3. Système reproducteur :	8
I.2. Biologie des tiques dures :	9
I.2.1. Habitat :	9
I.2.2. Nutrition :	9
I.2.3. Cycle évolutif :	11
I.2.4. Différentes stases types des cycles de vie :	12
I.2.5. Différentes stases de développement :	13
I.2.5.1. Œuf :	13
I.2.5.2. Larve :	13
I.2.5.3. Nymphe :	14
I.2.5.4. Adulte :	14
I.2.6. Mode de vie :	14
I.2.7. Activité saisonnière des tiques :	14
I.3. Distribution Géographique :	15
I.3.1. Dans le monde :	15
I.3.2. Dans le continent Africain :	15
I.3.3. Bassin Méditerranéen :	16
I.3.4. En Algérie :	16
I.4. Modalités de lutte contre les tiques des bovins :	17

I.4.1. Lutte chimique :	17
I.4.2. Lutte biologique :	18
I.4.3. Lutte génétique :	19
I.4.4. Lutte écologique :	19

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

II.1. Définition et pathogènes :	20
II.1.1. Rickettsioses :	20
II.1.2. Anaplasmose :	21
II.1.3. Babésiose :	22
II.1.3.1. Babesia divergent :	23
II.1.3.2. Babesia major :	23
II.1.4. Coxiellose :	24
II.2. Mode de transmission et espèces concernées :	25
II.3. Répartition géographique et temporelle :	25
II.3.1. Rickettsiose :	25
II.3.2. Anaplasmose :	26
II.3.3. Babésiose :	27
II.3.4. Coxiellose :	27
II.4. Diagnostic :	28
II.4.1. Diagnostic direct :	28
II.4.2. Diagnostic indirect :	28
II.5. Signes cliniques et épidémiologiques :	29
II.5.1. Rickettsiose :	29
II.5.2. Anaplasmose :	29
II.5.3. Babésiose :	29
II.5.4. Coxiellose / fièvre Q :	29
II.6. Pouvoir pathogène chez l'animal :	30
II.7. Cycle évolutif :	31
II.7.1. Rickettsiose :	31
II.7.2. Anaplasmose :	31
II.7.3. Babésiose :	32
II.7.4. Coxiellose :	33
II.8. Traitement :	35

II.8.1. Rickettsiose :	35
II.8.2. Anaplasmosse :	35
II.8.3. Babésiose :	35
II.8.4. Coxiellose :	36
II.9. Prophylaxie :	36

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1. Présentation de la région d'étude :	38
III.1.1. Présentation de la région de Tizi-Rached :	38
III.1.2. Présentation de la région de Makouda :	39
III.2. Période et objectif d'étude :	39
III.3. Choix et description des stations d'étude :	40
III.4. Matériel et Méthodes :	41
III.4.1. Matériel :	41
III.4.1.1. Matériel biologique :	41
III.4.1.2. Matériel non biologique :	41
III.4.2. Méthodes :	42
III.4.2.1. Fiche de recueil des renseignements cliniques :	42
III.4.2.2. Prélèvements du sang :	42
III.4.2.3. Echantillonnage des ectoparasites :	42
III.4.2.4. Identification des tiques :	42
III.4.2.5. Extraction d'ADN :	44
III.4.2.6. Dosage d'ADN par spectrophotométrie :	47
III.4.2.7. Détection moléculaire des agents pathogènes :	48
III.4.2.7.1. PCR standard :	48
III.4.2.7.2. RT-PCR :	50
III.4.2.7.3. Electrophorèse sur Gel d'agarose :	51
III.4.2.7.4. Frottis sanguins :	53

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Résultats :	56
IV.1.1. Résultats de la récolte des échantillons :	56
IV.1.2. Résultats d'identification des tiques :	58
IV.1.3. Résultats des frottis sanguins :	59
IV.1.4. Résultats du dosage d'ADN :	61

IV.1.4.1. Taux des acides nucléiques :.....	62
IV.1.4.2. Rapport 260/280 :.....	62
IV.1.4.3. Rapport 260/230 :.....	63
IV.1.5. Résultats des PCR :.....	63
IV.2. Discussion :	68
IV.2.1. Discussion des résultats de la collecte des tiques :.....	68
IV.2.2. Discussion des résultats des frottis sanguins :	69
IV.2.3. Discussion des résultats des PCR :	69
IV.2.3.1. Résultats de <i>Rickettsia</i> spp :.....	69
IV.2.3.2. Résultats de <i>Coxiella burnetii</i> :.....	70
IV.2.3.3. Résultats de <i>Babesia</i> spp :	70
IV.2.3.4. Résultats d' <i>Anaplasma phagocytophilum</i> :.....	70
IV.2.3.5. Résultats des PCR des tiques :	71
Conclusion générale	72
Références bibliographique	72

Introduction générale

Introduction générale

Les tiques sont des arthropodes hématophage ectoparasites des vertébrés. Elles font partie de la classe des Arachnides, plus précisément du sous-ordre des Ixodida (**Boulanger & McCoy, 2015**). Plus de 900 espèces de tiques existent à travers le globe, classées en trois familles distinctes: les Ixodidae (tiques dures), Argasidae (tiques molles) et Nuttalliellidae (**Mechouk et al., 2022**).

Les tiques, aujourd'hui sont classées les deuxièmes vecteurs d'agents pathogènes en santé humaine (en nombre de cas) et les premiers en santé animale (**Grech-angelini, 2020**). En plus de leur action pathogène directe, comme la spoliation de sang et les lésions cutanées, elles ont la capacité d'introduire des molécules hémolysantes, anticoagulantes, voire parfois toxiques. Elles jouent aussi un rôle dans la transmission de maladies car elles peuvent agir comme transporteurs de divers agents pathogènes tels que virus, bactéries et protozoaires (**Benchikh Elfegoun et al., 2013**). Elles ont une importance vétérinaire élevée, du fait de leurs capacités vectorielles stupéfiantes mais aussi de leur capacité d'infestation de tous les animaux domestiques et de productions, et en particulier des bovins qui sont des animaux très infestés dans certaines régions de l'Algérie où le climat est propice au développement de ces arthropodes. L'infestation par les tiques peut causer des dommages directs aux animaux, comme des irritations, une hypersensibilité, des inflammations et des troubles pathologiques, lorsqu'elles sont en grand nombre (**Bouchama et al., 2020**).

De nombreuses études à travers le monde ont été menées sur les tiques et les maladies qu'elles transmettent, telles que celles réalisées par **François (2008)**, sur les tiques chez les bovins en France, aussi l'étude de **Otmani (2013)**, sur quelques infections transmises par les tiques en Europe occidentale. Ou encore **Grech-angelini (2020)**, concernant les tiques et les pathogènes qu'elles transmettent en Corse, un environnement insulaire méditerranéen.

En Algérie, plusieurs travaux ont été menés sur ce thème, comme celle de **Benchikh Elfegoun et al. (2019)**, portant sur la progression de l'infestation par les tiques chez les bovins de la région subhumide de Constantine en Algérie. **Meddour et Boudierda, (2006)**, durant dix années (1985-1995), prospectés essentiellement dans le Nord-Est algérien, ils ont établi la première clé d'identification de 15 espèces d'Ixodina d'Algérie. **Bouchama et al. (2020)**, ont examiné la variation saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région semi-aride de la wilaya de Sétif.

Introduction générale

À Tizi-Ouzou, peu d'études ont été réalisées sur les tiques et leurs pathogènes. On peut mentionner l'étude de la diversité des tiques dures (Acari : Ixodidae) qui infestent les petits ruminants par **Djouaher et al. (2023)**. La majorité des autres travaux se sont limités à des inventaires tel que celui de **(Berkaine & Benelhadj, 2015)**, **(Almandounas & Bedrane, 2023)**.

L'objectif de notre travail c'est d'approfondir les connaissances sur la distribution des espèces de tiques dans la région de Tizi-Rached est Makouda, et sur certains pathogènes transmis aux bovins, et pouvoir comprendre les symptômes des maladies liées et évaluer le risque spécifique de différents biotopes.

Notre travail est divisé en quatre chapitres. Le premier chapitre aborde les généralités sur les tiques, tandis que le deuxième se concentre sur les maladies qu'elles transmettent. Le troisième chapitre présente les deux régions étudiées, ainsi que les différentes méthodes utilisées sur le terrain pour l'échantillonnage, et en laboratoire pour l'identification des tiques, l'extraction et le dosage de l'ADN, la PCR standard et la RT-PCR, les frottis sanguins, ainsi que les diverses approches utilisées pour exploiter les résultats obtenus. Le quatrième chapitre regroupe les résultats et les discussions qui en découlent. Enfin une conclusion générale clôt le travail.

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

Ce chapitre est consacré à l'étude des tiques, autant que parasites. On abordant : leurs systèmes, leur morphologie générale, leur biologie, leur cycle de développement et ses différentes étapes, ainsi que leur rôle de vecteur dans la propagation des maladies.

I.1. Généralités sur les Ixodidés :

I.1.1. Origine Phylogénique :

Des phylogénies précises nous permettent d'étudier l'évolution des phénotypes (par exemple les traits morphologiques et d'histoire de vie) (**Bowman & Nuttall, 2008**). L'identification des espèces repose ainsi sur un certain nombre de critères comme la position du capitulum (soit ventral, soit antérieur), la taille du rostre (qui peut être long ou court), l'existence ou non de parties chitinisées (scutum, diverses plaques ventrales), la position du sillon anal (qui peut contourner l'anus par l'avant ou par l'arrière), la présence ou non d'ocelles (yeux simples), de festons, la longueur des articles des palpes ou encore la présence d'épines sur la première coxa (**Pérez-Eid, 2007**).

Ces dernières années, les techniques de la biologie moléculaire avec l'analyse comparative de séquences génomiques (particulièrement celle du gène codant pour la sous-unité de l'ARNr mitochondrial des 18S ARNr, ou celle de la sous-unité 12S), ont été utilisées en systématique et dans l'analyse des relations phylogénétiques des tiques (**Socolovschi et al., 2008**).

I.1.2. Systématique générale des tiques :

Les tiques sont des Arthropodes hématophages, en tant que groupe taxonomique, le nombre d'espèces de tiques est d'environ 900 (**Boulanger & McCoy, 2015**).

Selon **Lecointre et Guyader (2006)**, les tiques appartiennent à l'embranchement des Arthropodes, sous-embranchements des Chélicérates, la classe des Arachnides, la sous-classe des Acariens, Ordre des Parasitiformes, sous-ordres des Ixodida.

Dans le sous-ordre des Ixodida, on distingue la famille des Nuttalliellidae, des Ixodidae ou tiques dures, et des Argasidae ou tiques molles (**Figure 01**).

Par ordre croissant, la famille des Nuttalliellidae comporte une espèce (*Nuttalia namaqua*), celle des Argasidae (aussi appelées tiques molles) compte environ 200 espèces et celle des Ixodidae (aussi appelées tiques dures) compte environ 700 espèces (**Bowman and Nuttall, 2008; Guiguen et al., 2019**) (**Figure 1**).

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

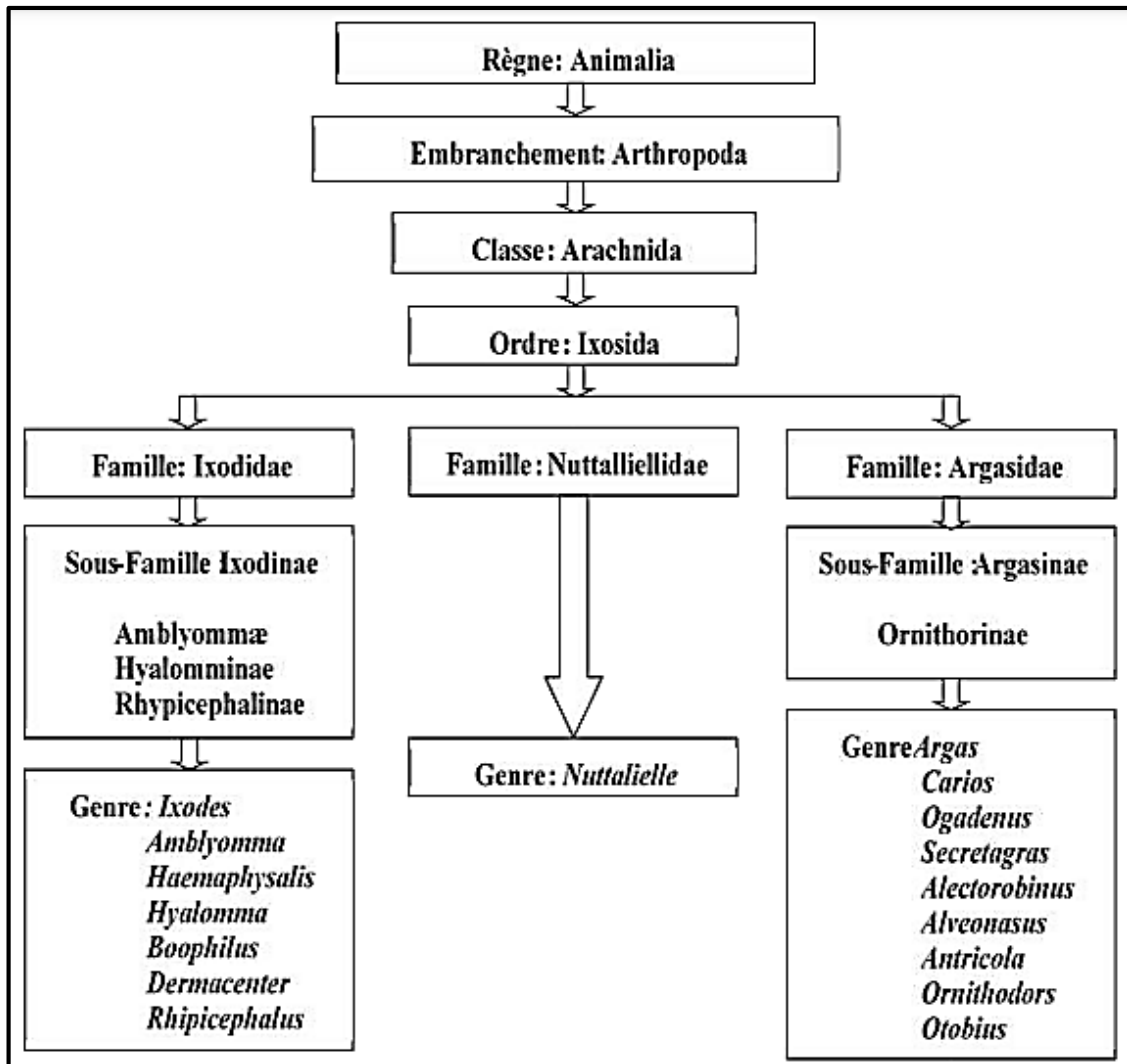


Figure 1 : Classification systématique des tiques d'après (Moulinier, 2003).

Les caractères morphologiques, l'écologie (habitat, hôtes) et la répartition géographique des tiques sont utilisés par les systématiciens pour établir les groupes taxonomiques (Guiguen et al., 2019).

I.1.3. Morphologie :

Les espèces de tiques dures sont très grandes, elles varient de 5 et 12 mm à jeun, mais pouvant atteindre 25 à 35 mm lorsqu'elles sont gorgées de sang. Ces dernières se distinguent par un corps globuleux non segmenté (Pérez-Eid, 2007). Trois stades de développement successifs sont observés : la larve, la nymphe et l'adulte (Villeneuve, 2012) (Figure 2).

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

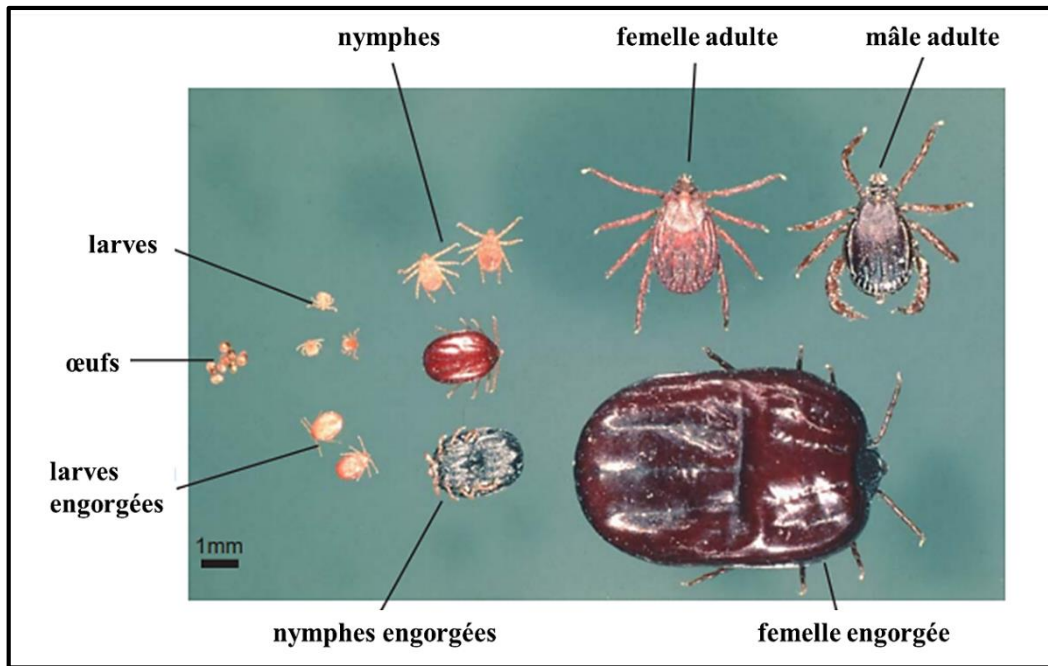


Figure 2 : La différence de taille entre les stades des tiques durs (Walker et al., 2003).

I.1.3.1 Morphologie externe :

Les tiques présentent un corps globuleux (fusion du céphalothorax et de l'abdomen) et ne présentent aucune segmentation extérieure. Cependant, deux parties sont identifiées : le capitulum et l'idiosome (Guiguen et al., 2019).

Le capitulum possède une paire de palpes symétriques situés latéralement sur sa base, appelée basis capituli, et, axialement, l'hypostome en position ventrale, les chélicères en position dorsale (Pérez-Eid, 2007).

Le palpe, qui ont un rôle strictement sensoriel, portent de nombreuses soies et sont formés de quatre articles de taille inégale, dont le premier s'articule sur la basis capituli (Pérez-Eid, 2007). Ces organes sensoriels, jouent un rôle essentiel dans la recherche de l'hôte et d'un partenaire sexuel, mais sont également utilisés pour évaluer les conditions climatiques (Boulanger & McCoy, 2015).

Selon Pérez-Eid, 2007, les chélicères sont formées d'un corps et de doigts griffus, ces doigts, coupants et puissants, permettent aux chélicères de couper la peau de l'hôte. L'hypostome, qui représente l'organe d'ancrage de la tique dans la peau de l'hôte, comporte de nombreuses dents dirigées vers l'arrière.

Hypostome et Chélicères s'enfoncent dans la peau de l'hôte, tandis que les palpes, uniquement sensoriels, restent en surface (Voir Figure 3).

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

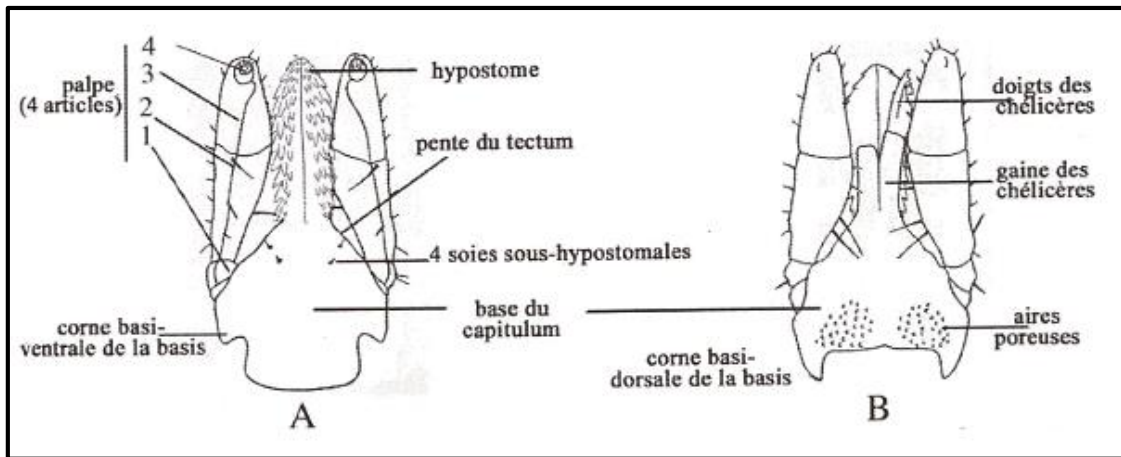


Figure 3 : Morphologie générale d'un capitulum de tique dure. A : vue ventrale, B : vue dorsale (Pérez-Eid, 2007).

L'idiosoma correspond au corps de la tique proprement dit, se divise en deux parties : le podosome (zone d'insertion des pattes) et l'opisthosome (abdomen) (Guiguen *et al.*, 2019).

Chez les tiques, le tégument est composé de deux parties distinctes : la cuticule et l'épiderme. La cuticule, qui est le squelette externe, est une structure rigide et résistante qui protège le corps de l'arthropode. Elle est sécrétée par l'épiderme, qui est une couche unique de cellules située juste sous la cuticule (Pérez-Eid, 2007).

Le dimorphisme sexuel est marqué seulement chez les adultes, le mâle se distingue de la femelle par le fait que l'ensemble de la face dorsale de son idiosome est recouvert par une structure rigide indéformable, le scutum (Villeneuve, 2012 ; Boulanger & McCoy, 2015)(Figure 4).

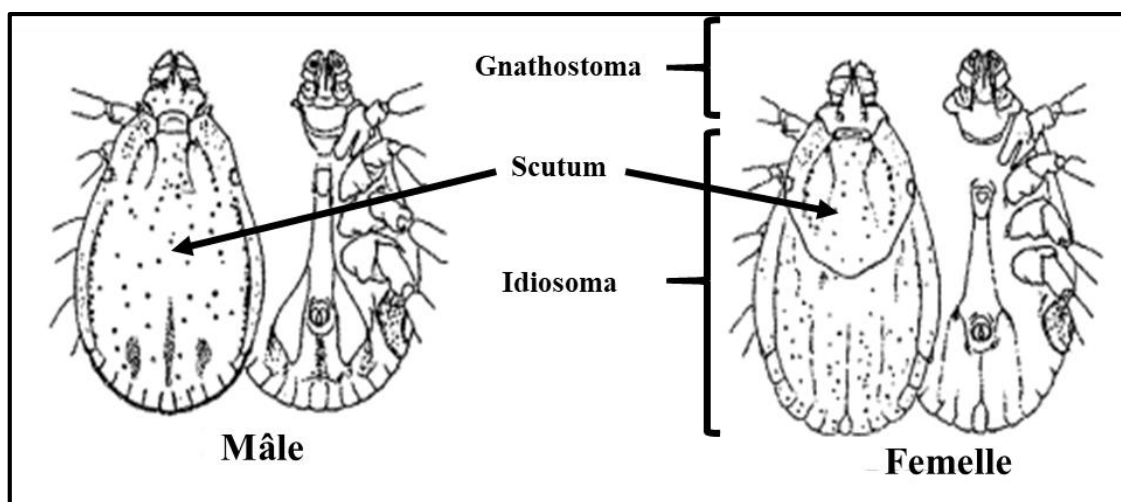


Figure 4 : Schéma de la morphologie générale des tiques dures, d'après (Pérez-Eid, 2007).

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

En face ventrale, les pattes sont composées de différents articles : coxa, trochanter, fémur, tibia, protarse et tarse qui se terminent par l'ambulacre, qui est équipé de deux griffes et d'une ventouse ou d'une pulville (**Pérez-Eid, 2007 ; Boudierda, 2017**). Le tarse de la première paire porte l'organe sensoriel de Haller. Les tiques à l'affût se servent de cette paire de patte comme une paire d'antennes (**Guiguen et al., 2019**).

Selon **Boudierda, (2017)**, les stigmates ou périrèmes sont situés en arrière de la quatrième coxa, en position ventro-latérale et de chaque côté du corps, correspondant aux ouvertures extérieures du système respiratoire.

Le gonopore est situé entre les coxae de la première et de la seconde paire de pattes, entouré par le sillon génital. La ligne médiane est occupée par l'anus, juste en dessous de la quatrième paire de coxae. On le trouve avec un sillon antérieur (sillon péréal), postérieur (sillon post anal) ou absent (*Rhipicephalus annulatus*).

Chez les mâles, on note la présence de plaques sclérifiées paires ou d'écussons qui, par leur absence chez certains genres (*Dermacentor*, *Ixodes*, *Haemaphysalis*) et leur disposition chez d'autres (*Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Rhipicephalus annulatus*), permettent de distinguer les genres et les espèces. Le conscutum rigide et les plaques ventrales sclérifiées sont associés à la variation du volume du corps pendant le repas sanguin.

La particularité majeure chez les femelles est la forme du gonopore qui sert à la diagnose des espèces, en particulier dans les genres *Hyalomma* et *Rhipicephalus*. Les plaques ventrales sont absentes et les stigmates sont moins marqués que chez les mâles (**Figure 5**).

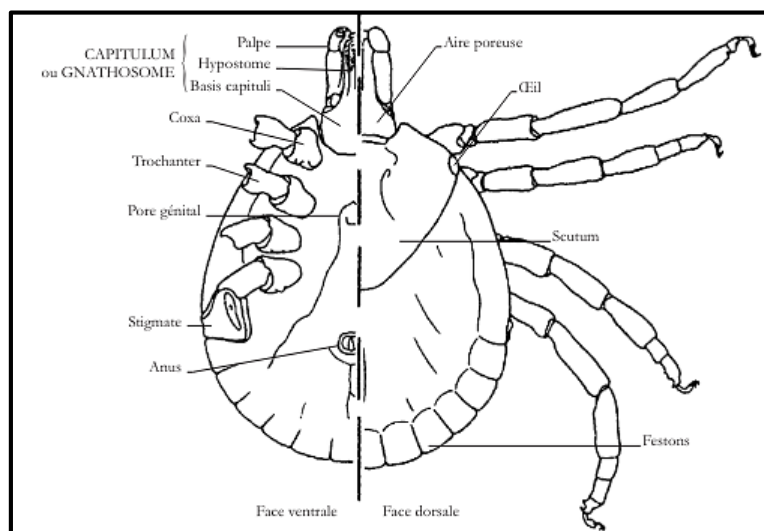


Figure 5 : Morphologie générale schématique d'une tique Ixodidé (Boulanger & McCoy, 2015).

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

I.1.3.2. Morphologie interne :

I.1.3.2.1. Système digestif :

Les tiques sont des hématoiphages stricts, c'est-à-dire qu'elles se nourrissent uniquement de sang (**Boulanger & McCoy, 2015**). Il n'y a pas de canal salivaire spécifique chez les tiques. Le sang de l'hôte et la salive de la tique sont alternativement aspiré pour l'un et émis pour l'autre, par le canal alimentaire commun (**Pérez-Eid, 2007**).

Le système digestif commence par une bouche qui s'ouvre au-dessus de l'hypostome et est entourée dorsalement par les chélicères (**François, 2008**). La cavité buccale est suivie d'un pharynx, court mais puissant, qui régule les échanges de suctions sanguines et d'émissions salivaires tout au long du repas. Le pharynx s'ouvre dans l'œsophage, se clôturant par une valvule qui empêche les reflux sanguins (**Pérez-Eid, 2007**).

La portion moyenne du tube digestif des tiques est très développée et occupe la totalité de la cavité coelomique. Son estomac central est développé et équipé de coeca ou de diverticules (permettent le stockage du sang pendant le repas), qui sont suivis d'un court intestin qui se dilate en un sac rectal qui se jette dans le rectum et s'ouvre vers l'extérieur par l'anus (**Pérez-Eid, 2007 ; Boudierda, 2017**).

I.1.3.2.2. Glandes salivaires :

Elles jouent un rôle essentiel dans la propagation de germes pathogènes à l'hôte. Les deux glandes salivaires latérales s'ouvrent au fond de la bouche, en grappes, formées de groupes d'alvéoles, les acini, il sont reliés entre eux par des canaux et contiennent des granules de sécrétion (**Pérez-Eid, 2007 ; Boulanger & McCoy, 2015 ; Boudierda, 2017**).

La fonction des glandes salivaires est multiple : elles émettent diverses substances qui facilitent le prélèvement de sang en réduisant la réaction de l'hôte, production des substances hygroscopiques qui leur permettent de survivre dans des environnements à faible taux d'humidité en permettant l'absorption de la vapeur d'eau dans l'air ambiant (**Boulanger & McCoy, 2015**).

I.1.3.2.3. Système reproducteur :

Les tiques sont des animaux à reproduction sexuée obligatoire, la femelle possède un ovaire en forme de chapelet qui se développe au fur et à mesure du repas sanguin. Deux oviductes prolongent l'ovaire et se terminent dans le vagin, où ils se terminent au niveau du pore génital situé en face ventrale. Le mâle, il possède deux testicules tubulaires et un canal éjaculateur (**Boulanger & McCoy, 2015**).

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

Traditionnellement, les femelles ne sont accouplées qu'une fois et les mâles fécondent généralement plusieurs femelles (**Boulanger & McCoy, 2015**). Lors de l'accouplement, qui est précédé par l'introduction du rostre du mâle dans le pore génital de la femelle, le mâle dépose un spermatophore. Les spermatozoïdes termineront leur maturation dans les voies génitales de la femelle (**Pérez-Eid, 2007 ; Boulanger & McCoy, 2015**).

I.2. Biologie des tiques dures :

I.2.1. Habitat :

Les Ixodes sont des parasites cosmopolites, leur présence sur l'hôte est à court terme, elles passent plus de 90 % de leur temps en vie libre (**Parola & Raoult, 2001**).

Les associations végétales, l'hygrométrie, le cycle des saisons et la diversité des hôtes influencent la densité des tiques. Le climat joue donc un rôle crucial en affectant la température, la végétation et l'humidité (**Otmani, 2013**). Concernant le milieu de vie, les espèces de tiques se divisent-elles en trois groupes (**Perez-Eid & Gilot, 1998**) :

- **Les endophiles** : ils habitent des zones spécialisées, bien protégées, telles que les nids, les terriers, les constructions et les cavernes. Ils ne quittent pas leur habitat, et ont donc une sélection d'hôtes limitée aux habitants de cet environnement.
- **Les exophiles** : au contraire, n'ont pas d'habitat aussi spécialisé, vivent dans des biotopes ouverts tels que les prairies, les forêts, les savanes, etc...
- **Les crybtophiles** : créé par Morel, il concerne les espèces qui, dans un biotope ouvert, se réfugient dans un micro-biotope limité, tel qu'une haie, un talus abrité, etc...

I.2.2. Nutrition :

Les tiques sont des arthropodes hématophages, et la nutrition de toutes les espèces, sans exception, est sanguine (**Pérez-Eid, 2007 ; Boulanger & McCoy, 2015**).

Toute leur vie, les tiques ne prennent que trois repas, chacun sur un animal différent, et les aliments ingérés lors de chacun de ces repas contribuent à la mue suivante ou à la ponte (**Villeneuve, 2012**). La femelles accouplées consomment de grandes quantités de sang et augmentent leur masse corporelle jusqu'à 100 fois leur poids de départ (**Sonenshine & Roe, 2014a**). Les tiques pratiquent la telmophagie qui est une forme spécifique d'hématophagie, où le substrat est composé de sang, de lymphe et de débris cellulaires (**Drevon-Gaillot, 2002**).

Selon leurs préférences trophiques et le stade évolutif, on distingue trois types de tiques :

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

- Les tiques monotropes, le même type d'hôte est recherché par la larve, la nymphe et l'adulte (*Rhipicephalus sanguineus*) (**Marotel, 2006**).
- Les tiques ditropes, larves et nymphes présentent le même tropisme d'hôte, généralement des petits mammifères, les adultes par contre préféreront des animaux de plus grande taille, généralement des grands mammifères (genres *Rhipicephalus* et *Dermacentor*) (**Marotel, 2006**).
- Les tiques télotropes, larves et nymphes se nourrissent sur les vertébrés terrestres, ainsi que les adultes qui conservent cependant une préférence pour les grands mammifères (genre *Ixodes*) (**Marotel, 2006**).

Différents éléments influencent la rencontre entre l'hôte parasite, tels que la température, l'humidité, les vibrations et la présence de l'hôte (odeur, gaz carbonique) (**Guiguen et al., 2019**).

Dans une première phase (3-5min), la fixation des tiques procède d'abord d'une action mécanique. La peau est coupée par ses chélicères, qui pénètrent peu à peu dans l'épiderme, puis l'hypostome est enfoncé, dont les dents rétrogrades lui permettent de s'ancrer dans les tissus. Les pédipalpes restent à la surface de la peau (**Rakover, 2018**).

La seconde phase (10 à 30 minutes à 1 heure, voir quelques jours), consiste à produire un ciment, une sécrétion salivaire blanchâtre qui va se solidifier et créer une gaine autour des chélicères et de l'hypostome enfoncés. Cette substance favorise une fixation extrêmement solide de la tique, en plus de jouer deux rôles : préserver le tégument de l'hôte contre l'action salivaire (sa destruction perturberait la fixation) et préserver la tique contre les réactions inflammatoires de l'hôte (**François, 2008**).

Avant le repas, la tique se déplace sur son hôte à la recherche d'un endroit idéal pour la fixation, et cet endroit dépend, des groupes d'hôtes donnés, des genres et des espèces de tiques (**Rakover, 2018**). Il y a des zones de fixation privilégiées, généralement composées de zones de peau fine et saine (**Drevon-Gaillot, 2002**).

La troisième et la dernière phase (quelques heures à plusieurs jours, variable selon les espèces), l'absorption se fait en deux temps chez la femelle adulte fécondée : d'abord une absorption lente puis une absorption rapide qui dure plusieurs jours au cours duquel la tique grossit énormément (**Rakover, 2018**).

Pendant le repas, les absorptions de sang et l'émission de salive se succèdent en alternance, comme mentionné précédemment. L'aspiration de sang peut prendre entre 1-30 secondes, tandis que l'émission de salive peut prendre une seconde, les deux phénomènes étant

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

séparés par un intervalle de quelques secondes à quelques minutes (**Pérez-Eid, 2007**). Cette salive est de constitution complexe et variable dans le temps, elle est composée de plusieurs substances protéiques différentes (**Rakover, 2018**) (**Figure 6**).

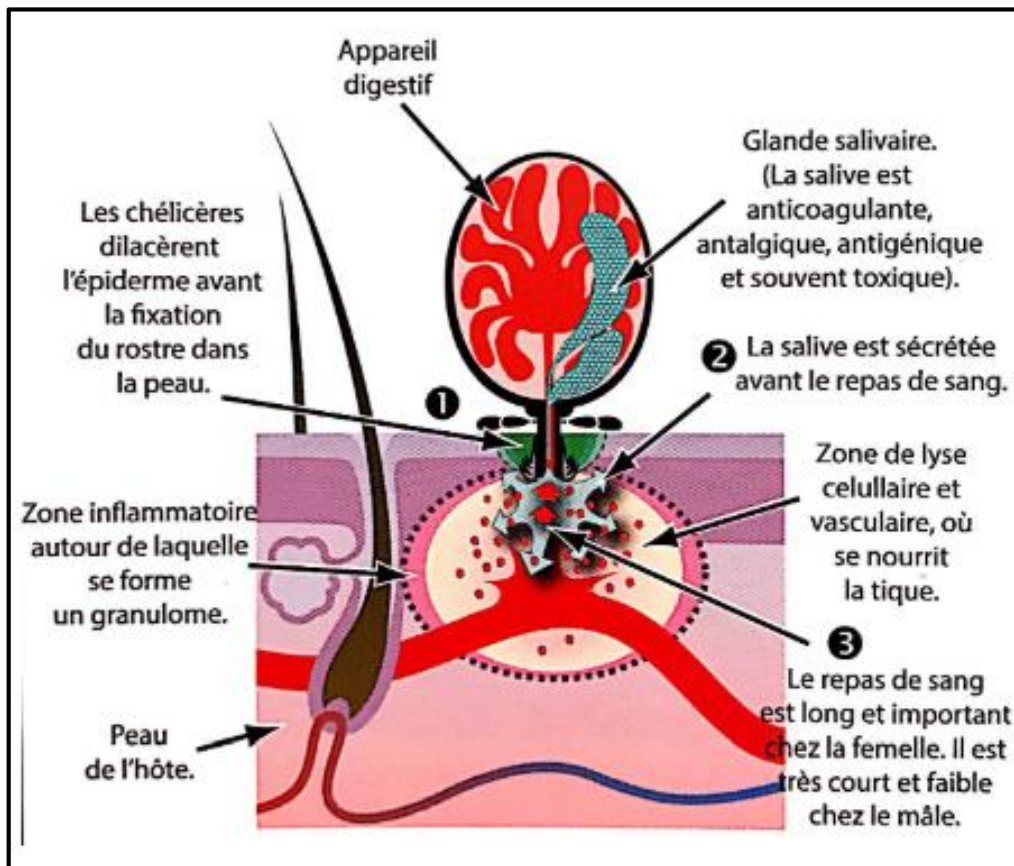


Figure 6 : Représentation schématique du repas sanguin d'une tique (**Sueur-Almosni, 2015**).

I.2.3. Cycle évolutif :

Le cycle des Ixodidae comporte trois stases séparées par des mues (**Figure 7**). Le terme de stase désigne les grandes étapes de développement, larvaire, nymphal et adultes, celui de stade, les petites étapes intermédiaires de développement, stade nymphal 1, stade nymphal 2, Stade nymphal 3, etc. La transition d'une stase à l'autre implique une transformation profonde avec une modification histologique, tandis que le passage d'un stade à l'autre se traduit par une mue limitée qui entraîne un simple accroissement de taille (**Drevon-Gaillot, 2002; Pérez-Eid, 2007**).

Les étapes de croissance sont plutôt longues, allant de quelques semaines à quelques mois (**Boulanger & McCoy, 2015**)

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

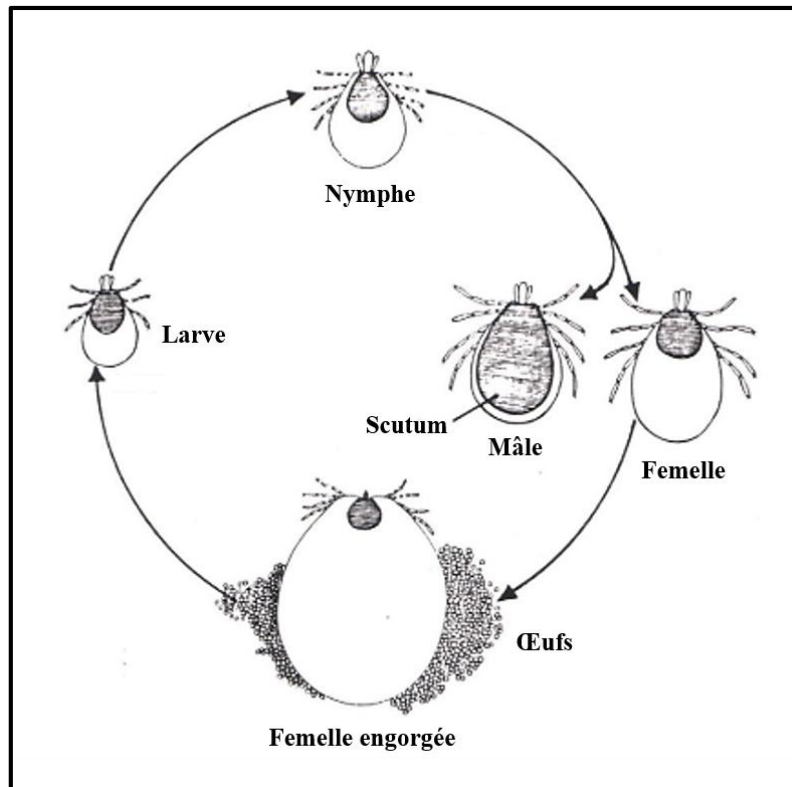


Figure 7 : Cycle de vie d'une tique Ixodidé (Frustin, 1994).

Le cycle évolutif chez les Ixodidae peut être réalisé en un an. Toutefois, la durée du cycle peut varier en fonction des conditions climatiques et environnementales, ainsi que des imprévus liés aux rencontres avec les hôtes (François, 2008).

Les espèces d'ixodidae peuvent avoir un, deux ou trois hôtes, en fonction du nombre d'animaux hôtes qu'ils s'attachent tout au long de leur cycle de vie (Jongejan & Uilenberg, 2004).

I.2.4. Différentes stases types des cycles de vie :

Selon Sonenshine & Roe (2014a), on distingue trois type de cycles (Figure 8) :

- Les tiques d'un seul hôte (cycle monophasiques ou monoxènes), muent deux fois sur le même animal hôte, de la larve à la nymphe et de la nymphe à l'adulte.
- Les tiques à deux hôtes (diphasiques ou dixènes), muent une fois sur l'hôte, du stade larvaire au stade nymphal ; La nymphe engorgée tombe, mue l'hôte et l'adulte qui en résulte doit trouver un deuxième animal hôte (qui peut ou non être de la même espèce que le premier).
- Les tiques à trois hôtes (triphasiques ou trixènes), ne muent pas sur l'hôte ; La larve engorgée tombe, mue jusqu'à une nymphe, qui doit alors trouver un deuxième animal

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

hôte sur lequel elle s'engorge et retombe pour muer jusqu'au stade adulte, qui se fixera à un troisième animal hôte (si elle réussit à en trouver un).

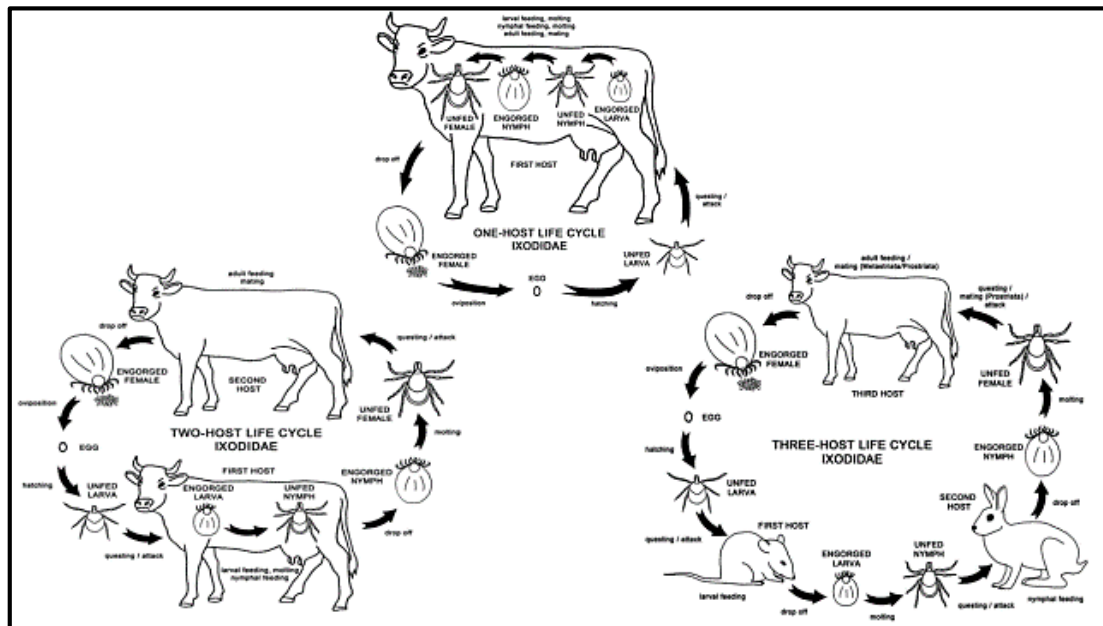


Figure 8 : Les trois types de cycle de vie des Ixodidés (Sonenshine & Roe, 2014a).

I.2.5. Différentes stades de développement :

I.2.5.1. Œuf :

Dans la plupart des espèces, la femelle pond en une seule fois entre 1 000 et 20 000 œufs, généralement à l'abri dans une anfruosité du sol, et meurt immédiatement après la ponte (Guiguen et al., 2019). La durée d'incubation des œufs, comprise entre 4 et 28 jours, varie en fonction de l'espèce et dépend de la température ambiante (Boulanger & McCoy, 2015).

I.2.5.2. Larve :

Elle est hexapode, molle et immobile, en quelques jours, ses téguments se chitinisent, ce qui l'amène à chercher un hôte (Guiguen et al., 2019). Une fois gorgée, elle se transforme en nymphes (Sonenshine & Roe, 2014a). Les larves restent dans la nature près de l'endroit où la femelle a pondu les œufs et sont donc « en amas » ou « en nids » (Boulanger & McCoy, 2015). Après son repas sanguin, la larve se détache, tombe sur le sol pour effectuer dans un lieu propice, sa transformation en nymphe. Cette transformation peut prendre de 2 à 8 semaines en fonction de l'espèce et des conditions climatiques (Francois, 2008). La larve est facile à reconnaître, car, en plus de sa petite taille, elle n'a que trois paires de pattes (Boulanger & McCoy, 2015).

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

I.2.5.3. Nymphe :

Les nymphes possèdent huit paires de pattes. Après une période variable, pouvant aller de plusieurs jours à plusieurs mois en fonction des conditions environnementales, les nymphes entament la recherche d'un deuxième hôte, qui n'a pas besoin d'être de la même espèce que le premier. Après avoir pris leur repas, les nymphes tombent au sol pour muer et atteindre le stade adulte **(Wall & Shearer, 2011)**.

I.2.5.4. Adulte :

La stade adulte nécessite une alimentation sanguine plus volumineuse et donc plus longue pour garantir la ponte. Le repas se prolonge de 5 à 10 jours **(François, 2008)**. En général, les adultes d'Ixodidae s'accouplent sur l'hôte. La femelle se nourrit jusqu'à ce qu'elle se gorge, tombe, pond un lot d'œufs et meurt **(Jongejan & Uilenberg, 2004)**. Dans le cas des *Ixodes*, les mâles adultes ne se nourrissent pas ou, dans le cas des *Metastriata*, ne prennent qu'une petite quantité de sang pour la spermatogenèse. L'accouplement se fera sur l'hôte ou sur le sol. Le mâle sera rapidement mort après la fécondation, de même que la femelle après la ponte **(François, 2008)**.

I.2.6. Mode de vie :

Le biotope constitue la majeure partie de la vie des tiques **(Pérez-Eid, 2007)**. Durant la vie libre, les diverses stases peuvent se trouver sur la végétation à la fois le jour et la nuit **(François, 2008)**. Quand il fait trop chaud, trop froid ou trop sec, les tiques se cachent dans des endroits protégés en attendant des conditions plus favorables à leur croissance **(Boulanger & McCoy, 2015)**.

Durant la vie parasitaire, les mues n'ont d'autre source d'énergie que les repas sanguins, et elles sont en attente d'hôtes **(Otmani, 2013)**. Les Ixodidae restent sur leurs hôtes pendant un court laps de temps (quelques semaines) par rapport à la durée totale de leur cycle (quelques mois à quatre ans), mais doivent consommer du sang à chaque stade afin de pouvoir soit muer et passer au stade suivant, soit se reproduire **(Marotel, 2006)**.

I.2.7. Activité saisonnière des tiques :

On définit l'activité des tiques comme la tendance des formes libres à chercher un hôte, généralement à l'affût de la végétation **(Boulanger & McCoy, 2015)**. Elle fluctue en fonction des conditions extérieures et évolue en fonction du climat de la région en question **(Rebaud, 2006)**.

On observe donc une activité bimodale dans les régions tempérées, avec un pic au printemps et un autre en automne, période où la température est élevée et la pluviométrie

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

abondante. Les espèces présentes dans les pays nordiques présentent une activité unimodale avec un pic au printemps, tandis que les espèces méditerranéennes connaissent une activité maximale en hiver, évitant ainsi les périodes de sécheresse **(François, 2008)**.

Lorsque les conditions extérieures ne lui sont pas favorables (trop sec en été, trop froid en hiver), la tique se met en diapause afin de survivre **(Rebaud, 2006)**. Elle permet à la tique de survivre dans un milieu hostile, en attendant de trouver des conditions plus adaptées à la poursuite de son cycle évolutif. Elle a une durée d'au moins trois à six mois et peut être prolongée de plus d'un an **(Marotel, 2006)**. Selon **Boulanger et McCoy (2015)**, Deux catégories de diapause ont été identifiées :

- La diapause comportementale, qui se manifeste par une quiescence des tiques non nourries lorsque les conditions environnementales ne sont pas favorables à la recherche de l'hôte.
- La diapause développementale, est une période où le développement des tiques gorgées ou des œufs est interrompu.

I.3. Distribution Géographique :

I.3.1. Dans le monde :

Ces acariens ont une répartition mondiale extrêmement variée, selon les espèces, elles peuvent être observées dans les habitats les plus inhospitalières, allant des zones glacées, aux zones désertiques, et des basses terres aux régions de haute altitude **(Djouaher et al., 2023)**.

À la différence d'autres vecteurs, les tiques occupent tous les continents de la planète, elles ont adopté de nombreuses stratégies efficaces pour localiser leurs hôtes, que ce soit directement dans leur habitat (endophilie), soit en quête sur la végétation ou en chasse active (exophilie) **(Boulanger & McCoy, 2015)**.

I.3.2. Dans le continent Africain :

Selon **Walker et al., (2003)**, on compte sept genres et plus de 40 espèces en Afrique, distribuées dans sept régions différentes (Nord, Sahara et le Sahel, Ouest, Nord Est, Central, Est et Sud) (Voir figure 09). Les genres concernés sont : *Rhipicephalus*, *Hyalomma*, *Haemaphysalis* (ces trois genres sont présents dans tout le continent), *Dermacentor* (uniquement au Nord), *Ixodes* (présente dans le Nord et le Sud), *Margaropus* (uniquement au sud), *Amblyomma* (présente dans les sept régions sauf le Nord) **(Figure 9)**.

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés



Figure 9 : Les sept régions d'Afrique pertinentes pour la distribution des tiques (**Walker et al., 2003**).

Certaines de ces tiques représentent également un danger pour la santé humaine, mais en Afrique, ce sont les animaux domestiques qui sont les plus gravement affectés par les tiques et les agents pathogènes qu'elles transmettent (**Walker et al., 2003**).

I.3.3. Bassin Méditerranéen :

Pour l'Europe et l'Afrique du Nord, plus d'une cinquantaine d'espèces de tiques dures sont connues. Concernant la zone méditerranéenne, cinq genres de tiques dures sont décrites (*Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes*, *Rhipicephalus* et *Hyalomma*) pour une vingtaine d'espèces principales recensées sur les animaux domestiques. Le genre *Amblyomma* n'est pour l'instant pas installé dans le bassin méditerranéen (**Grech-angelini, 2020**).

I.3.4. En Algérie :

Les tiques sont bien connues pour transmettre des agents pathogènes, qui mettent en danger la santé et le bien-être des animaux de compagnie et de l'homme en Algérie (**Perveen et al., 2021**). Les études sur la distribution géographique des tiques en Algérie ont été nombreuses :

La recherche menée par **Meddour et Bouderrda, (2006)**, a permis d'identifier 15 espèces de tiques sur des animaux domestiques et sauvages, principalement dans le Nord Est algérien. Les espèces concernées sont : *Ixodes ricinus*, *Boophilus annulatus*, *Dermacentor marginatus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus turanicus*,

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

Haemaphysalis punctata, *Haemaphysalis sulcata*, *Hyalomma anatolicum excavatum*, *Hyalomma dromedarii*, *Hyalomma lusitanicum*, *Hyalomma marginatum*, *Hyalomma aegyptium*, *Hyalomma detritum*, et *Hyalomma impeltatum*. En 2003, **Boukhaboul** a observé à Tiaret la présence de *Dermacentor* et *Haemaphysalis* en plus des genres recensés. Afin d'analyser la distribution et la diversité de la faune ixodienne dans l'Est algérien, une autre étude menée par **Dib et al. (2002)**, a révélé l'identification de 4 genres et 7 espèces.

Selon une étude récente menée par **Kernif et al.**, en Algérie en 2013, 20 espèces ont été identifiées, provenant de 6 genres : *Ixodes*, *Dermacentor*, *Boophilus*, *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis* et *Hyalomma*. Cinq espèces ont été identifiées comme étant inféodées aux milieux désertiques, cinq sont présentes dans toute la zone Nord-Est de l'Algérie, tandis que les trois espèces sont présentes partout en Algérie (**Figure 10**).

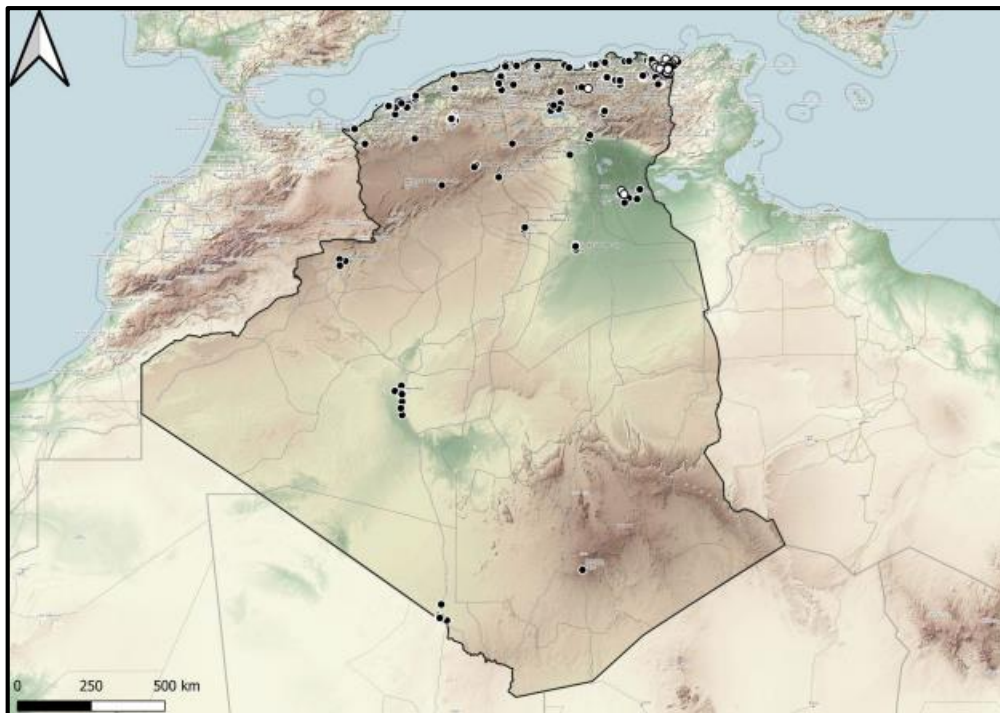


Figure 10 : Distribution de tous les membres de la famille Ixodidae en Algérie (**Mechouk et al., 2022**).

I.4. Modalités de lutte contre les tiques des bovins :

I.4.1. Lutte chimique :

Les tiques des animaux domestiques sont encore presque exclusivement contrôlées par acaricides en bain ou par spray. Ces substances sont coûteuses et nécessitent une grande quantité d'eau, ce qui rend leur utilisation compliquée dans les pays en voie de développement

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

(Péter & Brossard, 1998). Leur toxicité élevée entraîne l'apparition de phénomènes de résistance chez les tiques (Pérez-Eid, 2007).

Afin de réduire ces désavantages, il est essentiel que la fréquence des traitements dans une région prenne en considération l'écologie de ces ectoparasites (Péter & Brossard, 1998). Dans les années 1960, l'emploi du DDT (Dichloro Diphenyl Trichloroethane) en ex-URSS a considérablement diminué l'incidence de l'encéphalite à tique (Piesman & Eisen, 2008).

Le bain détiqueur est toujours une des techniques de lutte les plus courantes, bien que de nouvelles substances chimiques ont remplacé l'arsenic. Après la Seconde Guerre mondiale, on utilisa les organochlorés (DDT en particulier), puis les organophosphorés (coumaphos, diazinon, chlorpyrifos, etc.) pour la lutte contre les tiques. Ils furent ensuite remplacés par l'amitraz et les pyréthrinoides de synthèse, puis par le fipronil ou les lactones macrocycliques (ivermectine, abamectine, sélamectine, etc.) (Boulanger & McCoy, 2015).

Dans un premier temps, les pyréthrines naturelles ont été utilisées en raison de leur faible persistance dans les bains et de leur résistance. Ensuite, elles ont été remplacées par les pyréthroides de synthèse tels que les deltaméthrines et les perméthrines (Pérez-Eid, 2007).

I.4.2. Lutte biologique :

Tels que l'emploi des parasitoïdes, celui des prédateurs et enfin l'utilisation de biopesticides (Pérez-Eid, 2007).

- **Les parasitoïdes** : Depuis longtemps, il est connu que certains parasitoïdes hyménoptères du genre *Ixodiphagus* sont des destructeurs naturels de tiques (les femelles pondent dans les tiques gorgées) (Boulanger & McCoy, 2015).
- **Les pathogènes** : Différents types de bactéries, de champignons, de rickettsies et de virus ont été isolés de tiques ou ont été étudiés lors d'infections réelles. Bien que certains d'entre eux sont révélés comme pathogènes pour les tiques (Cuisance et al., 1994). Il y a peu de pathogènes pour ces acariens, y compris *Bacillus thuringiensis* et des *Bacillus* du groupe cereus. *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana*, des champignons entomopathogènes, peuvent également causer la mort des tiques en se propageant sur leur cuticule (Pérez-Eid, 2007).
- **Les prédateurs** : Les tiques sont les seules ou occasionnelles proies de différents prédateurs, dont l'influence ne peut être importante que lorsqu'ils sont nombreux et spécialisés. la seule prédation véritablement importante des vertébrés soit celle des pique-bœufs à bec jaune et à bec rouge (*Buphagus africanus* et *Buphagus erythrorhynchus*), oiseaux d'Afrique éthiopienne dont le régime alimentaire est

Chapitre I : Généralités sur les Ixodidés

principalement composé de tiques (Cuisance et al., 1994). De la même manière, certains arthropodes, tels que les araignées et les fourmis, peuvent être prédateurs des tiques **(Boulanger & McCoy, 2015)**.

Cependant, ces méthodes de lutte biologique restent d'efficacité controversée et elles sont coûteuses à mettre en œuvre, notamment parce qu'elles sont efficaces à des échelles spatiales limitées et nécessitent un renouvellement annuel **(Boulanger & McCoy, 2015)**.

I.4.3. Lutte génétique :

Il existe théoriquement deux méthodes. La première utilise la méthode des mâles artificiellement stérilisés et relâchés dans la nature, tandis que l'autre utilise celle des hybrides stériles issus du croisement naturel entre deux espèces similaires **(Cuisance et al., 1994)**. La lutte génétique par l'utilisation de mâles stériles, peut-être possible puisque les femelles ne s'accouplent qu'une fois, reste une voie inconnue chez les tiques, sans doute parce que la production de tiques en grande quantité, en élevage, est difficile **(Perez-Eid & Gilot, 1998)**. Pour que la méthode soit efficace, il est nécessaire d'avoir 10 fois plus de mâles stériles que de mâles sauvages **(Cuisance et al., 1994)**.

I.4.4. Lutte écologique :

Certaines méthodes de lutte ont été proposées à la suite d'observations concernant la biologie ou l'écologie des tiques et visent à réduire les possibilités de rencontre entre les tiques et leurs hôtes **(Cuisance et al., 1994)**. Le fait de contraindre les animaux à marcher pendant quelques dizaines de minutes dans les établissements d'élevage, où les tiques détachées ne trouveraient pas les conditions favorables à leur survie ou à celle de leur ponte, diminuerait d'autant le nombre de femelles qui seraient dispersées dans le milieu, ce qui limiterait l'infestation des prairies **(Boulanger & McCoy, 2015)**.

La température est l'un des facteurs abiotiques qui interviennent dans le processus et qui a un impact important sur la levée de la quiescence et l'activité des tiques. L'espèce hôte joue un rôle essentiel parmi les facteurs biotiques (taille, quantité de CO₂ générée, vitesse, fréquence et amplitude des déplacements sur le substrat, rythme d'activité des nyctèmes) ainsi que son abondance naturelle. On a proposé de favoriser la plantation de certaines plantes répulsives ou toxiques pour les tiques afin de supprimer une partie des tiques disséminées par les hôtes **(Cuisance et al., 1994)**. Cependant, cela n'a jamais été réalisé sur une vaste étendue, et il a même été estimé que ces plantes devaient être fortement prédominantes dans les prairies afin que leurs effets soient ressentis **(Boulanger & McCoy, 2015)**.

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

Dans ce chapitre, nous allons exposer les principales maladies transmises par les tiques aux bovins, leurs biologies, moyens de transmission et leurs distributions spatio-temporelles ainsi que les techniques de diagnostic et de traitement.

II.1. Définition et pathogènes :

II.1.1. Rickettsioses :

Sont l'une des causes importantes de fièvre en Afrique du Nord et chez les voyageurs venant à partir de cette zone (**Kernif et al., 2012**). Elles constituent un groupe de maladies infectieuses transmises ou en relations avec des animaux qu'ils soient des arthropodes (tiques, puces, et poux) ou du bétail (**Raoult & Brouqui, 1998**).

Le mot « Rickettsie » désigne un groupe de bactéries de la famille des Rickettsiaceae. À l'origine, cette typologie était fondée sur des caractéristiques phénotypiques telles que leur écologie, les données épidémiologiques, le pouvoir pathogène expérimental ou clinique et le sérotypage. Ce sont des maladies zoonotiques causées par des bactéries du genre *Rickettsia* spp. Les Rickettsies sont des bactéries Gram négatives de petite taille qui se développent dans les cellules endothéliales et produisent des vascularites (**Jensenius et al., 2004 ; Kernif et al., 2012**). Ce sont des alpha-protéobactéries de 0,8 à 0,2 µm de long et de 0,3 à 0,5 µm de diamètre (**Bessis, 2008**). Selon **Flandrois (1997)**, leur paroi est similaire à celle des bactéries à Gram négatif, mais elles ne sont pas colorées par le Gram, mais par la coloration de Gimenez et celle de Giemsa (**Figure 11**).

L'ordre des Rickettsiales est composé d'une part, du genre *Rickettsia*, qui est représentatif des fièvres boutonneuses (famille des Rickettsiaceae), et d'autre part des bactéries de la famille des Anaplasmataceae, qui comprend plusieurs genres tels que les genres *Anaplasma* et *Ehrlichia* (**François, 2008**).

Ricketts a décrit pour la première fois les bactéries du genre *Rickettsia* spp en 1909. Depuis cette date, le genre *Rickettsia* a été étendu à 31 espèces, dont 15 sont considérées comme pathogènes à l'Homme (**Raoult & Roux, 1997 ; Abdad et al., 2018**). Elles sont réparties en deux groupes principaux : (**Parola & Raoult, 2007 ; Kernif et al., 2012**).

- ✓ **Le groupe de la fièvre pourprée (SFG) :** Il comprend la plupart des rickettsioses transmises par les tiques, sauf *Rickettsia felis* qui est transmise par les puces et *R. acari* transmises par les mites.

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

- ✓ **Le groupe typhus (TG) :** Il comprend *R. prowazekii* agent de typhus exanthématique ou endémique transmis par les poux de l'Homme et *R. typhi* agent de typhus murin transmis par les puces de rat.

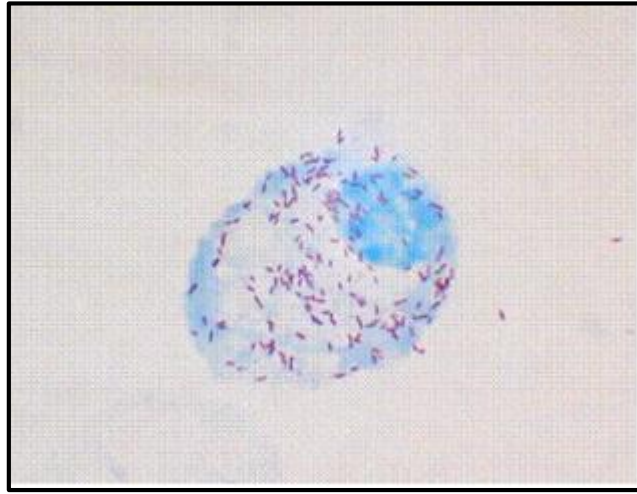


Figure 11 : *Rickettsia conorii* à l'intérieur d'une cellule endothéliale humaine. Coloration de Gimenez (Renvoisé & Raoult, 2009).

II.1.2. Anaplasmose :

L'anaplasmose bovine (autrefois appelée la « piroplasmose blanche »), maladie infectieuse inoculable et non contagieuse causée par des rickettsies du genre *Anaplasma* (Toiron, 2023).

Selon Boulanger et McCoy (2015), ces bactéries sont des organismes intracellulaires stricts qui doivent se reproduire à l'intérieur de vacuoles situées dans le cytoplasme des cellules eucaryotes.

Anaplasma marginale doit son nom à son occupation limitée de la périphérie des globules rouges infectés (Figure 12), contrairement à *Anaplasma centrale* qui, comme son nom l'indique, occupe principalement le centre de ceux-ci (Toiron, 2023).

En dehors des cellules, les anaplasmes sont souvent vulnérables en raison de leur manque fréquent de peptidoglycane, et même s'il est présent, il est peu rigide (Gharbi & Uilenberg, 2004). Cette bactérie, qui affecte principalement les bovins et est responsable de la plus fréquente anaplasmose animale à l'échelle mondiale (Grech-angelini, 2020).

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

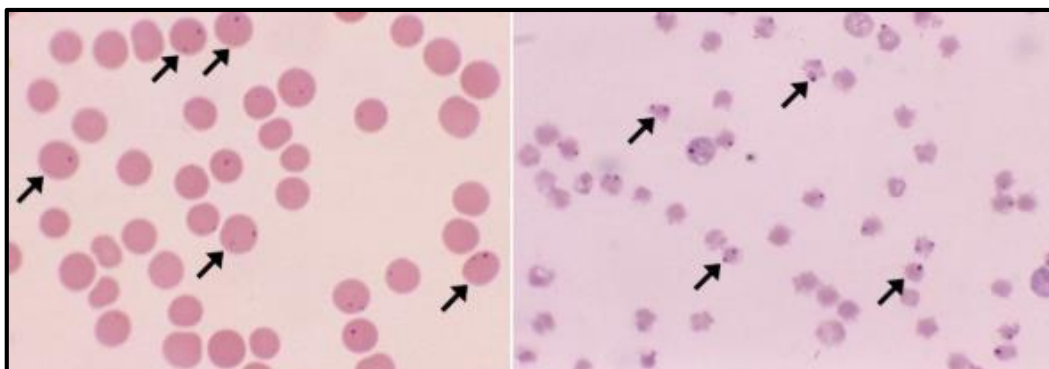


Figure 12 : *Anaplasma marginale* chez un bovin (Cells & Smears, 2018).

II.1.3. Babésiose :

Le premier cas de babésiose chez les bovins a été décrit par le physicien et biologiste roumain Victor Babès en 1888, tandis que le premier cas (humain) a été décrit en 1957 (Rakover, 2018). Selon François (2008), cette maladie pose un véritable défi dans les élevages, entraînant une mortalité significative et des pertes économiques importantes.

Les babésioses, également connues sous le nom de piroplasmoses, sont causées par la forme piriforme du parasite à la suite de sa multiplication au sein des hématies (Figure 13). Ce sont des zoonoses qui ne touchent l'homme que rarement. Différentes espèces de protozoaires du genre *Babesia* sont responsables de ces maladies, qui sont transmises par l'intermédiaire d'acariens hématophages de la famille des Ixodidés : les tiques (Rakover, 2018).

Ces parasites sont des protozoaires intraérythrocytaires de l'ordre des Piroplasmida, appartenant à l'embranchement des Apicomplexa. Il existe plus de 100 espèces de *Babesia*, touchant les animaux domestiques (bovins, chevaux, moutons, chèvres, porcs, chiens et chats), la faune et, parfois, les êtres humains (Carter & Rolls, 2022).

Notre étude se concentrera sur deux espèces : *Babesia divergens* et *Babesia major*.

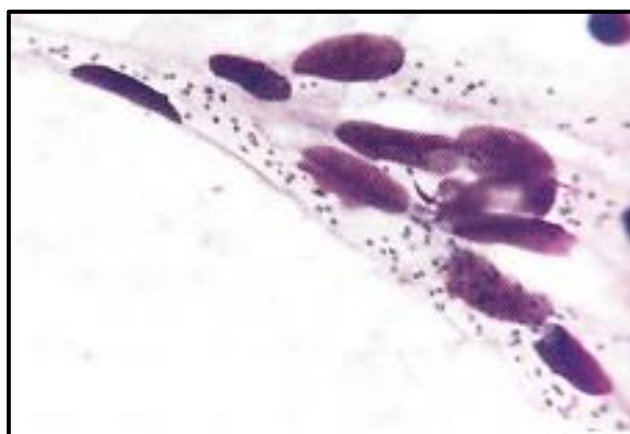


Figure 13 : Cellules endothéliales de vaisseaux capillaires de l'encéphale d'un bovin parasités par de nombreux *Babesia* (Collot, 2010).

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

II.1.3.1. *Babesia divergens* :

Babesia divergens est un type de protozoaires appartenant à la famille des Babésiidés, à l'embranchement des Apicomplexa, à la classe des Sporozoasida (Sporozoaires) et à l'ordre des Piroplasmida (**Rebaud, 2006**). La babésiose bovine causée par *B. divergens*, également connue sous le nom de fièvre des eaux rouges, est la plus grave maladie transmise par les tiques chez les bovins (**Zintl et al., 2003**).

L'étude des frottis sanguins colorés révèle que les organismes sont présents dans les globules rouges, à peu près toujours seuls ou par paires, souvent disposés à un angle caractéristique avec leurs extrémités étroites opposées. Elles sont généralement pyriformes, mais peuvent être rondes, allongées ou en forme de cigare (**Figure 14**). Les organismes de *Babesia divergens* sont souvent présents dans les films sanguins sous forme d'organismes appariés et très divergents, mesurant généralement 1,5 par 0,4µm (**Taylor et al., 2016**).

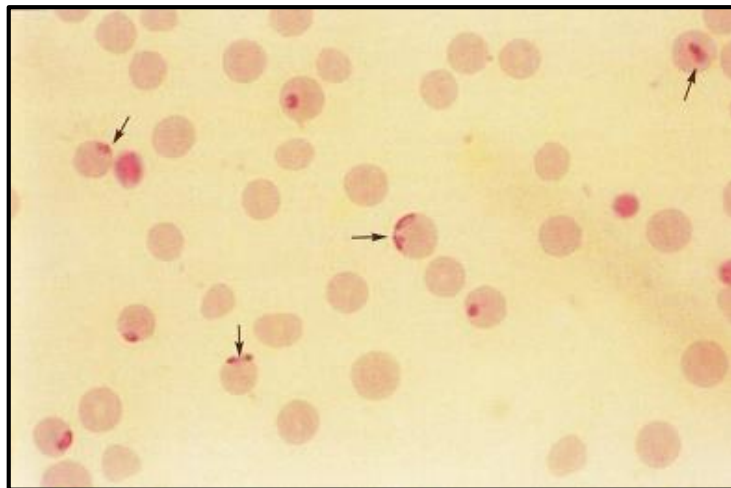


Figure 14 : *Babesia divergens* à l'intérieur des hématies de bovins (**Collot, 2010**).

II.1.3.2. *Babesia major* :

Babesia major a une taille plus importante « grande *Babesia* » de 2 à 3 µm de longueur (**Toiron, 2023**).

Apparaît à un angle à un angle aigu inférieur à 90° et localisés au centre de l'érythrocyte, même si des formes rondes d'environ 1,8 µm de diamètre peuvent également se former (**Taylor et al., 2016**) (**Figure 15**).

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

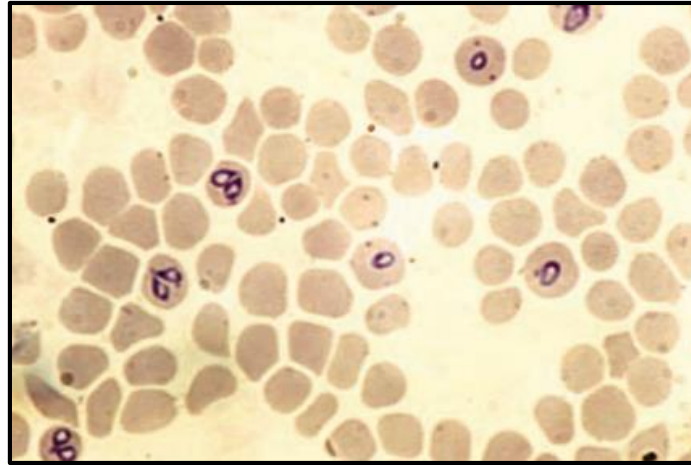


Figure 15 : Hématies de bovin infecté par *Babesia major* (Taylor et al., 2016).

II.1.4. Coxiellose :

Il s'agit d'une zoonose provoquée par *Coxiella burnetii*, une bactérie gram-négative intracellulaire stricte (largeur de 0,2 à 0,4 m, longueur de 0,4 à 1,0 m), qui peut former des pseudo-spores résistantes dans l'environnement extérieur (agents chimiques désinfectants, pH, température, dessiccation, pression osmotique) (Kazar, 2005 ; Psaroulaki et al., 2014 ; Boulanger & McCoy, 2015 ; Boarbi et al., 2016).

Coxiella burnetii appartient à la famille des Coxiellaceae, ordre des Legionellales de la subdivision gamma des Protéobactéries, est l'agent étiologique de la fièvre Q chez l'homme et la coxiellose chez l'animal. L'infection à *Coxiella burnetii* touche une grande variété d'animaux tels que les mammifères, les oiseaux, les reptiles et les arthropodes (Celina & Cerný, 2022 ; Menadi et al., 2022).

La première description de la fièvre Q a été faite par Dr Edward Derrick en 1937, après la découverte en août 1935 de maladies fébriles chez des travailleurs d'abattoirs dans le Queensland en Australie (Boarbi et al., 2016).

La santé publique mondiale est affectée par cette maladie, car elle n'a pas de symptômes chez l'homme dans plus de 60 % des cas. Elle influence en outre la santé animale et a une importance socio-économique, puisqu'elle est principalement associée à des problèmes de reproduction chez les ruminants domestiques, ce qui entraîne une baisse de la productivité des animaux infectés, et peut aussi entraîner une dégradation de l'image de la filière lait (Guatteo et al., 2008).

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

II.2. Mode de transmission et espèces concernées :

Les tiques, aujourd'hui les deuxièmes vecteurs d'agents pathogènes en santé humaine (en nombre de cas) et le premier en santé animale, jouent un rôle crucial dans la propagation des agents pathogènes **(Grech-angelini, 2020)**. Ces derniers se multiplient dans presque tous les organes et fluides corporels des tiques, en particulier les glandes salivaires et les ovaires **(Parola & Raoult, 2001)**. Ainsi, la transmission des agents pathogènes chez les tiques peut être :

- Par voie trans-stadiale Cela signifie le passage des agents pathogènes, des larves aux nymphes, et des nymphes aux adultes, mâles ou femelles **(Bouchaib, 2019)**.
- Par voie transovarienne ou trans-générationnelle : permet à la femelle de transmettre le micro-organisme à sa descendance, d'où son autre appellation de transmission verticale, à cause d'infection des ovaires de la tique femelle **(Bouchaib, 2019 ; Grech-angelini, 2020)**.
- La transmission sexuelle de ces bactéries des tiques mâles aux tiques femelles est aussi possible chez certain espèces **(Raoult & Roux, 1997)**.

Il existe aussi d'autre mode de transmission :

- La transmission mécanique se produit lorsque le sang d'un animal infecté est directement transporté passivement vers un animal sain par des insectes hématophages tels que les mouches piqueuses **(Ayard, 2020)**.
- Il y a aussi la transmission iatrogène, qui se produit lorsque du matériel souillé est utilisé ou lors de transfusions sanguines (les aiguilles, matériel de tatouage ou de castration) **(Gasquet, 2014)**.
- La transmission in utéro, où le pathogène est transmis de la mère à son fœtus. **(Gasquet, 2014)**.

II.3. Répartition géographique et temporelle :

II.3.1. Rickettsiose :

Les rickettsies sont réparties sur tous les continents et l'aire de répartition de chaque espèce est superposable à celle de ses vecteurs **(Boulanger & McCoy, 2015) (Figure 16)**.

Les conditions environnementales, les biotopes et les hôtes optimaux spécifiques sont privilégiés par la plupart d'entre eux. La répartition géographique du vecteur est influencée par ces facteurs, ce qui entraîne une zone à risque pour les maladies **(Parola & Raoult, 2006)**.

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

Malgré la présence de tiques vectrices spécifiques pour certaines espèces de rickettsies, il n'est pas rare qu'une seule espèce de rickettsie soit transmise par plusieurs espèces de tiques, notamment *R. conorii* est transmise par *Rh. sanguineus* en région méditerranéenne et par *Ha. leachi* et *Rh. simus* en Afrique subsaharienne ; *R. rickettsii* est transmis par *D. andersoni*, *D. variabilis*, *Rh. sanguineus* sl, et *Am. sculptum* (Boulanger & McCoy, 2015). *R. sibirica mongolotimonae* est transmise par le genre *Hyalomma* mais aussi par *Rh. pusillus*, etc..... (Portillo et al., 2015).

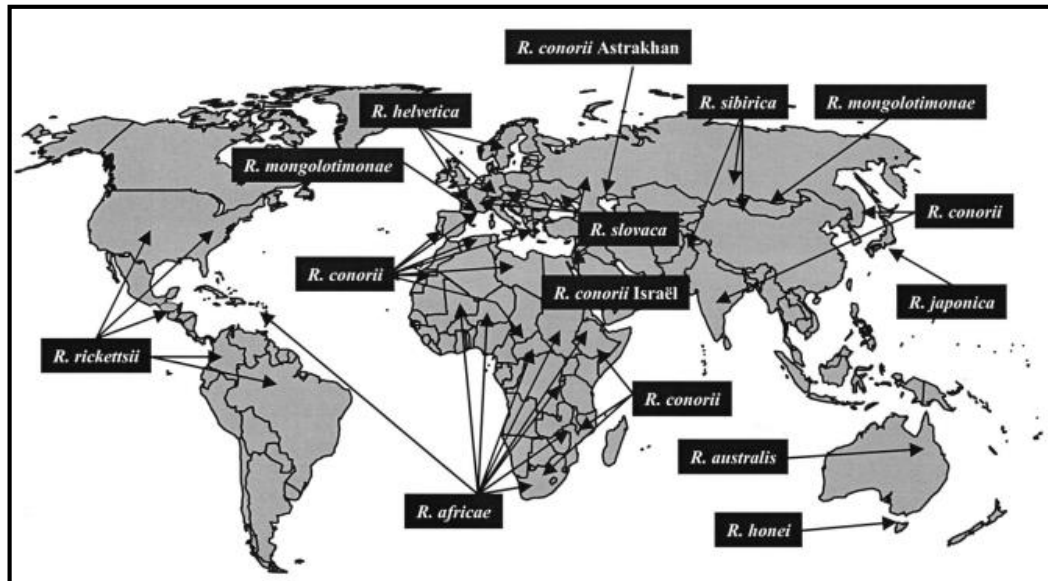


Figure 16 : Répartition géographique des rickettsies pathogènes transmises par les tiques (Parola & Raoult, 2001).

II.3.2. Anaplasmose :

Anaplasma marginale est présent sur tous les continents. La prévalence de cette maladie est particulièrement élevée dans les zones tropicales et subtropicales, où elle est endémique en raison de la présence de nombreux vecteurs. Tout à fait ! *Anaplasma marginale* est présent de manière endémique dans de nombreuses régions des États-Unis, d'Amérique latine, d'Australie, d'Asie et d'Afrique. La répartition de cette maladie dans ces zones est influencée par le climat et la présence des vecteurs (Gasquet, 2014).

L'anaplasmose est transmise par les tiques qui sont plus actives pendant le printemps et l'automne. Cela entraîne une augmentation du nombre de cas cliniques observés à ces périodes. Cependant, il est important de noter que la maladie peut avoir une période d'incubation allant jusqu'à soixante jours. Par conséquent, il est possible d'observer des cas cliniques pendant l'été et l'hiver si la période d'incubation a été plus longue (Gasquet, 2014).

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

II.3.3. Babésiose :

Les caractéristiques physiologiques, les comportements et l'environnement influencent la répartition spatio-temporelle des tiques, y compris les variations d'humidité et de température, ainsi que la végétation. Cela a un impact sur la répartition des espèces de piroplasmes (**Rakover, 2018**). La prévalence saisonnière de cette maladie est liée à l'activité de son vecteur (**Rebaud, 2006**). En effet, elle est l'une des maladies les plus importantes du bétail en Afrique, au Moyen-Orient et dans plusieurs régions de l'Asie. Au niveau mondial, environ 50 % à 70 % des bovins sont vulnérables à la maladie (**Collot, 2010**). La babésiose bovine est causée par *B. divergens*, jusqu'alors considérée comme limitée à l'Europe, Cependant, le parasite a été repéré en Tunisie et se trouve donc en Afrique du Nord sous forme de foyers (**Bouattour et al., 2004**).

II.3.4. Coxiellose :

Coxiella burnetii est présente à travers le monde, à l'exception de l'Antarctique et de la Nouvelle-Zélande. Elle se rencontre dans une grande diversité de mammifères, d'oiseaux, de reptiles et d'arthropodes, dont une quarantaine d'espèces de tiques infectées naturellement et susceptibles de transmettre la bactérie à l'animal (**Boulanger & McCoy, 2015 ; Celina & Cerný, 2022**).

L'excrétion massive de *C. burnetii* dans l'environnement se produit chez les femelles infectées pendant la période de la parturition, ce qui entraîne une émission très importante de la bactérie dans divers tissus et fluides corporels, comme le mucus vaginal, les matières fécales, l'urine et le lait sanguin (**Celina & Cerný, 2022**).

L'épidémiologie de *C. burnetii* est influencée par les tiques, puisque l'agent pathogène a été identifié chez plusieurs espèces de tiques : *Amblyomma*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Ixodes*, *Hyalomma* et *Haemaphysalis*. La tique est un réservoir amplificateur, car elle permet à la bactérie de se multiplier dans l'estomac et l'intestin, avant d'être rejetée dans les déjections qui seront donc virulentes (**François, 2008 ; Abdelkadir et al., 2019 ; Sahu et al., 2020**).

Les tiques infectées par *C. burnetii* présentent des niveaux très élevés d'organismes viables, qui peuvent rester dans l'environnement pendant de longues périodes, et les tiques peuvent donc jouer un rôle crucial dans la propagation de l'organisme (**Parola & Raoult, 2001**).

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

II.4. Diagnostic :

Il est effectué avant tout à partir d'arguments épidémiologiques et cliniques (**Renvoisé & Raoult, 2009**). Il est important de prendre en considération la présence éventuelle de tiques dans l'environnement des bovins, ce qui pourrait expliquer une éventuelle contamination, confirmée par des tests en laboratoire (**François, 2008**). Il est réalisé selon deux approches :

II.4.1. Diagnostic direct :

Offre la possibilité d'identifier l'agent pathogène. L'examen microscopique est effectué sur un échantillon de sang de l'animal infecté (**Collot, 2010**). La méthode la plus couramment utilisée consiste à examiner les frottis sanguins colorés avec la technique du MGG (May-Grunwald-Giemsa). Cette méthode permet de mettre en évidence la présence de corps inhabituels à l'intérieur des globules rouges (**François, 2008**) (**Figure 17**).



Figure 17 : Piroplasmes intra érythrocytaires et mérozoïtes libres sur des prélèvements de cytoponction à l'aiguille et coloration Leishman (**Narang et al., 2019**).

L'amplification d'ADN par PCR est une méthode sensible et précoce, cette technique permet la détection et la différenciation des espèces des pathogènes (**Collot, 2010 ; Boulanger & McCoy, 2015**). Les arthropodes peuvent également être testés par biologie moléculaire et utilisés comme outils épidémiologiques (**Parola & Raoult, 2006**).

II.4.2. Diagnostic indirect :

La sérologie IFI (Immunofluorescence indirecte) est utilisée pour confirmer biologiquement l'agent pathogène, par immun-détection dans des échantillons de sang et de

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

tissus, ce qui nécessite une culture ou une amplification génique (PCR) (**Parola & Raoult, 2001 ; Boulanger & McCoy, 2015**).

II.5. Signes cliniques et épidémiologiques :

II.5.1. Rickettsiose :

Les symptômes caractéristiques diffèrent selon les espèces de rickettsies concernées, mais ils débutent habituellement 6 à 10 jours après une morsure de tique infectée. La fièvre, les maux de tête, la rigidité musculaire, l'éruption cutanée, le gonflement des ganglions lymphatiques voisins et la présence d'une ou plusieurs plaies d'inoculation sont les signes les plus courants (**Parola & Raoult, 2001**).

Chez les ruminants, la plupart des rickettsioses se manifestent par un cortège fébrile plus ou moins sévère, accompagné, chez les laitières, d'une hypogalactie voire d'une agalactie (**Gharbi & Uilenberg, 2004**).

II.5.2. Anaplasmose :

D'après **Boulanger & McCoy (2015)**, La période d'incubation dure de 1 à 3 semaines après la morsure d'une tique infectée. Chez les ruminants, les signes principaux sont une température élevée (40-42 °C), une perte d'appétit, de la fatigue, une démarche chancelante, et parfois une baisse de la production de lait. Les premiers signes aigus comprennent un syndrome pulmonaire ou un syndrome respiratoire estival. Les femelles gestantes peuvent également subir des avortements tardifs en série en raison de la capacité avérée de cette bactérie à provoquer des avortements.

II.5.3. Babésiose :

La maladie, potentiellement mortelle, se manifeste habituellement par de la fièvre et une hémolyse intravasculaire qui provoque une anémie progressive, hémoglobinurie et ictère (**Carter & Rolls, 2022**).

II.5.4. Coxiellose / fièvre Q :

Cependant, les tiques ne jouent qu'un rôle minime dans la propagation de la fièvre Q à l'homme et aux animaux domestiques, la principale voie d'infection étant l'inhalation d'aérosols ou de poussières infectées (**Boulanger & McCoy, 2015**).

Dans 60 % des situations, la maladie humaine n'a pas de symptômes, se manifeste après une incubation moyenne de 9 à 21 jours et se présente sous la forme d'un syndrome grippal, de fièvre (qui peut durer jusqu'à deux semaines), d'une pneumopathie atypique. Une

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

forme chronique peut survenir chez les individus immunodéprimés, pouvant se transformer en hépatite ou endocardite sévère et entraîner une mortalité importante **(Boulanger & McCoy, 2015 ; Morel, 2018 ; Grech-angelini, 2020)**.

La bactérie provoque des avortements chez l'animal et pourrait être liée à des métrites et des problèmes respiratoires **(Boulanger & McCoy, 2015)**.

Une fois que la bactérie est en contact, la période d'incubation sera très brève, d'une durée moyenne d'une dizaine de jours. Après l'invasion, les bovins pourront développer des symptômes tels que la fièvre, l'inappétence et la fatigue, avant un retour à une situation normale **(François, 2008)**.

Effectivement, les glandes mammaires et l'utérus féminin sont des lieux principaux d'infection chronique **(Courcoul, 2011)**. Ainsi, les infections les plus importantes à *C. burnetii* se produisent uniquement chez les animaux en gestation et sont généralement liées à des avortements, des mortinaissances, la naissance d'une progéniture petite ou faible et une mammite **(Celina & Cerný, 2022)**.

Selon **François (2008)**, les conséquences peuvent être plus ou moins sévères chez les femelles en gestation, en fonction de la virulence du germe :

- Dans le cas où le germe est extrêmement virulent, il existe un risque d'avortement.
- En cas de moins de virulence du germe, le veau devient plus fragile et donc plus vulnérable aux infections.
- En cas de virulence très faible du germe, il n'y a pas de symptômes spécifiques chez le veau, mais la mère peut avoir des problèmes de non-délivrance, des métrites, ce qui peut retarder la date de la prochaine gestation.

II.6. Pouvoir pathogène chez l'animal :

Les tiques jouent un double rôle en causant des dommages, à la fois directement par la spoliation sanguine, la paralysie, la toxicose, la dyshidrose tropicale, les réactions allergiques et les plaies ; et indirectement en transmettant des agents infectieux à leurs hôtes vertébrés. Ils jouent un rôle essentiel dans la propagation d'une variété d'agents infectieux à travers le monde, se classant deuxième derrière les moustiques en ce qui concerne leur impact sur la santé publique humaine **(Boulanger & McCoy, 2015)**.

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

L'infection commence au niveau de l'inoculation lorsque l'agent pathogène est introduit, même si les cellules cibles spécifiques pendant la phase initiale restent incertaines. Après leur entrée dans la circulation sanguine, les microorganismes (bactérie ou parasite) se fixent et pénètrent dans leurs cellules cibles principales, qui peuvent être des cellules endothéliales ou des cellules monocytaires. Cela entraîne la formation d'une vascularite, qui est à l'origine des symptômes cliniques et des anomalies biologiques observées (**Renvoisé & Raoult, 2009**).

Cela peut provoquer une diminution remarquable de l'énergie des bovins, caractérisée par une baisse de leur appétit et surtout une perte de poids significative. Ces effets se traduisent par une réduction de la production, entraînant ainsi des pertes économiques considérables pour les éleveurs (**Rakover, 2018**).

II.7. Cycle évolutif :

II.7.1. Rickettsiose :

Ces bactéries ont un cycle de vie qui nécessite un arthropode vecteur et un animal vertébré qui est à la fois réservoir amplificateur et disséminateur (**Bouchaib, 2019**). L'infection et la multiplication des Rickettsiae se produisent dans pratiquement tous les organes de leurs hôtes invertébrés. Une femelle adulte infectée par les ovaires et les oocytes peut transmettre rickettsiae transovariablement à au moins une partie de ses descendants. L'infection d'un œuf entraînera l'infection de tous les autres stades de la vie de la tique (la transmission transstadiale est à 100%) (**Raoult & Roux, 1997**).

Au site d'une morsure d'arthropode, les rickettsies prolifèrent ce qui entraîne la formation d'une lésion locale dite escharre. Ces rickettsies pénètrent dans la peau ou les muqueuses et se reproduisent au sein des cellules endothéliales des capillaires sanguins, ce qui entraîne une vascularite (**Petri, 2024**).

II.7.2. Anaplasmose :

La tique se contamine pendant le repas sanguin. Les rickettsies se multiplient sous forme végétative dans la tique, puis repassent sous forme infectieuse dans ses glandes salivaires, leur permettant d'être transmises aux bovins (**Ayard, 2020**).

Le cycle biologique d'*Anaplasma marginale* se déroule dans les érythrocytes des ruminants. Les corps initiaux libérés par les globules rouges parasités pénètrent dans d'autres globules rouges par invagination, puis se multiplient (par scission binaire) et forment des corps

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

d'inclusions au sein des hématies, qui finissent par se rompre et libérer d'autres corps initiaux pour infecter de nouveaux érythrocytes (François, 2008 ; Toiron, 2023).

II.7.3. Babésiose :

Selon François (2008), après la piqûre, le parasite présent dans les glandes salivaires d'*I. ricinus* sera inoculé au bovin et se propagera dans la circulation sanguine (Figure 18). Il s'agit donc de forme infectante de ce parasite, appelée sporozoïte. Il s'attachera à la paroi érythrocytaire, puis entrera dans le globule rouge : c'est le trophozoïte... C'est alors que la phase de mérogonie, qui est donc la phase de multiplication asexuée, commence : le trophozoïte (de forme arrondie) subit une division par scission binaire, ce qui permet la formation de mérozoïtes. La libération de ces mérozoïtes par lyse du globule rouge (ce qui explique la libération d'hémoglobine dans le sang) leur permettra de contaminer d'autres hématies au sein desquelles le processus se déroulera.

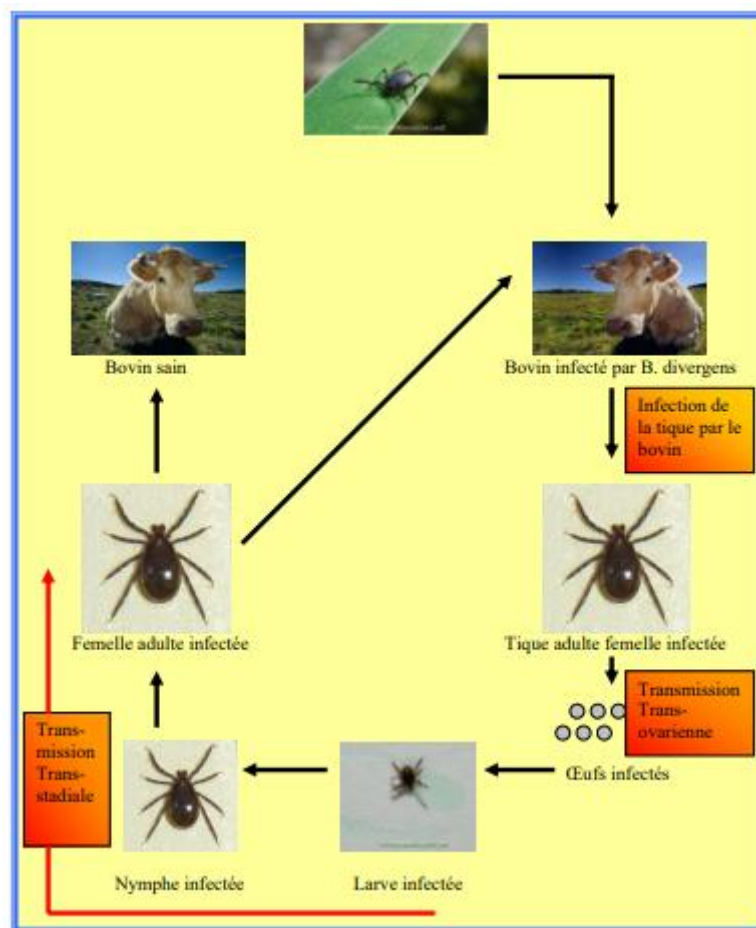


Figure 18 : Le cycle de transmission de *Babesia* (François, 2008).

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

II.7.4. Coxiellose :

Coxiella burnetii est une bactérie strictement intracellulaire, avec un tropisme spécifique pour l'appareil génital (utérus, glandes mammaires). Cependant, elle peut également se retrouver dans le sang, le foie, la rate ou les poumons. (François, 2008).

En utilisant leur capacité de phagocytose, *C. burnetii* infecte principalement les macrophages alvéolaires, développant ainsi des mécanismes pour survivre à l'intérieur de ces cellules hôtes (Morel, 2018).

Elle peut prendre diverses formes en fonction de son emplacement. La forme extracellulaire, aussi connue sous le nom de SCV « Small Cell Variants », est très résistante dans le milieu extérieur. Une fois ingérée par un organisme vivant, la bactérie va être phagocytée par une cellule, après s'être fixée à des récepteurs membranaires. Il va y avoir formation d'un phagolysosome résultant de la fusion du lysosome avec le phagosome. L'acidité de ces phagolysosomes permet à la bactérie de se métaboliser en une forme intracellulaire appelée LCV « Large Cell Variants », ce qui la rend métaboliquement active. La bactérie va alors utiliser la maturation de ce compartiment afin de générer une vésicule appelée CCV « Coxiella containing vacuole » ou VCC qui désigne la vacuole contenant de la *Coxiella* (Figure 19). Après 8 heures à 2 jours de l'internalisation, celle-ci se développe pour occuper un espace de plus en plus vaste dans le cytoplasme de la cellule hôte, dans laquelle elle pourra se reproduire grâce à un mécanisme de sécrétion qui lui permettra de produire des effecteurs dans le cytoplasme (François, 2008 ; Boarbi et al., 2016 ; Morel, 2018) (Figure 20).



Figure 19 : Image d'une cellule Vero infectée par *C. burnetii* observée au microscope inversé (VCC, vacuole contenant des Coxiella) (Boarbi et al., 2016).

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

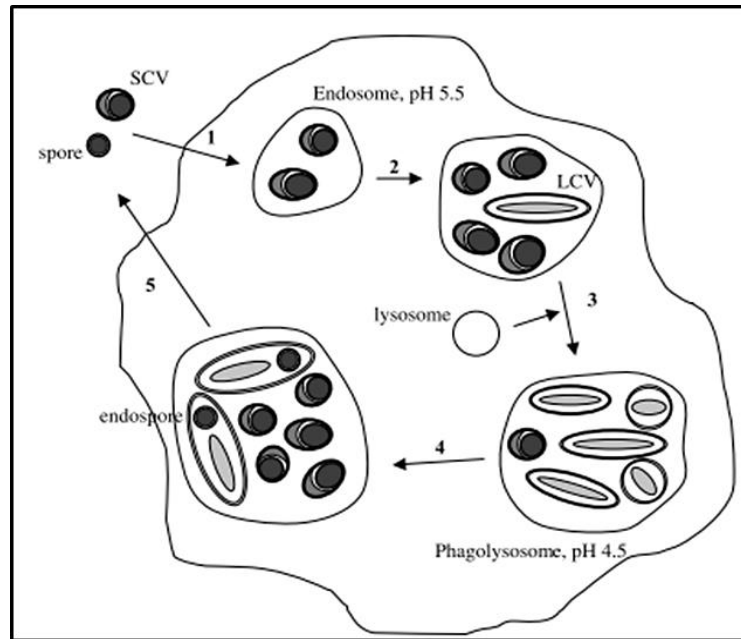


Figure 20 : Le cycle développemental de *C. burnetii* dans la cellule eucaryotique.

(1) Entrée de la spore ou des cellules SCV dans la cellule eucaryotique et acidification de l'endosome du phagosome (environ pH 5,5). (2) Multiplication des cellules SCV par fission binaire transversale et différenciation en variantes à grandes cellules LCV. (3) Fusion de l'endosome avec le lysosome, acidification du phagolysosome (environ pH 4,5). (4) Multiplication du LCV par fission binaire transversale, différenciation du LCV au SCV et développement de l'endospore polaire dans le LCV. (5) Libération de la spore et du SCV hors de la cellule (**Arricau-Bouvery & Rodolakis, 2004**).

Dans le cycle de développement, ces formes cellulaires présentent des protéines spécifiques pour chaque forme et sont identifiées par des anticorps produits lors d'une infection à *Coxiella*. Cette diversité d'antigènes pourrait permettre aux bactéries de s'échapper à la réponse immunitaire en altérant les protéines de la surface de leur organisme (**Arricau-Bouvery & Rodolakis, 2004**).

La chronologie de ces différentes transformations cellulaires est due à toutes les modifications causées par la croissance de l'agent pathogène dans la cellule. Ces modifications sont de diverses natures : Il y a des variations de température, de pression osmotique, de pH et de taux de nourriture (**François, 2008**).

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

II.8. Traitement :

II.8.1. Rickettsiose :

Les rickettsies sont des bactéries strictement intracellulaires et les techniques microbiologiques conventionnelles ne peuvent pas être utilisées pour évaluer l'efficacité des antibiotiques. Les techniques de culture cellulaire permettent de tester in vitro la sensibilité des rickettsies aux antibiotiques en déterminant les concentrations minimales inhibitrices **(Renvoisé & Raoult, 2009)**. La rapidité de prise en charge des rickettsioses contribue largement à réduire la sévérité des infections ; le traitement antibiotique repose sur la doxycycline qui possède une bonne pénétration intracellulaire et reste le traitement de référence. D'autres molécules ont démontré leur efficacité, comme la rifampicine, la josamycine, la clarithromycine et l'azithromycine **(Boulanger & McCoy, 2015)**.

II.8.2. Anaplasmose :

Chez les bovins l'oxytétracycline est généralement le traitement principal **(Boulanger & McCoy, 2015)**. Sur une période de 3 à 4 jours, il est recommandé d'injecter entre 5 et 10 mg/kg soit par voie intramusculaire soit par voie veineuse **(François, 2008)**. Aussi Un complément thérapeutique symptomatique, dont les anti-inflammatoires non stéroïdiens, est souvent recommandé **(Boulanger & McCoy, 2015)**. Pour éradiquer la bactérie, il est conseillé de réaliser deux injections d'oxytétracycline à action prolongée espacées de 7 jours, à une dose de 20 mg/kg en intramusculaire **(François, 2008)**.

II.8.3. Babésiose :

Il est essentiel de traiter rapidement la maladie car elle est fatale si elle n'est pas prise en charge. Un traitement tardivement peut être inefficace **(Rakover, 2018)**.

L'administration répétée de tétracyclines est nécessaire pour traiter les bovins infectés, par exemple l'oxytétracycline à 5 à 10 mg/kg en intramusculaire ou par voie veineuse pendant 3 à 4 jours, une dose d'oxytétracycline longue action de 20mg/kg est administrée en profondeur dans le muscle. On peut également commencer un traitement symptomatique en cas d'anémie grave (transfusion sanguine) **(François, 2008)**.

Dans les régions endémiques, l'élimination des piroplasmes n'a pas d'intérêt majeur, car le portage asymptomatique assure une immunité permanente. D'autre part, dans les pays non endémiques, il est préférable d'éliminer complètement les agents pathogènes pour ne pas conserver des individus réservoirs à l'origine de la propagation de la maladie et ainsi réduire les symptômes cliniques et le taux de mortalité **(Rakover, 2018)**.

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

II.8.4. Coxiellose :

Chez l'homme, dans le traitement des formes aiguës, la doxycycline est utilisée pendant trois semaines afin d'éviter la progression à la chronicité. Les formes chroniques sont traitées dans des centres spécialisés et nécessitent des traitements prolongés ; chez les femmes enceintes, un traitement par cotrimoxazole est mis en place jusqu'à la naissance (**Boulanger & McCoy, 2015**).

Chez les animaux, l'antibiothérapie vise à diminuer les symptômes et à diminuer les pertes financières. Le traitement antibiotique à l'oxytétracycline (20 mg/kg/jour), pendant 6 jours au cours du dernier trimestre de la grossesse, ou à la terramycine longue action (20 mg/kg/jour), à 2 fois à 3 jours d'intervalle, pourrait réduire les taux d'avortement et d'excrétion de *C. burnetii* chez les animaux en gestation. Toutefois, il est essentiel d'utiliser des antibiotiques de manière proportionnelle afin d'éviter la résistance microbienne (**François, 2008 ; Celina & Cerný, 2022**).

Si l'avortement a eu lieu, Les risques de rétention placentaire et de métrites peuvent être réduits en plaçant 6 oblets d'oxytétracycline (500 mg), 2 à 3 fois à 48 heures d'intervalle, associés à une injection prostaglandines (**François, 2008**).

Lorsque les troupeaux infectés sont connus, il est possible de séparer les animaux en gestation, ou de donner une dose prophylactique de tétracycline (8 mg/kg/jour) dans l'approvisionnement en eau avant la parturition afin de limiter la propagation de l'enflure (**Angelakis & Raoult, 2010**).

L'une des méthodes de gestion les plus efficaces consiste à vacciner afin de diminuer les taux d'avortement et la propagation de la bactérie. Elle empêche à la fois la transmission aux animaux en bonne santé et aux humains, et réduit l'excrétion de la bactérie, mais ne l'élimine pas. Actuellement, deux vaccins contre *C. burnetii* sont commercialisés pour l'utilisation vétérinaire dans de nombreuses régions du monde, à savoir Chlamyvac® et Coxevac® (**Celina & Cerný, 2022**).

II.9. Prophylaxie :

La prévention consiste de prendre des mesures agro-environnementales telles que le fauchage des zones limitrophes des pâturages, ainsi que des mesures zootechniques pour limiter le contact avec les tiques infectée. Il n'y a pas de vaccin, la prophylaxie est uniquement basée sur la prévention des piqûres de tique (**Boulanger & McCoy, 2015**). Une dose d'imidocarbe de

Chapitre II : Rôle pathogène des Ixodidés

2,5 mg/kg permet à l'animal de bénéficier d'une protection chimique de 4 à 6 semaines (François, 2008).

Chapitre III :

Matériel et méthodes

Chapitre III : Matériel et méthodes

Dans ce chapitre, nous présenterons la région d'étude, ainsi que les travaux de terrain menés et les diverses manipulations de laboratoire effectuées.

III.1. Présentation de la région d'étude :

Deux communes, Tizi-Rached et Makouda, ont été sélectionnées dans la wilaya de Tizi-Ouzou, située dans la région nord de l'Algérie. Elle s'étend sur une superficie de 2958 Km², elle est bordée au nord par la mer Méditerranée et bénéficie d'un littoral de 70 kilomètres, et au sud par la wilaya de Bouira, tandis qu'à l'est et à l'ouest se trouvent respectivement Bejaïa et Boumerdes (**Figure 21**). Près de la moitié (48 %) de la superficie de la wilaya est occupée par la végétation naturelle (**Kadi et al., 2014**). Elle est principalement caractérisée par un relief montagneux, ce qui entraîne un potentiel agricole très limité, estimé à seulement 32 %.

Un climat méditerranéen prédomine dans la région de Tizi-Ouzou, avec deux saisons bien distinctes : un hiver humide et froid et un été sec et chaud (**Kadi et al., 2014**).

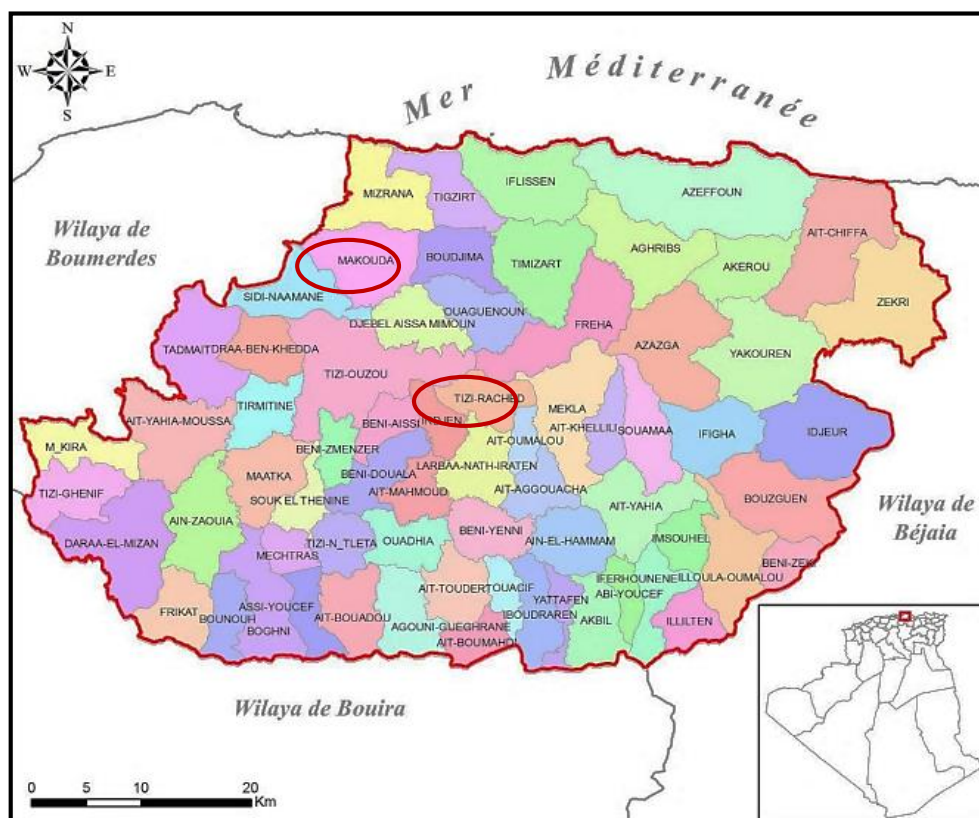


Figure 21 : Localisation des sites d'étude dans la wilaya de Tizi Ouzou (Boubesla et Boubidi, 2022).

III.1.1. Présentation de la région de Tizi-Rached :

Avec une superficie de 31,05 km², la commune de Tizi-Rached se trouve au cœur de la wilaya de Tizi-Ouzou, sur les premiers contreforts du Djurdjura, en bordure de la vallée de l'oued

Chapitre III : Matériel et méthodes

Sebaou. Elle est limitrophe de Frèha au nord, de Mekla à l'est, de Larbaâ n'ath Irathen au sud et de Tizi-Ouzou (chef-lieu de la wilaya) (**Figure 22**).



Figure 22 : Elevage à Tizi-Rached (Originale, 2024).

III.1.2. Présentation de la région de Makouda :

Makouda est située dans une région montagneuse, faisant partie de la chaîne de la Kabylie maritime, composée d'une plaine étroite dans sa partie sud, et du versant sud de la chaîne maritime au nord. Elle a une superficie de 57,43 km², et une altitude de 500 m. Le climat de Makouda est typiquement méditerranéen, chaud et sec en été, doux, humide et pluvieux en hiver. Elle est délimitée au nord par Mizrana, à l'est par Djebel Aissa Mimoun et Boujima, au sud par Sidi Namane, et enfin à l'ouest par la wilaya de Boumerdes (**Figure 23**).



Figure 23 : La région de Makouda (Originale, 2024).

III.2. Période et objectif d'étude :

Notre étude a été menée dans deux localités de la wilaya de Tizi-Ouzou, à savoir : des fermes d'élevage de bovins situées dans les régions de Tizi-Rached et de Makouda, durant le mois

Chapitre III : Matériel et méthodes

de mai 2024. L'objectif de ce travail est d'approfondir les connaissances sur la distribution des espèces de tiques des deux régions étudiées et sur certains pathogènes transmis aux bovins. Notre objectif est aussi de pouvoir élucider les symptômes des maladies liées et évaluer le risque spécifique de divers biotopes.

Enfin, nous voulons prendre conscience de la différence entre la fréquence de ces pathogènes dans les troupeaux dans les deux régions d'étude et les diagnostics et traitements établis par les vétérinaires sanitaires, dans le but d'améliorer leurs compétences et leurs diagnostics.

III.3. Choix et description des stations d'étude :

L'étude est réalisée dans le village de Taboukert dans la région de Tizi-Rached, et le village d'Attouche dans la région de Makouda. Les fermes sélectionnées ont été choisies en fonction de leur facilité d'accès, et sont de type moderne (**Figure 24, 25**).

Contrairement aux étables classiques, les étables modernes sont faites de briques et de ciment, elles sont bien ventilées et suffisamment spacieuses pour accueillir plusieurs animaux. Le nettoyage et la collecte du lait sont effectués avec des techniques modernes, et les éleveurs font appel à des vétérinaires pour un traitement régulier et la vaccination contre diverses maladies.



Figure 24 : Etable moderne (Tizi-Rached) (**Originale, 2024**).

Chapitre III : Matériel et méthodes



Figure 25 : Étable moderne (Makouda) (Originale, 2024).

III.4. Matériel et Méthodes :

III.4.1. Matériel :

Les prélèvements ont été réalisés durant le mois de Mai en utilisant divers types de matériel biologique et non biologique.

III.4.1.1. Matériel biologique :

Notre échantillonnage englobait non seulement les bovins sur lesquels nous avons prélevé l'échantillon de sang, mais également les tiques qu'on a collectées sur eux (**Figure 26**).

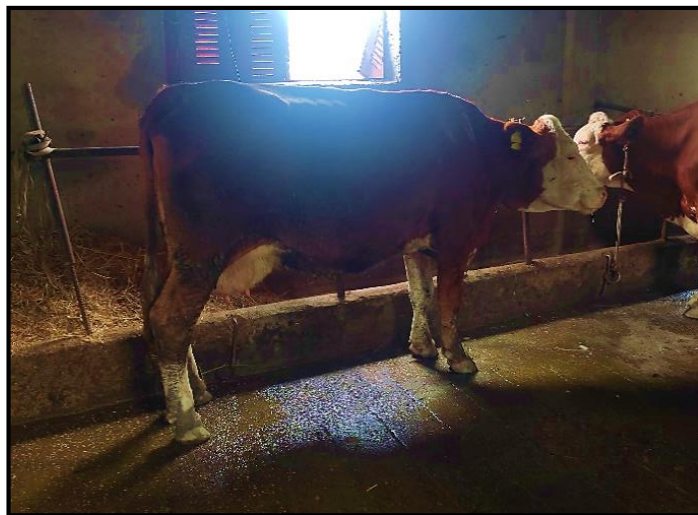


Figure 26 : Bovin échantillonné (Originale, 2024).

III.4.1.2. Matériel non biologique :

L'utilisation de divers dispositifs et équipements employés pour extraire le matériel génétique des pathogènes présents dans le sang des bovins, mais aussi chez les vecteurs.

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.4.2. Méthodes :

III.4.2.1. Fiche de recueil des renseignements cliniques :

Un questionnaire a été développé pour obtenir des informations sur les caractéristiques de chaque animale échantillonnées comme l'âge, le sexe, la race, la région...etc.

III.4.2.2. Prélèvements du sang :

Les échantillons ont été prélevés dans la veine coccygienne, puis le sang a été transféré dans deux tubes différents : l'un sec et l'autre hépariné. Chaque tube est identifié avec un code de référence spécifique à l'animal, par exemple : E5B2 (E numéro d'éleveur, B numéro de bovin), et des données épidémiologiques ont été consignées.

Les tubes ont été ensuite transportés dans une glacière au laboratoire d'Eco-épidémiologie Parasitaire et Génétique des populations, à l'institut Pasteur d'Alger.

III.4.2.3. Echantillonnage des ectoparasites :

Il s'agit d'abord d'examiner le corps de l'animal en commençant par les zones de fixation préférées de ces acariens, puis d'écarter le pelage avec la main afin de pouvoir les extraire à l'aide d'une pince fine, en veillant à ne pas endommager la partie supérieure de la tique (élément indispensable pour l'examen).

Les tiques ont été placées et transportées au laboratoire dans des tubes eppendorf qui porte le même code que le bovin parasité.

III.4.2.4. Identification des tiques :

Au laboratoire, on a procédé à l'identification des tiques en utilisant une loupe binoculaire (GX40). Au cours de l'identification l'affiliation au genre puis à l'espèce a été réalisée en se basant sur les clés dichotomiques établies par de **Moulnier, 2003** et **Walker et al., 2003 (Figure 27)**.

Les critères d'identification des genres sont les suivants :

- Position du sillon anal par rapport à l'orifice anal.
- La longueur et la forme du rostre.
- La forme de la base capitulum (Hexagonale ou Rectangulaire).
- La taille et la forme des palpes.
- La présence ou l'absence du feston.
- La forme de coxa de la première paire de patte.
- La présence ou l'absence des yeux.

Les critères de différenciation des espèces :

Chapitre III : Matériel et méthodes

La présence ou absence des plaques adanales.

- La position de pore génitale
- Nombre de festons.
- La couleur des pattes.
- La forme des yeux.

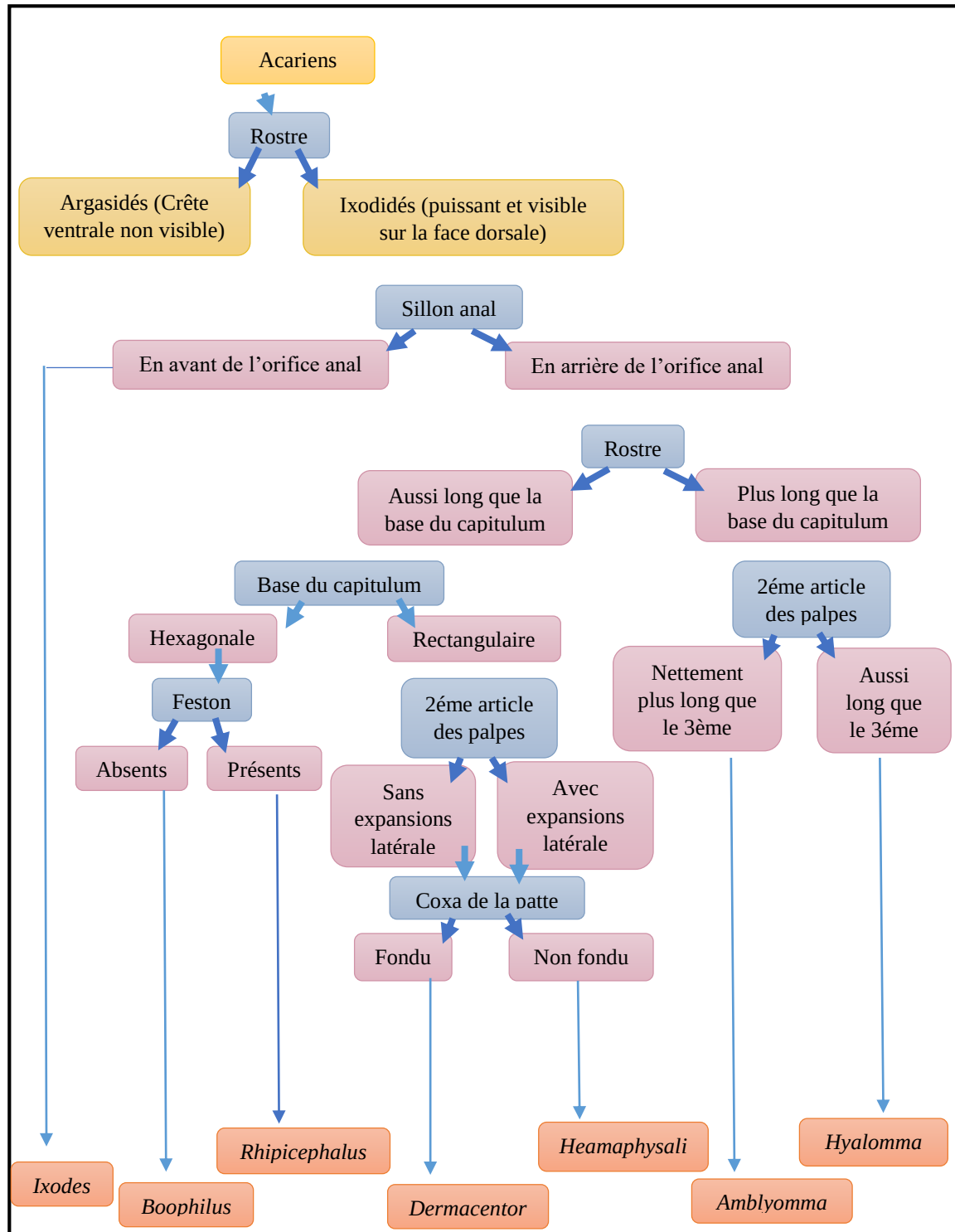


Figure 27 : Clé d'identification des genres des Ixodidés d'après (Moilinier, 2003).

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.4.2.5. Extraction d'ADN :

➤ Principe :

La technique d'extraction de l'ADN (acide désoxyribonucléique) consiste à extraire de l'ADN à partir d'une cellule en quantité et en qualité adéquates pour permettre son analyse.

Pour l'extraction d'ADN à partir du sang et des tiques, on a utilisé le CTAB (CetylTriméthylAmmonium Bromide), qui est un solvant qui sert à effectuer un broyage chimique.

On a adapté la méthode de **Rouvier et al. (1996)** pour les nodules de plantes actinorhiziennes des genres *Allocasuarina* et *Casuarina*. Pour obtenir une meilleure qualité et quantité de l'ADN extrait du sang de bovins et des tiques collectées, nous avons prolongé la durée d'incubation d'une heure à toute une nuit.

➤ Protocole expérimental :

Le tampon de lyse est préparé dans une hotte chimique en mélangeant du Béta-mercaptoethanol avec du CTAB. Le tableau ci-dessous présente les quantités de réactifs requises pour un échantillon.

Tableau 1 : Les volumes de réactifs utilisés dans le tampon de lyse.

	CTAB	Béta-mercaptoethanol
Pour 1 échantillon	0.2 ml	0.4 µl
Pour 10 échantillons	2 ml	4 µl

Cette méthode implique trois étapes (**Figure 28**) :

- **La lyse :** Comprend la lyse ou la rupture de la membrane des cellules présentes dans le sang.
 - 1- Ajouter 200 µl de tampon de lyse dans chaque 200 µl de sang.
 - 2- Incuber les échantillons dans un bain marie à une température de 65°C pendant une nuit.
 - 3- Ajouter 200 µl de chloroforme et bien mélanger par inversion.
 - 4- Effectuer une centrifugation pendant 5 minutes à une vitesse de 12000 tours/min.
 - 5- Prélever le surnageant et le placer dans un nouveau tube, en évitant de toucher la couche inférieure lors du pipetage, afin d'éviter toute contamination lors de la ré-centrifugation.
- **La purification :**
 - 1- Ajouter 200 µl de l'isopropanol et bien mélanger par inversion.

Chapitre III : Matériel et méthodes

- 2- Centrifuger pendant 15min à 12000 tours/min.
- 3- Vider l'isopropanol et bien égoutter puis ajouter 200µl d'éthanol absolue.
- 4- Centrifuger pendant 5min à 12000 tours/min.
- 5- Vider l'éthanol.
- 6- Sécher le culot sur une paillasse pendant toute une nuit.

- **L'élution :**

Ajouter 100ml d'eau distillée et les conserver au réfrigérateur à + 4°C.

Chapitre III : Matériel et méthodes

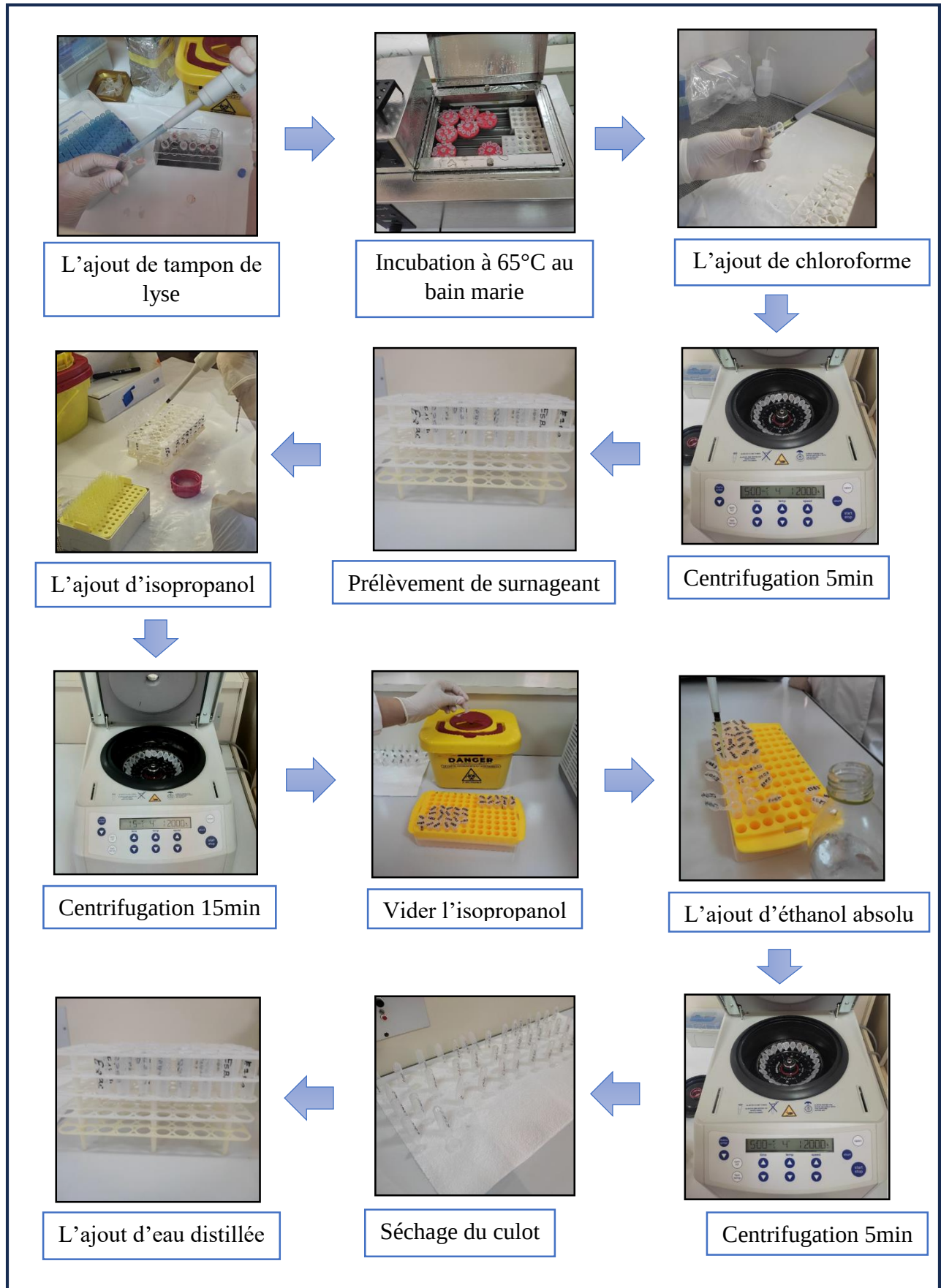


Figure 28 : Les étapes d'extraction d'ADN (Originale, 2024).

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.4.2.6. Dosage d'ADN par spectrophotométrie :

L'objectif est de valider la qualité et la quantité de l'ADN, après la purification, on mesure la densité optique des acides nucléiques, grâce à un spectrophotomètre (Nano drop).

➤ Principe :

Un spectrophotomètre utilise la transmission de la lumière à travers une solution pour déterminer la concentration d'un soluté à l'intérieur de la solution. L'appareil fonctionne suivant un principe simple, la lumière d'une longueur d'onde connue traverse un échantillon et où la quantité d'énergie lumineuse transmise est mesurée à l'aide d'une cellule photoélectrique placée de l'autre côté de l'échantillon. Toutes les molécules absorbent de l'énergie radiante à une longueur d'onde spécifique à partir de laquelle il est possible d'extrapoler la concentration d'un soluté à l'intérieur d'une solution. Selon la loi de Beer-Lambert, il existe une relation linéaire entre l'absorption A (DO) et la concentration de la macromolécule qui est donnée. La concentration des ADNs extraits est estimée par la mesure de l'absorbance (DO) à 260nm. Deux autres mesures de DO à 280nm et à 230nm sont également effectuées afin d'évaluer les rapports DO260/DO 280 et DO260/DO 230 et estimer, éventuellement, la qualité et la pureté de l'ADN extrait.

➤ Protocole expérimental :

Le NanoDrop one, utilisé dans notre cas, est doté d'un logiciel qui permet de mesurer la densité optique à 230 nm, à 260nm, à 280nm ainsi que les rapports A_{260nm}/A_{280nm} et $260nm/230nm$ (Figure 29).

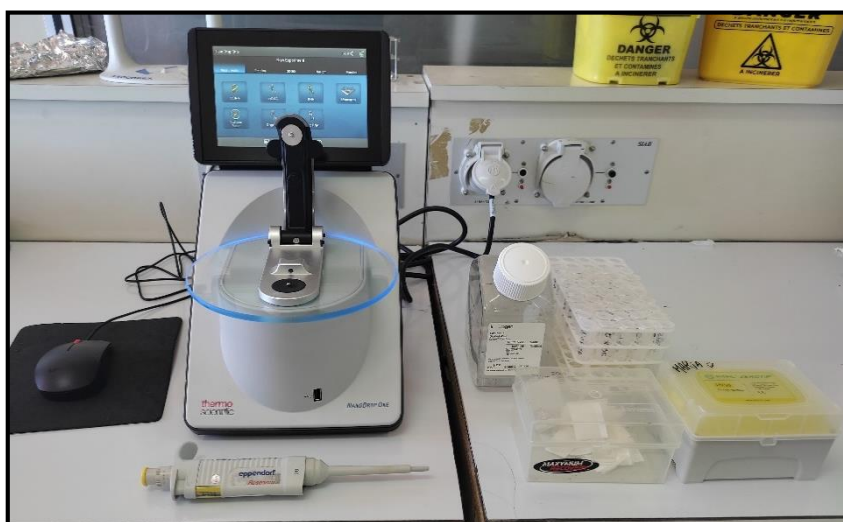


Figure 29 : Spectrophotomètre (Nano Drop) (Originale, 2024).

Le spectrophotomètre NanoDrop est un outil de laboratoire couramment utilisé pour évaluer la concentration d'ADN et d'ARN et de protéines dans une goutte de 2 μ L sur un piédestal.

Le système de mesure par NanoDrop one présente plusieurs spécificités :

Chapitre III : Matériel et méthodes

- ✓ Taille de l'échantillon en micro-volume
- ✓ Facile à utiliser : pipette l'échantillon directement sur le socle
- ✓ Aucune dilution requise, même pour les échantillons très concentrés
- ✓ Temps de mesure rapide de moins de 5 secondes
- ✓ Sortie spectrale complète (190 - 840 nm)

Ce système permet de pipeter un échantillon directement sur une surface de mesure optique. Une fois la mesure terminée, les surfaces sont simplement essuyées avec une lingette de laboratoire non pelucheuse (**Figure 30**).

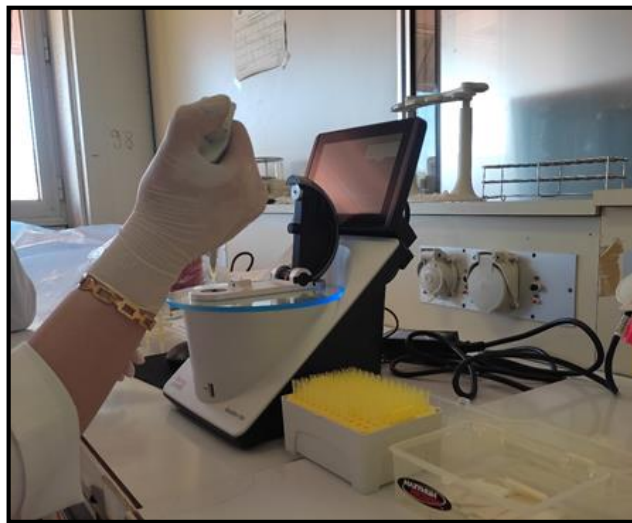


Figure 30 : Dosage des échantillons (Originale, 2024).

III.4.2.7. Détection moléculaire des agents pathogènes :

III.4.2.7.1. PCR standard :

➤ Principe :

C'est une technique puissante en biologie moléculaire, offre la possibilité d'amplifier de manière sélective et rapide une région précise de l'ADN, même à partir de très petites quantités d'échantillon initial, par un procédé d'extension d'amorces (**Tableau 3**), et avec l'utilisation de l'ADN polymérase, préparé dans un mix qui sera soumis à différents cycles à l'aide d'un dispositif connu sous le nom de thermocycleur.

➤ Les étapes de la PCR :

1- La dénaturation :

Rappelons tout d'abord que l'ADN est une structure à double brin. Cette étape consiste donc à séparer les deux brins de la molécule d'ADN. Pour cela, il convient de faire chauffer l'ADN à haute température (environ 95°C) pendant une dizaine de minutes.

Chapitre III : Matériel et méthodes

2- L'Hybridation :

Les liaisons hydrogène se reforment lorsque la température diminue (environ 40-60°C), ce qui entraîne l'hybridation des amorces (Reverse et Forward), qui vont se fixer par complémentarité sur les extrémités des deux brins encadrant la séquence à amplifier.

3- L'élongation :

Lorsque la température est idéale pour l'activité de l'ADN polymérase (environ 72°C), celle-ci commence à produire un brin d'ADN supplémentaire à chaque brin matrice, dans le sens 5' - 3', en prenant comme point de départ les amorces et en utilisant les deux brins simples comme modèle (**Tableau 3**). Ce processus est répété à plusieurs reprises afin d'obtenir une amplification exponentielle de la séquence cible.

➤ Préparation du mix :

Il est nécessaire de préparer le mélange sous une hotte à U.V, afin d'éviter toute contamination.

Afin d'obtenir le volume du mélange souhaité pour une étude, le volume de chaque composant du mélange est multiplié par le nombre d'échantillons étudiés, en plus des tubes pour les témoins positifs et négatifs (**Tableau 2**).

Le mix est ensuite transvasé dans les tubes comme suit :

- **Tous les échantillons** : 2.5µl d'ADN extrait de nos échantillons + 22.5µl de mix.
- **Témoin positif** : 2.5µl d'ADN positif + 22.5µl de mix.
- **Témoin négatif** : 2.5µl d'eau distillé stérile + 22.5µl de mix.

Tableau 2 : Volumes des produits du mix.

Produis	Rôle	Volume pour un échantillon
Tampon	Stabiliser le PH du milieu réactionnel	2.5µl
Mgcl 2	Cofacteur positif de la Taq polymérase	1.5µl
Solution Q	Maximiser l'activité de la Taq polymérase	5µl
Amorce 1	La Reverse et la Forward	0.5µl
Amorce 2		0.5µl
dNTP	Elongation des 2 brins d'ADN	0.5µl

Chapitre III : Matériel et méthodes

Taq polymérase	Intervient dans l'hybridation de l'ADN	0.2µl
L'eau distillée stérile	Pour l'équilibre	11.8µl
Totale	-	22.5µl

Tableau 3 : Gène et amorces utilisées en PCR standard.

Organismes ciblés	Organismes ciblés	nom	séquence (5'>3')
<i>Rickettsia</i> spp	omp A	190-70	5'-ATG-GCG-AAT-ATT-TCT-CCA-AAA-3'
		190-701	5'-GTT-CCG-TTA-ATG-GCA-GCA-TCT-3'
		190-180	5'-GCA-GCG-ATA-ATG-CTG-AGT-A-3'

III.4.2.7.2. RT-PCR :

➤ Principe :

Le principe de RT-PCR est identique à celui de la PCR standard, appart que l'amplification soit effectuée par l'automate "Smart Cycler" qui est piloté par un ordinateur, qui offre la possibilité de suivre en temps réel les données et leur traitement.

➤ Préparation du mix :

Un autre moyen de préparation rapide du mix est l'utilisation du master mix, un réactif qui comprend les éléments suivants : le buffer, les dNTPs, le MgCl₂ et l'ADN Polymérase. On utilise aussi la sonde d'hydrolyse (**Tableau 5**), également connue sous le nom de sonde TaqMan, est une molécule d'ADN courte avec un fluorophore à l'extrémité, elle a un rôle essentiel dans la détection de manière précise et sensible l'ADN cible (**Poitras & Houde, 2002**) (**Tableau 4**).

Le mix est distribué dans les tubes comme suit :

- **Tous les échantillons :** 5µl d'ADN extrait de nos échantillons + 15µl de mix.
- **Témoin positif :** 5µl d'ADN positif + 15µl de mix.
- **Témoin négatif :** 5µl d'eau distillé stérile + 15µl de mix.

Chapitre III : Matériel et méthodes

Tableau 4 : Volumes des produits du mix en utilisant le master mix.

Produits	Rôle	Volume pour un échantillon
Master mix	Remplace les autres composants	10µl
Amorce 1	La Reverse et la Forward	0.5µl
Amorce 2		0.5µl
Sonde	Pour la détection du pathogène	2µl
L'eau distillée stérile	Pour l'équilibre	2µl
Totale		15µl

Tableau 5 : Gènes, amorces et sonde utilisées en RT-PCR.

Organismes ciblés	Séquences ciblées	Nom	Séquence (5'>3')
<i>Coxiella burnetii</i>	spacer	IS1111f	5'-CAA-GAA-ACG-TAT-CGC-TGT-GGC-3'
		IS1111r	5'-CAC-AGA-GCC-ACC-GTA-TGA-ATC-3'
		IS1111 sonde	6-FAM-CCGAGTTCGAAACAATGAGGGCTG-TAMRA
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	apaG	Aph-apaGF	5'-TAA-GCG-CAG-TTG-GAA-GAT-CA-3'
		Aph-apaGR	5'-CGG-CAC-ATC-CAC-ATA-AAA-CA-3'
		Aph-apaGsonde	6-FAM- TGATGAACGGCTGGTATCAG TAMRA
<i>Babesia</i> spp	16S-23S internal transcribed spacer	TTBab-700r	5'-TTC-TTG-TCA-CTA-CCT-CCC-TGT-G-3'
		TTBab-550f	5'-GTA-GGG-AAT-TGG-CCT-ACC-G-3'
		TTBab-sonde	6-FAM-CATCTAAGGAAGGCAGGCGGCGGT-TAMARA

III.4.2.7.3. Electrophorèse sur Gel d'agarose :

La technique de l'électrophorèse d'ADN sur gel est employée afin de détecter et séparer les molécules d'ADN. Une matrice de gel composée d'agarose est soumise à un champ électrique, ce qui entraîne une migration des particules chargées à l'intérieur du gel et leur séparation en

Chapitre III : Matériel et méthodes

fonction de leur taille. Les fragments d'ADN se déplacent vers l'anode, l'électrode chargée positivement, en raison des phosphates du squelette de l'ADN qui sont chargés négativement.

En cas de positivité de l'échantillon, une bande fluorescente apparaîtra après visualisation sous trans illuminateur dans une chambre noire.

➤ Préparation de gel d'agarose 1% :

Le gel permet de séparer les molécules au dépend de leurs poids moléculaires.

- 1- Peser 1g d'agarose basique puis bien mélanger à 100 ml de tampon TAE (Tris Acétate EDTA).
- 2- Chauffer la solution au micro-onde, puis agiter pour l'homogénéiser.
- 3- Laisser refroidir pendant quelques minutes. Puis ajouter 6µl de BET (Bromure d'Ethidium).
- 4- Placer les joints dans la cuve d'électrophorèse pour fermer le support du gel.
- 5- Couler le gel et laisser refroidir pendant 30min, puis enlever les peignes.

➤ Dépôt des échantillons :

Après la préparation de gel d'agarose :

- 1- Remplir la cuve avec du tampon TAE.
- 2- Mélanger 3µl de tampon de charge (bleu de bromophénol) avec 7µl de notre échantillon sur un morceau de papier aluminium.
- 3- Déposer le mélange dans les puis en faisant attention de ne pas déchirer le fond du gel avec la pointe de la pipette.
- 4- Fermer la cuve, et brancher les fils et mettre sous tension.
- 5- Laisser migrer jusqu'à ce que le tampon de charge arrive à proximité du bord du gel.

➤ Révélation des bandes d'ADN :

C'est simplement la visualisation des bandes d'ADN sous UV à travers un trans illuminateur dans une chambre noire (**Figure 31**).

Chapitre III : Matériel et méthodes

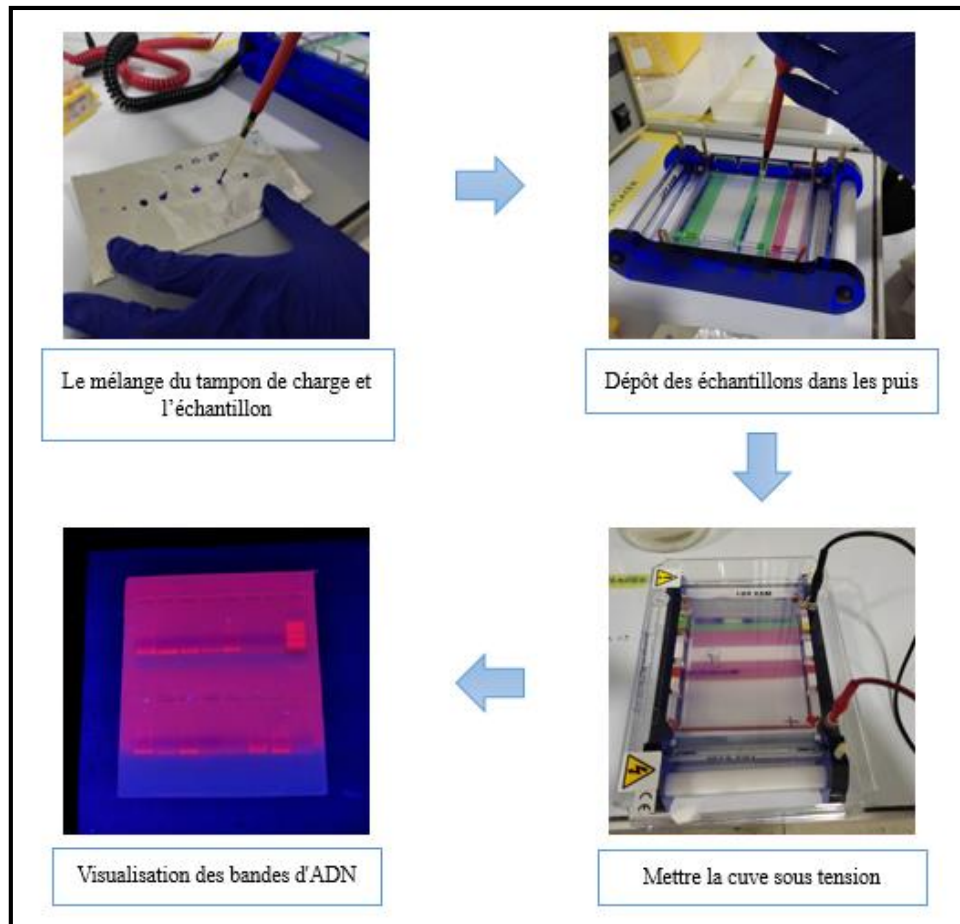


Figure 31 : L'électrophorèse (Originale, 2024).

III.4.2.7.4. Frottis sanguins :

En suivant plusieurs étapes (**Figure 32**) :

➤ **Étalement :**

- 1- Prélever une goutte de sang à l'aide d'une pipette pasteur.
- 2- Déposer la goutte à l'extrémité d'une lame qui porte le même code que le tube.
- 3- Poser une seconde lame inclinée à 45° juste à l'avant de la goutte, laisser là s'étaler, puis tirer la lame vers l'extrémité par un mouvement rapide.
- 4- Laisser le frottis sécher à l'air.

➤ **Préparation de colorant Giemsa :**

Diluer 1 volume de Giemsa pour 9 volumes d'eau physiologique, puis mélanger en agitant doucement. Ensuite filtrer le mélange avec un papier filtre, puis le transvaser dans une autre éprouvette, dès que la lame est prête.

➤ **Fixation et coloration par Giemsa :**

- 1- Recouvrir le frottis par le fixateur puis égoutter l'excédent, et laisser suspendre pendant quelques minutes.

Chapitre III : Matériel et méthodes

2- Rincer l'excès avec quelques gouttes d'eau physiologique, et laisser sécher.

3- Recouvrir le frottis par le Giemsa préparé, et laisser agir.

➤ **Séchage et lecture :**

1- Rincer le frottis rapidement à l'eau de robinet, puis égoutter et sécher à l'air libre.

2- Observer les lames au microscope optique, grossissement ($\times 40$), puis en immersion au grossissement ($\times 100$).

Chapitre III : Matériel et méthodes

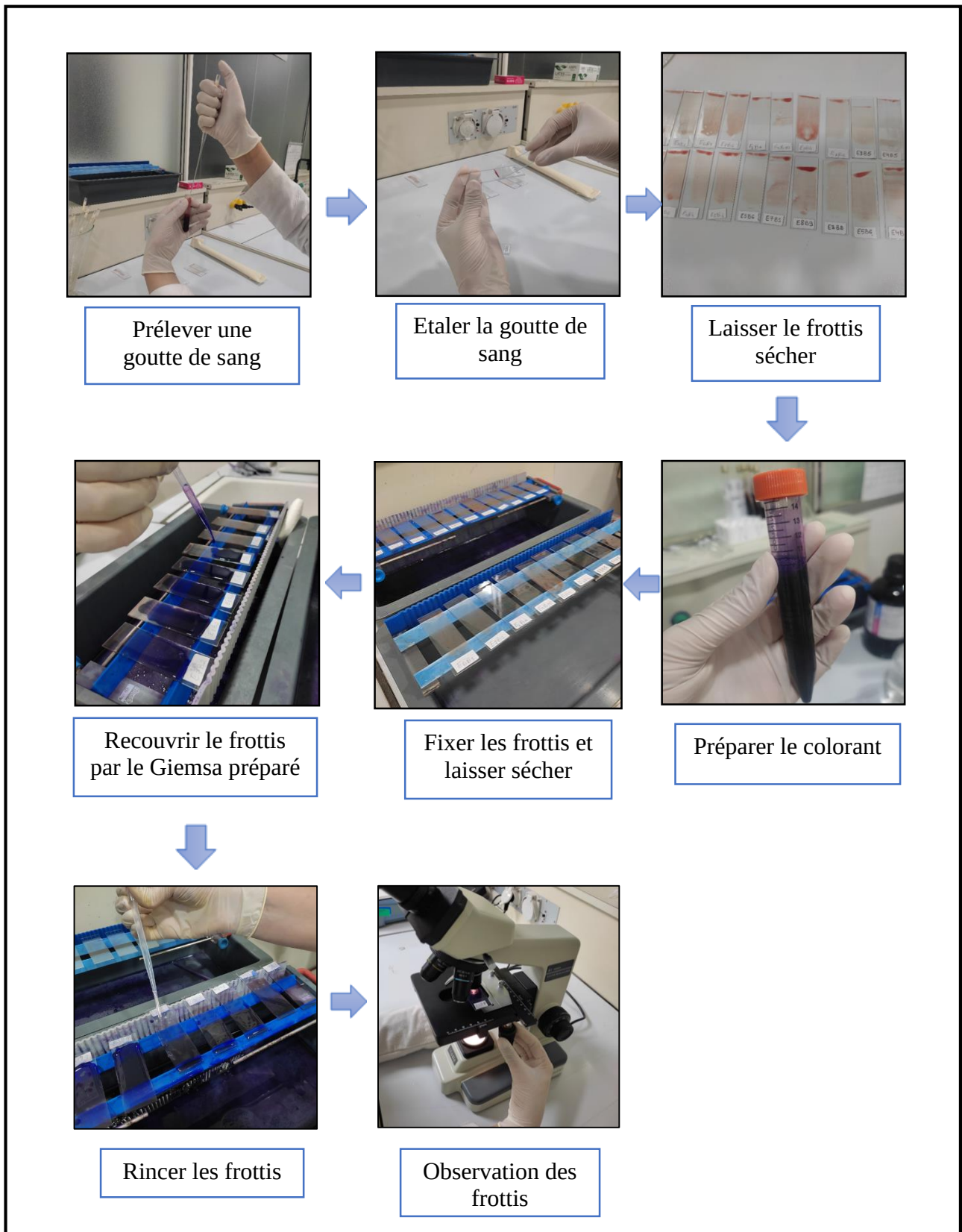


Figure 32 : Frottis de sang (Originale, 2024).

Chapitre IV :

Résultats et discussion

Chapitre IV : Résultats et discussion

Les résultats obtenus tout au long de l'étude, tels que le questionnaire, la PCR, les frottis sanguins et l'identification des tiques capturées dans les deux régions étudiées, sont abordés dans ce chapitre.

IV.1. Résultats :

IV.1.1. Résultats de la récolte des échantillons :

Dans la présente étude, un total de 68 bovins ont fait l'objet de prélèvements pour des échantillons de sang et d'ectoparasites dans la wilaya de Tizi-Ouzou, couvrant les régions de Makouda et Tizi-Rached. Les graphiques ci-dessous illustrent les résultats de l'échantillonnage. L'analyse des graphiques révèle que la race *Fleckvieh* présente la plus grande densité avec 42 individus, représentant 61,7 %, suivie ensuite par les races *Montbéliarde* et *Holstein* avec 14 et 10 individus, représentant respectivement 20,5 % et 14,7 % (**Figure 33**).

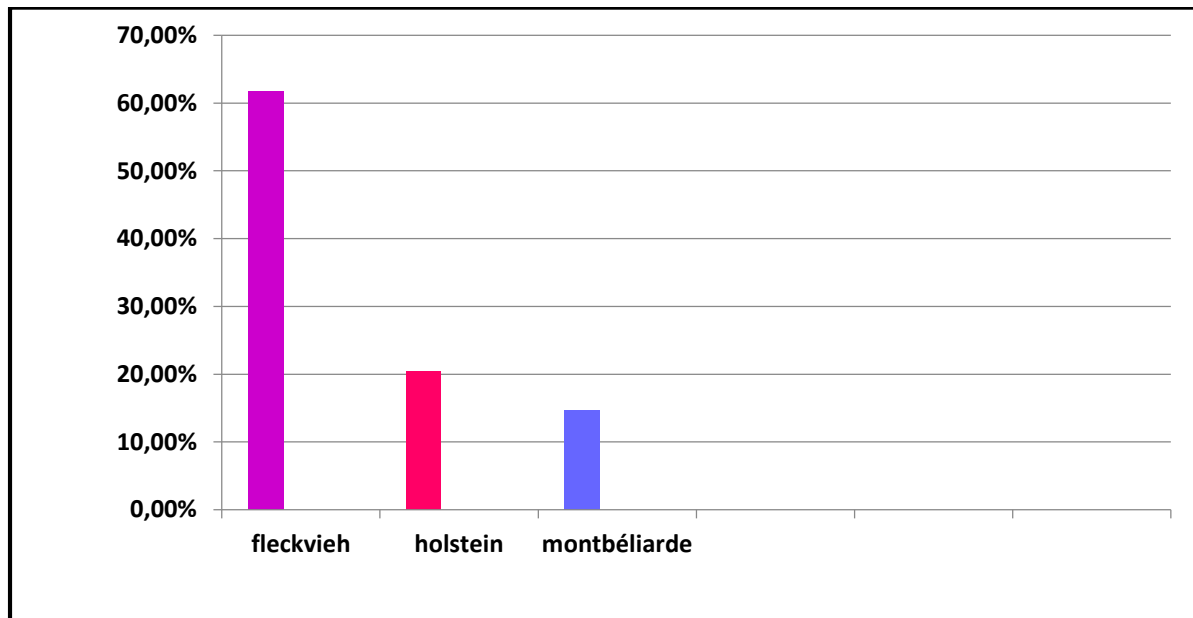


Figure 33 : Représentation graphique des taux des bovins échantillonnés selon les différentes races.

L'analyse du sexe ratio, révèle que 86,7% des bovins sont des femelles, tandis que 14,7% sont des mâles (**Figure 34**). De plus, les données graphiques indiquent que 18 bovins ont 1 à 2 ans, 36 bovins ont 3 à 6 ans et 8 bovins ont 11 à 14 ans (**Figure 35**).

Chapitre IV : Résultats et discussion

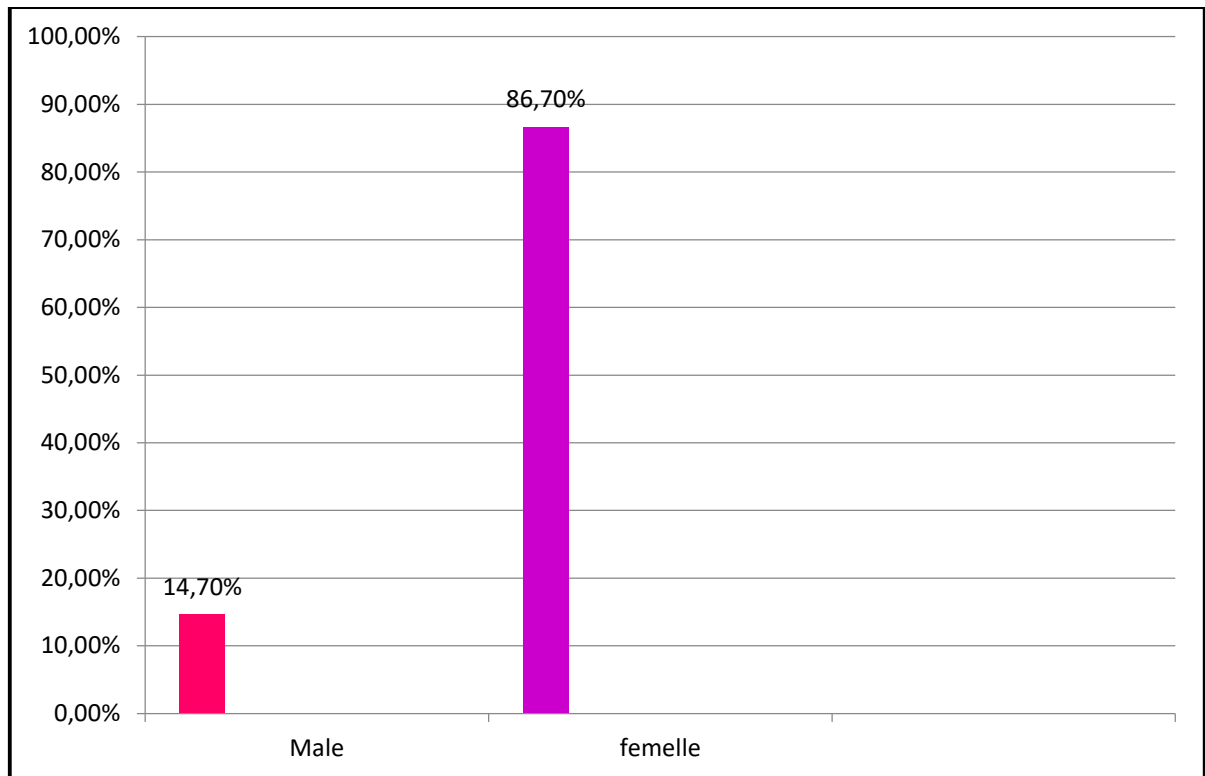


Figure 34 : Le sexe ratio des bovins échantillonnés.

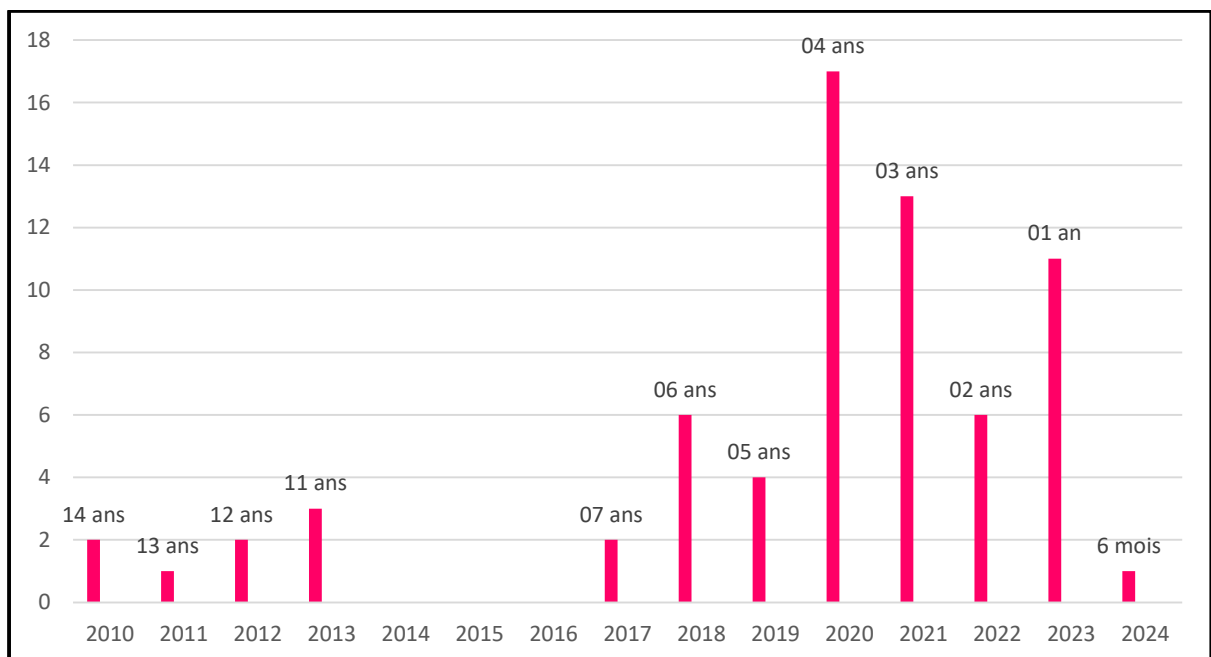


Figure 35 : Les différentes tranches d'âge des bovins échantillonnés.

Chapitre IV : Résultats et discussion

La répartition des bovins prélevés dans les deux régions d'études est consignée dans le tableau suivant.

Tableau 6 : Répartition des bovins prélevés dans les deux régions d'études.

Région	Fermes	Nombre de bovins prélevés	Male	Femelle	Symptôme	Présence de tique	Nombre de tique collectée
Tizi-Rached	E1	13	2	11	—	—	/
	E2	8	/	8	—	—	/
Makouda	E3	6	/	6	—	—	/
	E4	6	/	6	—	—	/
	E5	11	/	11	+	+	6
	E6	8	1	7	—	+	2
	E7	6	2	4	—	—	/
	E8	10	4	6	—	—	/

Quatre bovins présentaient des symptômes de diarrhée. Les codes des animaux concernés sont E5B5, E5B3, E5B4 et E5B11, ce dernier faisant partie des bovins parasités.

IV.1.2. Résultats d'identification des tiques :

Nous avons constaté que seuls quatre bovins ont été infectés par des tiques : E6B1, E5B11, E5B1 et E1B7 (**Tableau 6**).

La récolte des tiques a été effectuée dans la région de Makouda. Nous avons récolté 8 tiques, dont 6 femelles et 2 mâles. L'analyse des caractéristiques morphologiques des tiques a révélé que toutes étaient de l'espèce *Hyalomma anatolicum* (**Figure 36**).

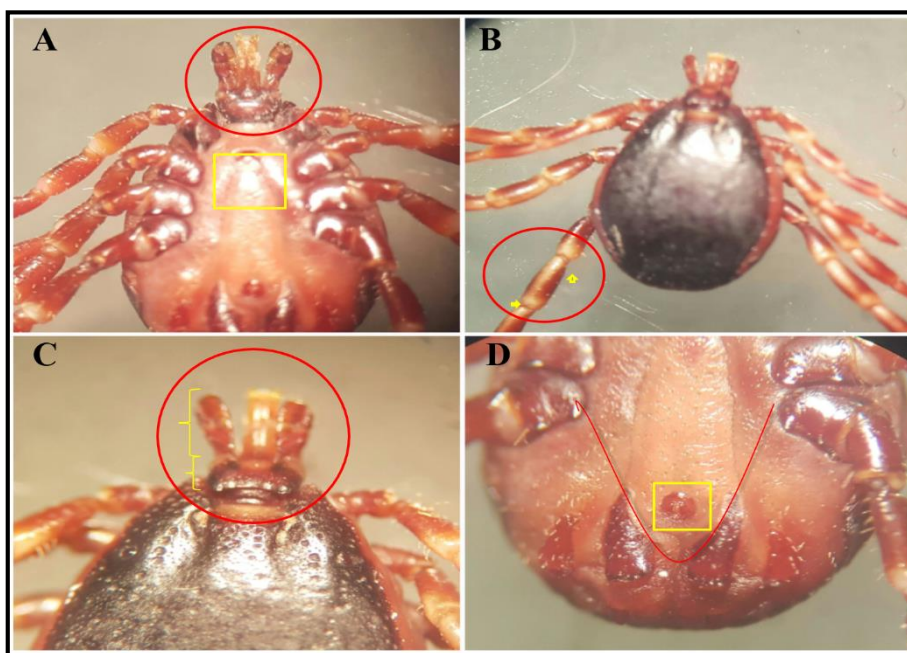


Figure 36 : *Hyalomma anatolicum* mâle sous loupe binoculaire (Gx40) (**Originale, 2024**).

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1.3. Résultats des frottis sanguins :

Les résultats des frottis sanguins effectués sur les bovins des différentes étables de Makouda et Tizi-Rached durant le mois de mai sont exposés dans le tableau suivant (**Tableau 7**).

Tableau 7 : Résultats d'observation des frottis sanguins.

Région	Lames	Forme des cellules	Prés/Abs des parasites	Forme du parasite
Tizi-Rached	E1B5	Cellules régulières	Absence	/
	E1B8	Cellules régulières	Absence	/
	E1B13	Cellules déformées	Absence	/
	E2B2	Cellules déformées	Absence	/
	E2B4	Cellules régulières	Absence	/
	E2B8	Cellules régulières	Présence	Piriforme
Makouda	E3B4	Cellules régulières	Absence	/
	E3B6	Cellules déformées	Absence	/
	E4B1	Cellules régulières	Absence	/
	E4B3	Cellules étoilées	Absence	/
	E4B4	Cellules déformées	Absence	/
	E4B5	Cellules régulières	Absence	/
	E4B6	Cellules déformées	Absence	/
	E5B1	Cellules régulières	Absence	/
	E5B2	Cellules régulières	Absence	/
	E5B3	Cellules déformées	Absence	/
	E5B4	Cellules régulières	Absence	/
	E6B6	Cellules déformées	Absence	/
	E6B7	Cellules régulières	Absence	/
	E7B2	Cellules déformées	Absence	/
	E7B3	Cellules déformées	Absence	/
	E7B4	Cellules étoilées	Absence	/
	E7B5	Cellules régulières	Absence	/
	E8B2	Cellules régulières	Absence	/
	E8B4	Cellules régulières	Absence	/

Chapitre IV : Résultats et discussion

	E8B5	Cellules régulières	Absence	/
	E8B6	Cellules régulières	Absence	/
	E8B8	Cellules étoilées	Absence	/
	E8B9	Cellules déformées	Absence	/

L'analyse microscopique des frottis sanguins réalisés sur les prélèvements sanguins des bovins dans diverses étables des deux régions d'études ont révélé la présence du parasite *Babesia* spp dans une lame.

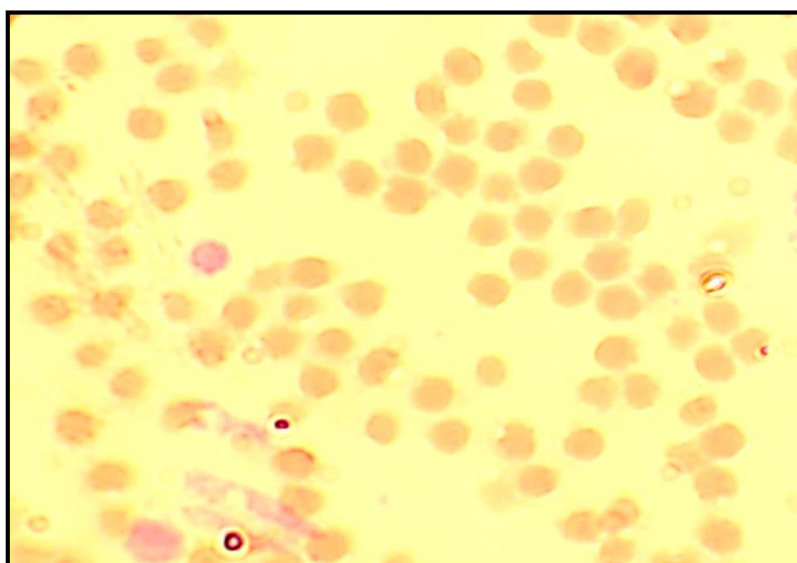


Figure 37 : Observation d'un frottis sanguin négatif Gx100 (lame E3B4).

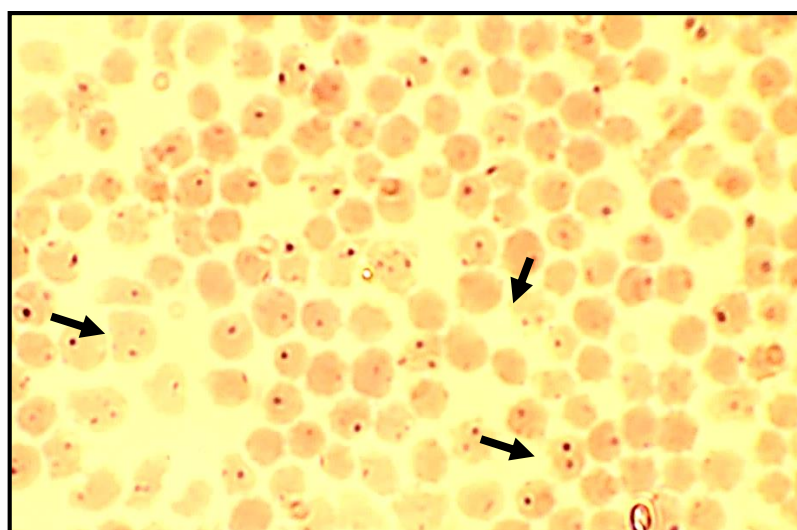


Figure 38 : Observation d'un frottis sanguin positif à *Anaplasma phagocytophilum* Gx100 (lame E2B8).

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1.4. Résultats du dosage d'ADN :

La méthode d'extraction au CTAB a permis de déterminer des concentrations d'ADN variables allant de 17,278 ng/μl à 712.543 ng/μl. Les résultats du dosage des 66 échantillons sont représentés ci-dessous (**Tableau 8**).

Tableau 8 : Les résultats du dosage d'ADN.

Echantillons	Acide nucléique (ng/μL)	A260/A280	A260/A230
E1B2	48.298	1.266	0.817
E1B3	27.144	1.486	1.053
E1B4	70.246	1.631	0.820
E1B5	73.594	1.824	1.120
E1B6	83.328	1.685	0.942
E1B7	54.404	1.593	0.882
E1B8	39.268	1.522	0.599
E1B9	29.246	1.500	1.169
E1B10	102.485	1.708	1.175
E1B11	108.371	1.482	0.616
E1B12	42.742	1.530	0.651
E1B13	74.182	1.985	2.693
E1B14	168.354	1.359	0.625
E2B1	20.655	1.137	0.366
E2B2	57.574	1.342	0.682
E2B3	17.278	0.977	0.202
E2B4	49.013	1.493	0.715
E2B5	712.543	1.011	0.202
E2B6	59.681	1.478	0.593
E2B7	75.060	1.618	0.896
E2B8	77.928	1.717	1.057
E3B1	51.466	1.828	0.968
E3B2	71.210	1.576	0.732
E3B4	74.584	1.670	0.992
E3B5	232.623	1.454	0.580
E3B6	256.679	1.531	0.667
E4B1	158.721	1.521	0.598
E4B2	131.694	1.321	0.549
E4B3	103.908	1.642	0.923
E4B4	249.598	1.565	0.910
E4B5	67.903	1.673	0.988
E4B6	229.933	1.432	0.698
E5B1	156.807	1.427	0.530
E5B2	105.712	1.560	0.912
E5B3	108.782	1.568	0.974

Chapitre IV : Résultats et discussion

E5B4	153.424	1.538	0.683
E5B5	35.966	1.518	0.686
E5B6	105.577	1.699	0.906
E5B7	232.106	1.283	0.402
E5B8	80.089	1.759	1.030
E5B9	64.326	1.649	0.935
E5B10	144.806	1.634	1.041
E5B11	202.516	1.394	0.712
E6B1	337.516	1.435	0.482
E6B3	74.305	1.547	0.720
E6B4	153.907	1.559	0.991
E6B5	77.086	1.686	1.177
E6B6	68.987	1.651	1.046
E6B7	136.172	1.614	0.799
E6B8	114.257	1.516	0.669
E7B1	70.758	1.534	0.815
E7B2	127.972	1.662	1.047
E7B3	150.192	1.192	0.321
E7B4	113.265	1.687	1.183
E7B5	154.003	1.749	1.178
E7B6	189.393	1.544	0.820
E8B1	244.641	1.412	0.517
E8B2	80.238	1.514	0.895
E8B3	54 704	1 428	0.692
E8B4	218.762	1.645	1.051
E8B5	542.817	1.133	0.424
E8B6	307.918	1.369	0.434
E8B7	231.157	1.358	0.478
E8B8	149.638	1.681	1.035
E8B9	46.863	1.682	0.979
E8B10	33.647	1.468	0.513

Deux tubes n'ont pas été inclus dans l'étude en raison de la faible quantité de sang prélevé.

IV.1.4.1. Taux des acides nucléiques :

Le dosage des ADN a révélé des concentrations satisfaisantes, avec des valeurs d'acides nucléiques élevés atteignant jusqu'à 712,543 ng/μL. C'est un résultat remarquable, car une concentration plus élevée favorise une meilleure détection des agents pathogènes.

IV.1.4.2. Rapport 260/280 :

La pureté d'ADN est évaluée en utilisant les longueurs d'ondes d'absorbance 260 nm et 280 nm. Un rapport de 1,8 à 2,0 ng/μl est considéré comme sans contamination pour l'ADN, tandis

Chapitre IV : Résultats et discussion

qu'un rapport plus bas peut suggérer la présence de protéines dans l'échantillon ou une contamination avec d'autres solvants ayant une absorbance proche de 280 nm.

IV.1.4.3. Rapport 260/230 :

La capacité d'absorbance à 260 et 230 nm peut servir d'indicateur secondaire de la pureté de l'ADN. Dans ce cas, un rapport entre 2,0 et 2,2 ng/µl est considéré comme pur. Si le rapport est inférieur, cela suggère la présence de substances contaminants comme le phénol qui s'absorbent à une longueur d'onde (230 nm).

Ces contaminants sont présents en raison de la persistance des solvants utilisés lors des lavages effectués sur l'échantillon.

IV.1.5. Résultats des PCR :

Pour la PCR on a préparé des pools pour économiser du temps et des réactifs. Il s'agit de regrouper l'ADN de 5 bovins différents dans un seul tube, soit 1µl de chaque échantillon, ce qui nous donne un total de 14 pools pour les 66 tubes qu'on a. La liste des pools est représentée dans le tableau ci-dessous (**Tableau 9**).

Tableau 9 : Le code des échantillons dans chaque pool.

Nombre de Pools	Echantillons
P1	E5B8, E4B2, E7B6, E5B7, E8B7
P2	E1B14, E8B10, E2B7, E1B9, E2B3
P3	E3B2, E1B8, E1B12, E6B3, E4B3
P4	E7B1, E2B6, E3B5, E5B9, E5B10
P5	E8B1, E7B5, E8B8, E5B4, E5B11
P6	E5B3, E2B4, E7B4, E7B3, E6B1
P7	E6B7, E3B6, E1B6, E5B5, E2B1
P8	E5B1, E1B11, E8B5, E2B8, E6B7
P9	E1B10, E3B1, E6B5, E3B4, E1B7
P10	E2B5, E1B4, E8B9, E4B5, E2B2
P11	E1B3, E8B6, E1B13, E4B1, E5B6
P12	E4B6, E7B2, E6B8, E1B2, E6B6
P13	E6B4, E1B5, E8B3, E4B4, E5B2
P14	E8B4, E8B2

Chapitre IV : Résultats et discussion

Une fois les pools préparés et les réactifs ajoutés, une PCR standard a été réalisée avec des amorces de *Rickettsia* spp, tandis qu'une RT-PCR a été réalisée avec des amorces de *Coxiella burnetti*, *Babesia* spp et *Anaplasma phagocytophilum*.

➤ Détection de *Rickettsia* spp :

Après lecture du gel, des bandes d'environ 700 pb ont été visualisées, correspondant au témoin positif T+. Nous avons également observé des bandes positives pour les pools 01 et 12. Ces résultats indiquent que l'ADN présent dans ces pools est amplifié du genre *Rickettsia* spp (Figure 39).

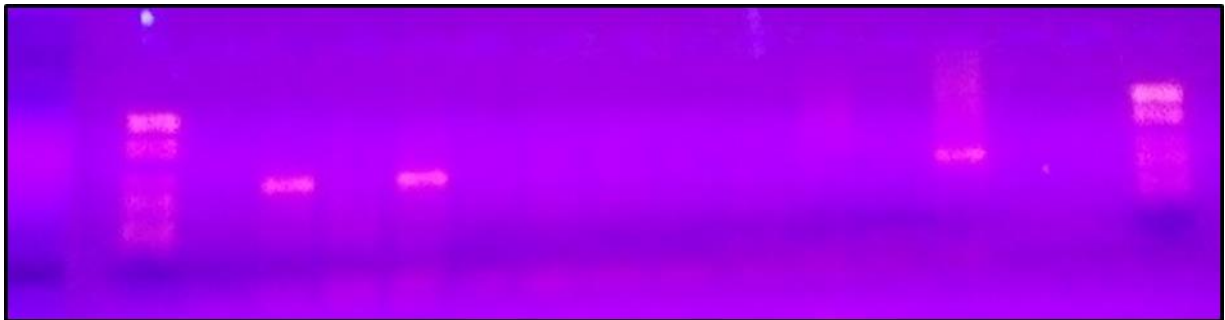


Figure 39 : Détection du gène ompA de *Rickettsia* spp sur les 14 pools.

La technique d'électrophorèse a été réalisée ensuite afin de retrouver quels échantillons parmi les cinq présents dans chaque pool sont infectés par cette bactérie.

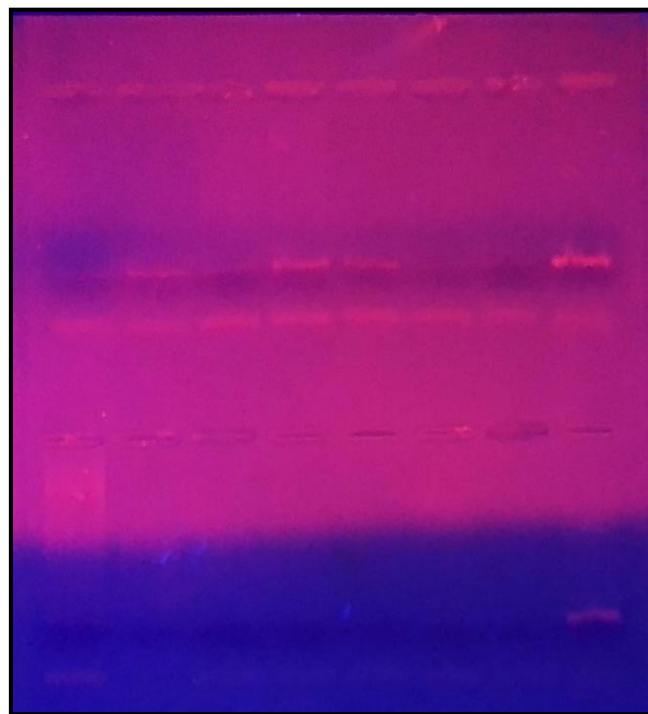


Figure 40 : Détection des échantillons infectés par *Rickettsia* spp parmi ceux qui sont présent dans les pools 01 et 12.

Chapitre IV : Résultats et discussion

Selon les résultats de cet examen, quatre échantillons du Pool 01 et un échantillon du Pool 12 se sont révélés positifs pour *Rickettsia* spp. Les échantillons positifs proviennent des bovins ayant les codes suivants : E4B2, E5B7, E7B6, E8B7 et E6B8. Tous ces bovins infectés sont originaires de la région de Makouda (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Le rapport des bovins infectés par *Rickettsia* spp.

Code de l'échantillon		Sexe	Age	Espèce	Région
Pool 01	E4B2	Femelle	04 ans	<i>Simmental</i>	Makouda
	E5B7	Femelle	03 ans	<i>Fleckvieh</i>	
	E7B6	Male	01 an	<i>Fleckvieh</i>	
	E8B7	Femelle	04 ans	<i>Fleckvieh</i>	
Pool 12	E6B8	Femelle	13 ans	<i>Fleckvieh</i>	

➤ Détection de *Coxiella burnetti* :

En analysant les 66 échantillons d'ADN (14 Pools) issus du sang de bovins de Makouda et de Tizi-Rached, les résultats de recherche de *Coxiella burnetti* en utilisant le gène IS1111 ont tous été négatifs (**figure 41**), ce qui signifie que cet agent pathogène détecté n'est pas présent dans les échantillons de sang prélevés.

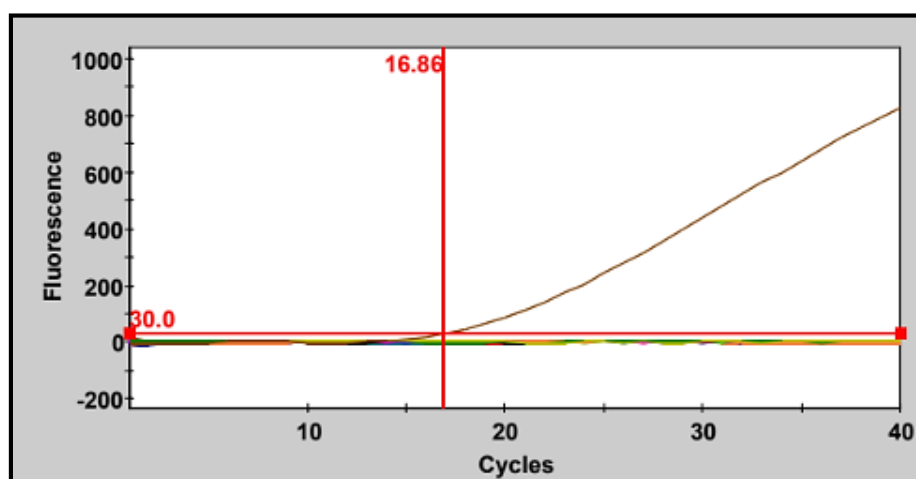


Figure 41 : Graphe des résultats de la détection de *Coxiella burnetti* par PCR en temps réel.

Chapitre IV : Résultats et discussion

➤ Détection de *Babesia* spp :

Les analyses des échantillons de sang prélevés sur des bovins dans les régions de Makouda et de Tizi-Rached ont révélé des résultats négatifs pour la détection de *Babesia* spp à l'aide du gène TTB (**Figure 42**), indiquant l'absence de cet agent pathogène dans ces élevages.

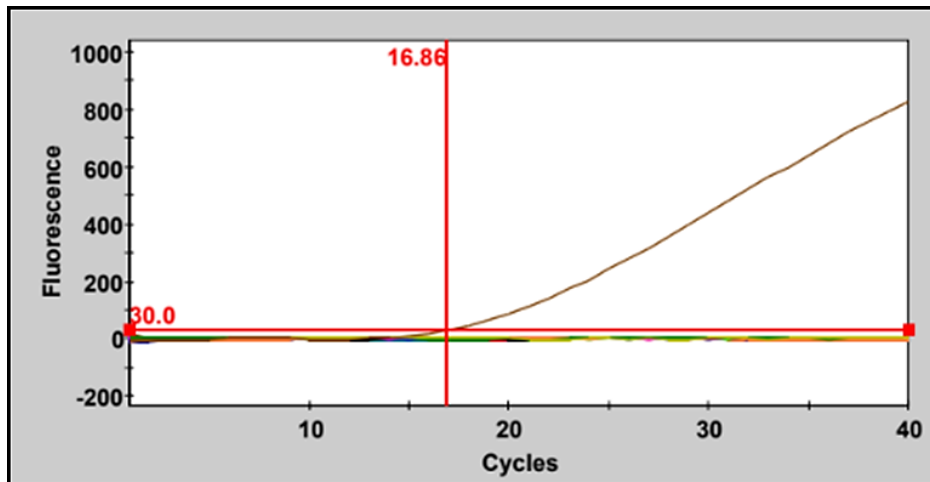


Figure 42 : Graphe des résultats de la détection de *Babesia* spp par PCR en temps réel.

➤ Détection d'*Anaplasma phagocytophilum* :

Les résultats des échantillons d'ADN issus du sang de bovins de Makouda et Tizi-Rached, analysés par PCR en temps réel en utilisant le gène *apaG* pour la détection d'*Anaplasma phagocytophilum*, ont révélé la présence de cet agent pathogène dans le pool 8 (**Figure 43**). Ce résultat concorde avec celui du frottis positif, correspondant à l'échantillon codé E2B8 présent dans ce même pool.

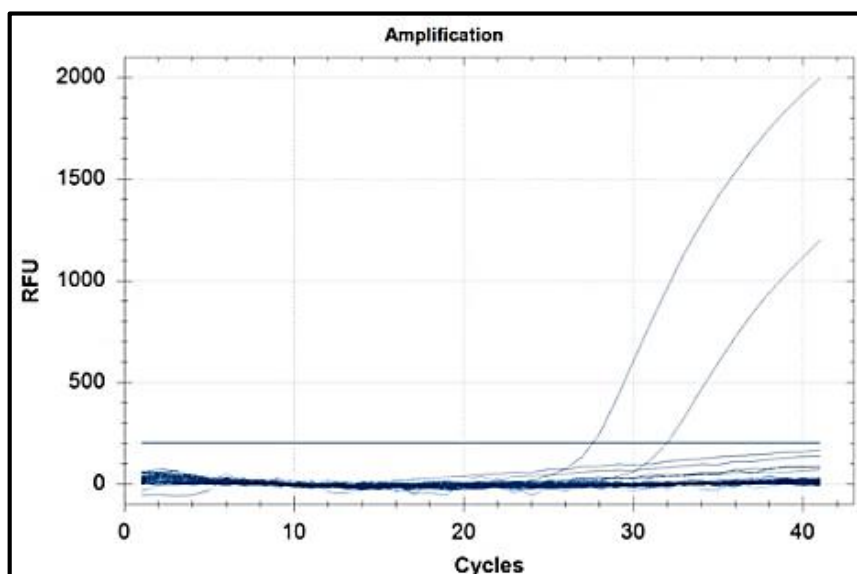


Figure 43 : Graphe des résultats de la détection d'*Anaplasma phagocytophilum* par PCR en temps réel.

Chapitre IV : Résultats et discussion

Le témoin positif est représenté par la ligne exponentielle qui dépasse le seuil dès le 28^{ème} tour, tandis que l'échantillon positif commence à dépasser le seuil autour du 32^{ème} tour (Figure 43).

La synthèse des résultats des quatre pathogènes est présentée dans le tableau ci-dessous (Tableau 11).

Tableau 11 : Résultats de la RT-PCR pour *Coxiella burnetti*, *Anaplasma phagocytophilum* et *Babesia* spp, et de la PCR standard pour *Rickettsia* spp.

Pools	Type d'échantillon	<i>Coxiella burnetti</i>	<i>Babesia</i> spp	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Rickettsia</i> spp
Pool 1	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Pos
Pool 2	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 3	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 4	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 5	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 6	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 7	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 8	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 9	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 10	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 11	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 12	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Pos
Pool 13	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég
Pool 14	Sang de bovin	Nég	Nég	Nég	Nég

Chapitre IV : Résultats et discussion

➤ Détection des pathogènes chez les tiques :

Après l'analyse des 8 tiques qui appartiennent à l'espèce *Hyalomma anatolicum* récoltées dans la région de Makouda, pour *Rickettsia* spp, *Coxiella burnetti*, *Babesia* spp et *Anaplasma phagocytophilum*, les résultats de la RT-PCR ont révélé négatifs, ce qui signifie qu'aucune tique est infectée par ces pathogènes.

IV.2. Discussion :

Dans cette section, nous aborderons l'analyse des échantillons de sang et des tiques parasites des bovins dans les deux régions de Tizi-Rached et Makouda dans la ville de Tizi-Ouzou. Il est également prévu d'examiner les résultats des frottis sanguins et de la PCR afin de repérer la présence d'agents infectieux.

IV.2.1. Discussion des résultats de la collecte des tiques :

La collecte réalisée dans les deux régions de Tizi-Ouzou durant les mois de mai 2024, nous a permis de récolter 8 tiques adultes, dont 6 femelles et 2 mâles, appartenant toutes à l'espèce *Hyalomma anatolicum*. Ces tiques ont été retrouvées dans deux fermes différentes (E5, E6) situées dans la région de Makouda.

Selon **Walker et al. (2003)**, l'activité saisonnière de *Hyalomma anatolicum* est principalement limitée à l'été, mais elle peut être active toute l'année due au changement climatique. Elle est adaptée aux régions du climat méditerranéen et de la steppe de l'Afrique du Nord. La période de notre récolte a été marquée par la saison humide dans la région, ce qui explique la faible abondance de ces acariens.

L'analyse moléculaire des protozoaires et des bactéries chez les animaux domestiques et leurs tiques infestantes du nord-est de l'Algérie, menée par **Sadeddine et al. (2019)**, a permis de déterminer l'existence de huit espèces, dont l'une est *Hyalomma anatolicum*.

Dans une autre étude réalisée par **Mechouk et al. (2022)** sur la distribution géographique des tiques en Algérie, a indiqué que 10 espèces du genre *Hyalomma* ont été signalées en Algérie, parmi ces espèces se trouve *Hyalomma anatolicum*.

On note aussi l'étude de **Ighilahriz (2022)** sur l'inventaire des tiques parasites des animaux domestiques dans la région de Tizi-Ouzou durant l'année 2021. Il est important de noter que 10 tiques de *Hyalomma anatolicum* ont été identifiées parmi les 87 récoltés à Bouzeguène.

Chapitre IV : Résultats et discussion

Il est à signaler aussi l'inventaire des arthropodes et l'étude de quelques parasitoses bovines dans la région de Draa Ben Khedda et Freha (Tizi Ouzou) de **Berkaine et Benelhadj (2015)**. Cette dernière a noté l'existence de *Hyalomma anatolicum* à Freha.

Toutes les étables que nous avons visitées sont modernes, dont l'intérêt est plus porté sur la production laitière que sur celle de viande. Dans notre recherche, nous avons observé que la plupart des éleveurs avaient déjà mis en place des acaricides pour lutter contre ces vecteurs, car la période de leur activité la plus intense est proche. Il est possible que cela explique les résultats obtenus.

IV.2.2. Discussion des résultats des frottis sanguins :

Les analyses ont été effectuées sur 29 échantillons choisis au hasard. L'analyse de frottis de sang sur des prélèvements de sang de bovins provenant de diverses étables des deux régions d'études a permis de détecter la présence d'un parasite.

Selon l'étude menée par **Berkaine et Benelhadj (2015)** sur certaines parasitoses bovines dans la ville de Tizi-Ouzou, il a été constaté que parmi les 60 frottis effectués, 12 cas présentent des déformations des hématies, 10 cas présentent des hématies étoilées et 2 cas présentent des hématies ovales.

L'inventaire des tiques (Ixodidae) parasites bovins de la région de Tizi-Ouzou a également été réalisé par **Amrouche et Ouachek (2016)** (Yakouren et Ait Yahia). Aucune des 7 lames examinées n'a été confirmée positive.

Une autre étude de **Ziam et al. (2016)** sur prévalences et signes cliniques associés des piroplasmoses bovines dans les Wilayates d'Annaba et El Tarf, Algérie, après coloration des étalements sanguins par la méthode de Giemsa, *Theileria annulata*, le complexe *buffeli*, *Babesia bovis* et *Anaplasma marginale* ont été identifiés avec un taux respectif de 74,6% (103 cas), 13,8% (19 cas), 4,3% (6 cas) et 15,2% (21 cas) sur un effectif total de 138 bovins.

En ce qui concerne notre étude, parmi les 29 lames observées, une seule lame a été soupçonnée d'être infectée par *Anaplasma phagocytophilum*.

IV.2.3. Discussion des résultats des PCR :

IV.2.3.1. Résultats de *Rickettsia* spp :

La présente étude révèle et confirme la présence des germes pathogènes rickettsiales dans la région de Makouda et Tizi-Rached, ce qui ne concorde pas avec les résultats de **Sadeddine et al. (2020)** de Mars 2016 à Février 2017, sur l'identification moléculaire des protozoaires et des

Chapitre IV : Résultats et discussion

organismes bactériens chez les animaux domestiques et leurs tiques infestantes du nord-est de l'Algérie, dont 35 échantillons de sang étaient négatifs pour *Rickettsia* spp.

IV.2.3.2. Résultats de *Coxiella burnetii* :

Notre recherche a mis en évidence un résultat négatif de *Coxiella burnetii* dans les échantillons de sang prélevé de bovins en utilisant la RT-PCR, par contre dans une étude qui a été effectuée par **Menadi et al. (2022)** sur la prévalence sérologique, moléculaire et génotypage de *Coxiella burnetii* dans les troupeaux de bovins laitiers du nord-est de l'Algérie entre les mois de septembre 2017 et d'avril 2018 par PCR pour 186 échantillons de sang provenant de 26 troupeaux a révélé : 13 vaches positives à IS1111 provenant de 6 élevages différents, ce qui correspond à un taux d'infection individuelle de 6,98% et à une infection du troupeau avec un taux de 23,07 %.

IV.2.3.3. Résultats de *Babesia* spp :

Après L'analyse des prélèvements du sang des bovins provenant de différents élevages étalés sur deux régions de Makouda et de Tizi-Rached par RT-PCR, nos résultats ont été tous négatifs aucun cas de *Babesia* spp n'a été signalé ce qui signifie l'absence de cet agent pathogène.

Cette étude a été menée en mai, car d'après l'étude de **Sergent et al. (1946)**, les cas d'infections de piroplasmose chez les bovins sont courants tout au long de l'année en Algérie, mais la majorité des cas se produisent entre juin et septembre. Cela pourrait expliquer la continuité de l'activité des tiques tout au long de l'année, ce qui peut entraîner l'apparition de cas de babésiose à différents moments, notamment entre le printemps et l'automne, période de l'activité maximale des tiques. Elles sont donc rapidement reproductrices, car les agents pathogènes de ces maladies sont transmis aux bovins par les larves, les nymphes et les femelles dès le début du repas sanguin.

Une étude similaire réalisée par **Boularias et al. (2020)** sur les bovins abritent un large éventail d'agents pathogènes à transmission vectorielle dans le nord-est de l'Algérie, parmi les 205 échantillons de sang de bovins testés par analyse PCR, 42,4 % de résultats positifs ont été obtenus pour au moins un agent pathogène, le taux de *Babesia* spp chez les bovins échantillonnés été 18.5%.

L'absence de piroplasmose chez les bovins échantillonnés pendant notre recherche confirme leurs protections contre les tiques et aux respects des normes d'hygiène.

IV.2.3.4. Résultats d'*Anaplasma phagocytophilum* :

Cette étude met en évidence la présence de germes pathogènes d'*Anaplasma phagocytophilum*, qui est compatible avec les résultats d'**Elhachimi et al. (2021)**, qui ont mené

Chapitre IV : Résultats et discussion

une étude sur les tiques et les agents pathogènes transmis par celles-ci dans la population bovine de la région de Rabat-Salé-Kénitra, au Maroc. L'étude, portant sur 508 échantillons de sang bovins, a révélé la présence de cette maladie dans 260 échantillons (51,2 %).

Les résultats de l'étude de **Ait Hamoua et al. (2012)**, sur la prévalence moléculaire et sérologique d'*Anaplasma marginale* chez les bovins du Nord-Centre du Maroc ont montré que 81 échantillons étaient positifs et 491 échantillons étaient négatifs.

L'étude de **Noaman et Shayan (2010)**, qui porte sur l'analyse PCR de l'ADN isolé à partir des échantillons de sang a montré que 58 des 150 échantillons de sang étaient positifs pour *Anaplasma* spp et a révélé un produit PCR attendu de 577 pb de longueur.

Sadeddine et al. (2020) ont également réalisé une étude sur l'identification moléculaire des organismes protozoaires et bactériens chez les animaux domestiques et les tiques les infestant dans le nord-est de l'Algérie. Sur les 87 échantillons de sang analysés, neuf se sont révélés positifs pour *Anaplasma* spp.

IV.2.3.5. Résultats des PCR des tiques :

Notre étude a révélé un résultat négatif pour les agents pathogènes : *Coxiella burnetii*, *Babesia* spp, *Anaplasma phagocytophilum* et *Rickettsia* spp dans les tiques du genre *Hyalomma anatolicum* à la station de Mekouda en utilisant la PCR.

Par contre dans une étude menée par **Kernif et al. (2012)**, en utilisant des *Ixodes ricinus* provenant de bovins de Tizi-Ouzou et des *Dermacentor marginatus* collectées sur la végétation de la région de Blida, deux régions situées dans le nord de l'Algérie, les résultats de la PCR quantitative en temps réel spécifique d'une séquence partielle du gène du citrate synthase (gltA) ont montré que des *Rickettsia* spp étaient présentes dans 11/23 (48%) et 4/9 (44%) des tiques examinées de Tizi Ouzou et Blida, respectivement.

Dans une autre étude réalisée par **Boularias et al. (2021)** pour examiner les taux d'infection moléculaire de divers agents pathogènes transmis par les tiques chez des tiques prélevées sur des bovins de la région de Kabylie, dans le nord-est de l'Algérie, à l'aide d'un système de PCR microfluidique en temps réel à haut débit, un ensemble de 235 tiques appartenant à sept espèces des genres *Rhipicephalus*, *Hyalomma* et *Ixodes* ont été prélevées sur des bovins puis examinées ,les résultats ont montré la présence de 36 espèces différentes de bactéries et de protozoaires, notamment *Rickettsia* spp à 79,1 %, *Anaplasma* spp à 14,4 %, et *Babesia* spp à 2,5 %.

Chapitre IV : Résultats et discussion

L'étude de **Ferhouh et Djennadi (2015)**, sur la détection moléculaire des *Rickettsia* (bactéries à développement intracellulaire obligatoire) dans La région de Bouzeguène, a confirmé l'existence de *Rickettsia* spp chez deux espèces de tiques *R. sanguineus* et *H. detritum*.

Dans une étude réalisée par **Abdelkadir et al. (2019)**, sur la présence de *Rickettsia aeschliannii*, "*Candidatus Rickettsia barbariae*" et *Coxiella burnetii* chez les tiques du bétail dans le nord-ouest de l'Algérie, *Rickettsia aeschliannii* a été identifiée dans les tiques des espèces *Hyalomma excavatum* et *H. marginatum*. De plus, "*Candidatus Rickettsia barbariae*" a été détecté dans les tiques des espèces *H. excavatum* et *Rhipicephalus bursa*. Enfin, *Coxiella burnetii* a été amplifiée dans les tiques des espèces *H. excavatum* et *Rhipicephalus bursa*, par contre aucune bactérie de la famille Anaplasmataceae n'a été trouvée.

Leulmi et al. (2016), ont identifié la présence de *Rickettsia* spp chez les tiques de l'espèce *R. sanguineus*, et chez les tiques de l'espèce *R. bursa*.

Le faible nombre de tiques collectées ne représente pas le nombre total de tiques présentes dans les régions de Makouda et de Tizi Rached, cela peut justifier les résultats négatifs de la PCR, et n'exclut pas la présence d'agents pathogènes dans les tiques.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif du présent travail est d'approfondir les connaissances sur la distribution des espèces de tiques des deux régions étudiées et sur certains pathogènes transmis aux bovins. Notre objectif est aussi de pouvoir élucider les symptômes des maladies liées et évaluer le risque spécifique de divers biotopes. Nous voulons prendre conscience de la différence entre la fréquence de ces pathogènes dans les troupeaux dans les deux régions d'étude et les diagnostics et traitement établis par les vétérinaires sanitaires, dans le but d'améliorer leurs compétences et leurs diagnostics.

Les deux types d'échantillons réalisés, à savoir des prélèvements de sang et une collecte de tiques, ont été effectués sur les deux stations suivantes : Makouda et Tizi-Rached.

Les tiques sont des ectoparasites courants chez presque tous les vertébrés mais, elles peuvent également occasionnellement piquer l'homme. On les qualifie également de vecteurs de maladies, étant classées deuxièmes au monde après les moustiques.

Au cours de notre collecte, nous avons découvert un total de 8 tiques, dont 6 femelles et 2 mâles, ainsi qu'un total de 66 tubes de sang prélevés sur la veine coccygienne des bovins.

Après avoir analysé le sang prélevé, les résultats de la PCR standard de *Rickettsia* spp ont révélé la présence de cette bactérie dans 05 échantillons qui portent les codes suivants : E5B7, E8B7, E6B8, E4B2 et E7B6 ces bovins infectés sont tous originaire de la région de Makouda. Cela démontre la présence de cette bactérie dans cette même région.

Les résultats de la RT-PCR pour *Coxiella burnetii* se sont tous avérés négatifs, et donc aucun cas de coxiellose n'a été détecté.

La RT-PCR pour *Babesia* spp a révélé des résultats négatifs pour tous les échantillons, ce qui indique qu'aucun cas de babésiose n'a été constaté dans les élevages étudiés.

Le pool 8 s'est avéré positif à la RT-PCR pour *Anaplasma phagocytophilum*, confirmant ainsi le résultat positif du frottis sanguin codé E2B8. Cela indique la présence de ce pathogène dans la région de Tizi-Rached.

L'absence de cas de coxiellose et de babésiose chez les bovins étudiés n'exclut pas leur présence dans les régions de Makouda et de Tizi-Rached. Les résultats obtenus sont préliminaires, et il est nécessaire d'approfondir ces analyses en augmentant l'échantillonnage et la durée de l'étude. Il est également crucial de mettre en place des mesures préventives, telles qu'une sensibilisation des éleveurs sur l'importance de l'hygiène dans leurs élevages, du bon entretien des étables, et de l'utilisation de traitements adéquats contre les tiques afin de combattre ces parasitoses.

Références bibliographique

1. **Abdad, M. Y., Abdallah, R., Fournier, P.-E., Stenos, J., & Vasooa, S. (2018).** A Concise Review of the Epidemiology and Diagnostics of. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(8), 1–10.
2. **Abdelkadir, K., Palomar, A. M., Portillo, A., Oteo, J. A., Ait-Oudhia, K., & Khelef, D. (2019).** Presence of *Rickettsia aeschlimannii*, '*Candidatus Rickettsia barbariae*' and *Coxiella burnetii* in ticks from livestock in Northwestern Algeria. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 10(4), 924–928. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.04.018>
3. **Ait Hamou, S., Rahali, T., Sahibi, H., Belghyti, D., Losson, B., Goff, W., & Rhalem, A. (2012).** Molecular and serological prevalence of *Anaplasma marginale* in cattle of North Central Morocco. *Research in Veterinary Science*, 93(3), 1318–1323. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.02.016>
4. **Almandounas, D., & Bedrane, F. (2023).** Inventaire des tiques et détection moléculaire de *Coxiella burnetii* et *Rickettsia* sp dans la région de Tizi Ouzou. Mémoire de Master II. Facultés Des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 59p.
5. **Amrouche, F., & Ouachek, Y. (2016).** Inventaire des tiques (Ixodidae) parasites des bovins dans la région de Tizi Ouzou (Yakouren et Ait Yahia). Mémoire de Master II. Facultés Des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 39p.
6. **Angelakis, E., & Raoult, D. (2010).** Q fever. *Veterinary Microbiology*, 140(3–4), 297–309. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.07.016>
7. **Arricau-Bouvery, N., & Rodolakis, A. (2004).** Is Q Fever an emerging or re-emerging zoonosis? 327–349. <https://doi.org/10.1051/vetres>
8. **Ayard, L. (2020).** Polynésie française sur la gestion de la babesiose et l'anaplasmose. Thèse de doctorat. Université de Paul-Sabatier de Toulouse. 89p.
9. **Benchikh Elfegoun, M. C., Gharbi, M., Djebir, S., & Kohil, K. (2013).** Dynamique d'activité saisonnière des tiques ixodidés parasites des bovins dans deux étages bioclimatiques du nord-est algérien. *Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire Des Pays Tropicaux*, 66(4), 117–122. <https://doi.org/10.19182/remvt.10150>
10. **Benchikh Elfegoun, M. C., Kohil, K., Gharbi, M., Afoutni, L., & Benachour, M. L. (2019).** Cinétique d'infestation par les tiques des bovins de la région subhumide de Constantine en Algérie. *Revue d'Elevage et de Medecine Veterinaire Des Pays Tropicaux(France)*, 72(1), 41–45. <https://doi.org/10.19182/remvt.31726>
11. **Berkaine, S., & Benelhadj, F. (2015).** Inventaire des arthropodes et l'étude de quelques

- parasitoses bovins dans la région de Draa Ben Khedda et Freha (Tizi Ouzou). Mémoire de Master II. Facultés Des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 77p.
12. **Bessis D. (2008).** Manifestations dermatologiques des maladies infectieuses, métaboliques et toxiques. Ed. Springer, 1-27.
 13. **Boarbi, S., Fretin, D., & Mori, M. (2016).** *Coxiella burnetii*, agent de la fièvre Q. Canadian Journal of Microbiology, 62(2), 102–122. <https://doi.org/10.1139/cjm-2015-0551>
 14. **Bouattour, A., Ghammam, M., Darghouth, M., Touil, S., Tahri, M., & Ben Hamouda, F. (2004).** Séroépidémiologie de la babésiose bovine à *Babesia divergens* en Tunisie. Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire Des Pays Tropicaux, 1–2(57), 59–64.
 15. **Bouchaib, H. (2019).** Place des Rickettsioses parmi les fièvres éruptives dans la wilaya de Tizi Ouzou. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 233p.
 16. **Bouchama, B., DIK, B., Benia, F., & Mouffok, C. (2020).** Dynamique saisonnière des tiques (ACARI : IXODIDAE) parasites des bovins dans la région semi-aride de la wilaya de Sétif Algérie. Bulletin de La Société Zoologique de France, 145(2), 71–81.
 17. **Bouderda, K. (2017).** Les Ixodidae parasites des bovins : Bio-écologie et distribution spatio-temporelle dans les régions d'El-Tarf et de Berrahal. Thèse de doctorat. Université de Badji Mokhtar Annaba. 143p.
 18. **Boubesla, A., & Boubidi D. (2022).** Estimation et cartographie par télédétection des surfaces brûlées par les feux de forêt durant l'été 2021 : cas de la wilaya de Tizi-Ouzou. Mémoire de Master II. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Frères Mentouri Constantine 1. 27p.
 19. **Boulanger, N., & McCoy, K. D. (2015).** Tiques et maladies à tiques : Biologie, écologie évolutive, épidémiologie. Marseille : IRD Éditio. 344p.
 20. **Boularias, G., Azzag, N., Galon, C., Šimo, L., Boulouis, H. J., & Moutailler, S. (2021).** High-throughput microfluidic real-time pcr for the detection of multiple microorganisms in ixodid cattle ticks in Northeast Algeria. Pathogens, 10(3). 14p. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030362>
 21. **Boulkaboul, A. (2003).** Parasitisme des tiques (Ixodidae) des bovins à Tiaret, Algérie. Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire Des Pays Tropicaux, 56(3–4), 157. <https://doi.org/10.19182/remvt.9858>
 22. **Bowman, A. S., & Nuttall, P. A. (2008).** Ticks: Biology, Disease and Control. Cambridge University Press.

23. **Carter, P. D., & Rolls, P. (2022).** Babesiosis in Animals. MSD Veterinary Manual.
<https://www.msdsvetmanual.com/circulatory-system/blood-parasites/babesiosis-in-animals>
24. **Celina, S. S., & Cerný, J. (2022).** *Coxiella burnetii* in ticks, livestock, pets and wildlife: A mini-review. *Frontiers in Veterinary Science*. 13p.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1068129>
25. **Cells and Smears.** Veterinary clinical pathology digital database. *Anaplasma marginale*.
<https://vetclinpathimages.com/2018/01/08/anaplasma-marginale/>
26. **Collot, M. (2010).** La babesiose bovine , une zoonose à risque pour l ' homme. Thèse de doctorat. Université Henri Poincare - Nancy 1. 115p.
27. **Courcoul, A. (2011).** Modelling *Coxiella burnetii* spread within a dairy cattle herd. Thèse de doctorat. Université Rennes 1. 164p.
28. **Cuisance, D., Barré, N., & De Deken, R. (1994).** Ectoparasites des animaux : méthodes de lutte écologique, biologique, génétique et mécanique. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, 13(4), 1305–1356. <https://doi.org/10.20506/rst.13.4.823>
29. **Dib L., Azzouz Z., et Bensouilah M. (2002).** Les tiques de bovins dans l'Est algérien. Approche taxonomique et distribution spatio-temporelle. *Ren. Rech. Ruminants*, 9.
30. **Djouaher, T., Chahed, S., Beneldjouzi, A., Eddaikra, N., & Brahmi, K. (2023).** Diversity of hard tick (Acari: Ixodidae) infesting small ruminants in some breeding farms in Tizi-Ouzou area (Northern Algeria). *Bulletin de La Societe Royale Des Sciences de Liege*, 92(1), 53–70. <https://doi.org/10.25518/0037-9565.11396>
31. **Drevon-Gaillot, E. (2002).** Les tiques des carnivores domestiques en France et étude comparée des différentes méthodes de retrait manuel. Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard – Lyon 1. 133p.
32. **Elhachimi, L., Rogiers, C., Casaert, S., Fellahi, S., Van Leeuwen, T., Dermauw, W., Valcárcel, F., Olmeda, Á. S., Daminet, S., Khatat, S. E. H., Sahibi, H., & Duchateau, L. (2021).** Ticks and tick-borne pathogens abound in the cattle population of the rabat-sale kenitra region, Morocco. *Pathogens*, 10(12), 1–18.
<https://doi.org/10.3390/pathogens10121594>
33. **Ferhouh, H., & Djennadi, M. (2015).** Inventaire comparatif des tiques de la région de Bouzeguène, et la détection moléculaire des *Rickettsia* (bactéries à développement intracellulaire obligatoire). Mémoire de Master II. Facultés Des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 51p.
34. **Flandrois, J. P. (1997).** Bactériologie médicale. Lyon: Presses universitaires de Lyon.

35. **François, J. B. (2008).** Les tiques chez les bovins en France. Thèse de doctorat. Université de Henri Poincaré-Nancy 1. 128p.
36. **Frustin M. (1994).** Rôles des tiques dans la transmission de la Babésiose chez l'homme et chez le chien. Thèse de doctorat. Université de Nancy. 88p
37. **Gasquet, C. (2014).** Etude d'un foyer d'anaplasmosé bovine dans le département de la Loire. Thèse de doctorat. Université de Claude-Bernard - Lyon 1. 129p.
38. **Gharbi, M., & Uilenberg, G. (2004).** Les Rickettsioses Des Ruminants Domestiques Transmises Par Les Tiques : Elements taxonomiques et diagnostic de laboratoire. Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 81, 1–4.
39. **Grech-angelini, S. (2020).** Tiques et agents pathogènes transmis en Corse , milieu insulaire méditerranéen. Thèse de doctorat . L'Université Paris-Est. 256p.
40. **Guatteo, R., Seegers, H., Rodolakis, A., Joly, A., Remmy, D., Beaudeau, F., Cochonneau, D., & Sarradin, P. (2008).** Prévention de l'excrétion de *Coxiella burnetii* à l'aide d'un vaccin dit phase I (Coxevac®) en troupeaux bovins laitiers infectés. Rencontres Recherches Ruminants (RRR), 1, 59–62.
41. **Guiguen, C., Belaz, S., & Degeilh, B. (2019).** Bio-écologie et rôle pathogène des tiques de France métropolitaine. Revue francophone des laboratoires, 513, 24–33.
42. **Ighilahriz, L. (2022).** Situation épidémiologique de la Borréliose de Lyme dans la région de Tizi-Ouzou. Mémoire de Master II. Facultés Des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 62p.
43. **Jensenius, M., Fournier, P. E., & Raoult, D. (2004).** Rickettsioses and the international traveler. Clinical Infectious Diseases, 39(10), 1493–1499. <https://doi.org/10.1086/425365>
44. **Jongejan, F., & Uilenberg, G. (2004).** The global importance of ticks. Parasitology, 129, 3–14. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005967>
45. **Kadi, S. A., Djellal, F., & Berchiche, M. (2014).** Caractérisation de la conduite alimentaire des vaches laitières dans la région de Tizi-Ouzou , Algérie. 19(4), 1–24.
46. **Kazar, J. (2005).** *Coxiella burnetii* infection. Annals of the New York Academy of Sciences, 1063, 105–114. <https://doi.org/10.1196/annals.1355.018>
47. **Kernif T., Beneldjouzi A., Yussuf A., Doumandji S E., Parola P., Raoult D., et Bitam I. (2013).** Dynamique des tiques en Algérie et les nouveaux outils d'identification. XVIIème journée nationale de Parasitologie- Mycologie. Le 09 Mai 2013 à l'Institut Pasteur d'Algérie, organisée par SAPMM.
48. **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 and tick-borne diseases, 3(5-6), 380–381.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.10.012>
49. **Kernif T., Socolovschi C., Bitam I., Raoult D., Parola P. (2012).** Vector-borne rickettsioses in North Africa. *Infect Dis Clin North Am*, 26(2), 55-78.
 50. **Lecointre, G., & Guyader, H. (2006).** the tree of life a phylogenetic classification. Belknap Press. 560p.
 51. **Le Sueur-Almosni F. (2015).** Parasites et traitements antiparasitaires des animaux de compagnie : zoonoses, maladies vectorielles, guide des antiparasitaires. Paris. Editions Med'com.
 52. **Leulmi, H., Aouadi, A., Bitam, I., Bessas, A., Benakhla, A., Raoult, D., & Parola, P. (2016).** Detection of *Bartonella tamiae*, *Coxiella burnetii* and *rickettsia* in arthropods and tissues from wild and domestic animals in northeastern Algeria. *Parasites and Vectors*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1316-9>
 53. **Marotel, M. L. S. (2006).** Tiques de carnivores domestiques en régions Rhone-Alpes, Auvergne, Limousin, Midi-Pyrénées, Aquitaine. Thèse de doctorat. Université de Paul-Sabatier de Toulous. 113p.
 54. **Mechouk, N., Mihalca, A. D., Deak, G., & Bouslama, Z. (2022).** Synopsis of the ticks of Algeria with new hosts and localities records. *Parasites and Vectors*, 15(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05424-2>
 55. **Meddour, A., & Bouderd, K. (2006).** Clés d'identification des ixodina (acarina) d'algerie. *Sciences & Technologie*, 24, 32–42.
 56. **Menadi, S. E., Chisu, V., Santucci, C., Di Domenico, M., Curini, V., & Masala, G. (2022).** Serological, Molecular Prevalence and Genotyping of *Coxiella burnetii* in Dairy Cattle Herds in Northeastern Algeria. *Veterinary Sciences*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/vetsci9020040>
 57. **Morel, O. (2018).** Étude des relations entre les *Coxiella* endosymbiotiques, leurs hôtes tique et *C. burnetii*, l'agent de la Fièvre Q. Thèse de doctorat. Université de Lyon. 114p.
 58. **Moulinier, C., (2003).** Parasitologie et mycologie médicales. Ed. E. M. Inter. Lavoisier. 796p.
 59. **Narang A., Singh randhawa S., Kumar sood N., Chhabra S., Singla L. D., Kaur P. (2019).** Atypical theileriosis with cutaneous involvement in a cow in India: a case report. *Rev Sci Tech*, 38 (3). 703-709.
 60. **Noaman, V., & Shayan, P. (2010).** Comparison of microscopy and PCR-RFLP for detection of *Anaplasma marginale* in carrier cattle. *Iranian Journal of Microbiology*, 2(2),

89–94.

61. **Otmani, N. (2013).** Etude de quelques infections transmises par les tiques en Europe occidentale. Prise en charge à l'officine. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 111p.
62. **Parola, P., & Raoult, D. (2001).** Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: An emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases*, 32(6), 897–928. <https://doi.org/10.1086/319347>
63. **Parola, P., & Raoult, D. (2006).** Tropical rickettsioses. *Clinics in Dermatology*, 24(3), 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2005.11.007>
64. **Pérez-Eid, C. (2007).** Les tiques : Identification, biologie, importance médical et vétérinaire. Paris : Lavoisier, 314p.
65. **Perez-Eid, C., & Gilot, B. (1998).** Ticks: Cycles, habitats, hosts, pathogen role, control. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 28, 335–343. [https://doi.org/10.1016/s0399-077x\(98\)70218-5](https://doi.org/10.1016/s0399-077x(98)70218-5)
66. **Perveen, N., Muzaffar, S. Bin, & Al-Deeb, M. A. (2021).** Ticks and tick-borne diseases of livestock in the middle east and north africa: A review. *Insects*, 12(1), 1–35. <https://doi.org/10.3390/insects12010083>
67. **Péter, O., & Brossard, M. (1998).** Lutte contre les tiques. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 28(4), 383–386. [https://doi.org/10.1016/s0399-077x\(98\)70228-8](https://doi.org/10.1016/s0399-077x(98)70228-8)
68. **Petri, W. A. (2024).** Revue générale des rickettsioses et infections affines. Le Manuel MSD. <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/rickettsia-et-microorganismes-apparentés/revue-générale-des-rickettsioses-et-infections-affines>
69. **Piesman, J., & Eisen, L. (2008).** Prevention of tick-borne diseases. *Annual Review of Entomology*, 53, 323–343. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.53.103106.093429>
70. **Poitras, E., & Houde, A. (2002).** La PCR en temps réel: Principes et applications. *Option/Bio*, 2(322), 2–11.
71. **Portillo, A., Santibáñez, S., García-Álvarez, L., Palomar, A. M., & Oteo, J. A. (2015).** Rickettsioses in Europe. *Microbes and Infection*, 17(11–12), 834–838. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.09.009>
72. **Psaroulaki, A., Chochlakis, D., Angelakis, E., Ioannou, I., & Tselentis, Y. (2014).** *Coxiella burnetii* in wildlife and ticks in an endemic area. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 108(10), 1–7. <https://doi.org/10.1093/trstmh/tru134>
73. **Rakover, P. (2018).** La piroplasmose : parasites , vecteurs et traitements. Thèse de doctorat Université de Clermont Auvergne. 129p.
74. **Raoult D., & Brouqui P. (1998).** Les rickettsioses, monographie de l'encyclopédie médico-

- chirurgicale. Ed. Elsevier, 11- 105.
75. **Raoult, D., & Roux, V. (1997).** Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4), 694–719. <https://doi.org/10.1128/cmr.10.4.694>
 76. **Rebaud, A. (2006).** Éléments d'épidémiologie de la Babésiose bovine à *Babesia divergens* dans une clientèle des monts du lyonnais. Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard – Lyon 1. 94p.
 77. **Renvoisé, A., & Raoult, D. (2009).** L'actualité des rickettsioses. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 39(2), 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2008.11.003>
 78. **Rouvier C., Prin Y., Redell P., Normand P., Simonet P. (1996).** Genetic Diversity among Frankia Strains Nodulating Members of the Family Casuarinaceae in Australia Revealed by PCR and Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis with Crushed Root Nodules. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, p. 979-985
 79. **Sadeddine, R., Diarra, A. Z., Laroche, M., Mediannikov, O., Righi, S., Benakhla, A., Dahmana, H., Raoult, D., & Parola, P. (2019).** Molecular identification of protozoal and bacterial organisms in domestic animals and their infesting ticks from north-eastern Algeria. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(2), 101330. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101330>
 80. **Sahu, R., Rawool, D. B., Vinod, V. K., Malik, S. V. S., & Barbuddhe, S. B. (2020).** Current approaches for the detection of *Coxiella burnetii* infection in humans and animals. *Journal of Microbiological Methods*, 43p. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.106087>
 81. **Sergent, E., Donatien, A., Parrot, L., & Lestoquard, F. (1946).** Études sur les piroplasmoses bovines, par Ed. Sergent, A. Donatien, L. Parrot et F. Lestoquard (in memoriam). *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 99(10), 325–330.
 82. **Socolovschi, C., Doudier, B., Pages, F., & Parola, P. (2008).** Tiques et maladies transmises à l'homme en Afrique. *Medecine Tropicale*, 68(2), 119–133.
 83. **Sonenshine, D. E., & Roe, R. M. (2014a).** *Biology of Ticks Volume 1*. New York : Oxford Uni. 560p.
 84. **Sonenshine, D. E., & Roe, R. M. (2014b).** *Biology of Ticks volume 2*. New York : Oxford Uni. 504p.
 85. **Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2016).** *Veterinary parasitology* (4th ed.). Wiley-Blackwell. 150-152. <https://doi.org/10.1002/9781119073680>
 86. **Toiron, J. (2023).** Etude des pathogenes transmis par les tiques aux bovins en isere et des maladies vectorielles associees. Thèse de doctorat. Université Claude Bernard Lyon 1.

177p.

87. **Villeneuve, A. (2012).** Les tiques, mieux les connaître, mieux s'en protéger. Thèse de doctorat. Université de Montréal. 42p.
88. **Walker, A., Bouattour, A., Camicas, J., Estrada-peña, A., Horak, I., Latif, A., Pegram, R., & Preston, P. (2003).** Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species. 227p.
http://www.researchgate.net/publication/259641898_Ticks_of_domestic_animals_in_Africa_a_guide_to_identification_of_species/file/5046352d0429878d7f.pdf
89. **Wall, R., & Shearer, D. (2011).** Veterinary Ectoparasites: Biology, Pathology and Control, Second Edition. Wiley-Blackwell. 55-82p.
90. **Ziam, H., Ababou, A., Kazadi, J. M., Harhoura, K. H., Aissi, M., Geysen, D., & Berkvens, D. (2016).** Prévalences et signes cliniques associés des piroplasmoses bovines dans les Wilayates d'Annaba et El Tarf, Algérie. *Revue de Medecine Veterinaire*, 167(9–10), 241–249.
91. **Zintl, A., Mulcahy, G., Skerrett, H. E., Taylor, S. M., & Gray, J. S. (2003).** *Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. *Clinical microbiology reviews*, 16(4), 622-636.

Résumé

En mai 2024, des prélèvements sanguins et une collecte de tiques ont été effectués sur des bovins provenant de deux stations situées à Makouda et Tizi-Rached, dans la région de Tizi-Ouzou. Au total, 66 échantillons de sang et 8 tiques ont été analysés pour détecter la présence d'agents pathogènes. Les frottis sanguins ont révélé la présence d'*Anaplasma phagocytophilum*, dans un échantillon codé E2B8. Toutes les tiques ont été identifiées comme appartenant à l'espèce *Hyalomma anatolicum*. Le dosage de l'ADN après extraction a donné des concentrations élevées atteignant jusqu'à 712.543 ng/μL. Une PCR standard ciblant le gène ompA avec des amorces spécifiques à *Rickettsia* spp a révélé que cinq échantillons (E4B2, E5B7, E7B6, E8B7 et E6B8) étaient positifs. La RT-PCR utilisant des amorces spécifiques de *Coxiella burnetii* (gène IS1111) et de *Babesia* spp (gène TTB) a donné des résultats négatifs. En revanche, la RT-PCR pour *Anaplasma phagocytophilum* (gène apaG), s'est révélée positive pour l'échantillon E2B8 dans le Pool 8. Les résultats des RT-PCR effectuées sur les tiques se sont avérés négatifs pour les quatre maladies examinées : Rickettsiose, Anaplasmose, Babésiose et Coxiellose. Cela indique que les tiques analysées ne sont porteuses des agents pathogènes responsables de ces maladies.

Mots clés : Tiques, *Hyalomma anatolicum*, frottis sanguins, PCR standard, RT-PCR, Bovins, Tizi-Ouzou, Makouda, Tizi-Rached, *Coxiella burnetii*, *Rickettsia*, *Babesia*, *Anaplasma phagocytophilum*.

Summary

In May 2024, blood samples and tick collections were carried out on cattle from two stations located in Makouda and Tizi-Rached, in the Tizi-Ouzou region. A total of 66 blood samples and 8 ticks were analyzed to detect the presence of pathogens. Blood smears revealed the presence of *Anaplasma phagocytophilum*, in a sample coded E2B8. All the ticks were identified as belonging to the species *Hyalomma anatolicum*. The DNA quantification after extraction showed high concentrations, reaching up to 712.543 ng/μL. A standard PCR targeting the ompA gene with specific primers for *Rickettsia* spp. revealed five positive samples (E4B2, E5B7, E7B6, E8B7, and E6B8). RT-PCR using specific primers for *Coxiella burnetii* (IS1111 gene) and *Babesia* spp (TTB gene) gave negative results. However, the RT-PCR for *Anaplasma phagocytophilum* (apaG gene), was positive for sample E2B8 in Pool 8. The RT-PCR results on ticks were negative for the four diseases tested: rickettsiosis, anaplasmosis, babesiosis, and coxiellosis, indicating that the ticks analyzed were not carriers of the pathogens responsible for these diseases.

Keywords: Ticks, *Hyalomma anatolicum*, blood smears, standard PCR, RT-PCR, cattle, Tizi-Ouzou, Makouda, Tizi-Rached, *Coxiella burnetii*, *Rickettsia*, *Babesia*, *Anaplasma phagocytophilum*