



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Saad Dahleb de Blida 01

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Département : Biologie des Populations et des Organismes

Option : Entomologie Médicale

Thème :

Detection moléculaire des agents pathogène vectorisés par les tiques de la région de Chréa

Présenté par :

M^{me} CHANANE Assia & M^{lle} SAIDOUNE Nour El Houda

Soutenu le : 20/09/2015 devant le Jury composé de :

Président : Mlle. BENKACIMI L.....MCB/BPO (USDB1).

Promotrice : Dr.KARA-TOUMI F/Z.....MCA/BPO (USDB1).

Co-promoteur : Pr.HARRAT Z.....Chef de laboratoire EPGP (IPA).

Examineur : Dr.BENDJOUDI D..... MCA/BPO (USDB1).

Invitée d'honneur : Mme.BENELDJOUZI A.....Attachée d'étude.

Invité d'honneur : Dr.TOUATI Mohammed.....Médecin Vétérinaire.

Année Universitaire :

2014-2015

Remerciements

A la promotrice madame **KARA-TOUMI F/Z.** , Maitre de Conférence A au département de Biologie des Populations et des Organismes, pour avoir accepté de diriger ce travail en vous mettant entièrement à notre disposition malgré vos multiples occupations. Vous êtes pour nous un modèle scientifique dans le travail.

Au Co-promoteur Monsieur **HARRAT Z.** , Le Chef de Laboratoire d'Eco Epidémiologie Parasitaire et Environnement de l'Institut Pasteur d'Alger de Dely Ibrahim, pour avoir accepté de nous accueillir au sein de votre service et de mettre à notre disposition le matériel nécessaire à notre travail. Nous vous en remercions.

A madame **BENELDJOUZI A.** , Nous vous exprimons notre profonde gratitude.

A Mlle **BENKACIMI L.** , pour avoir accepté de nous faire l'honneur d'être la présidente du jury.

A Monsieur **BENDJOUDI D.** , Maitre de Conférence A au département de Biologie des Populations et des Organismes pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Au Monsieur **TOUATI M.** , Médecin Vétérinaire pour la rigueur, la franchise, la qualité du travail et la disponibilité avec lesquelles vous avez accompagné toutes notre études depuis les premières heures à la rédaction de ce mémoire.

A l'ensemble du personnel de l'Institut Pasteur d'Alger. Soyez en remerciés.

A l'ensemble du personnel de Parc National de Chréa. Soyez en remerciés.

A l'ensemble des éleveurs des villages de collecte, votre compréhension a permis de réaliser ce travail. Soyez en remerciés.

A mes professeurs et camarades de promotion.

Dédicaces

A mes parents,

Pour votre soutien et votre amour pendant toutes ces années,

Pour avoir apaisé mes doutes à chaque fois.

A mes frères et ma sœur,

Pour votre présence, votre soutien et vos encouragements tout au long de ces années.

A mes grands parents,

Pour vos encouragements et votre soutien .

A Assia,

Pour ces 6 mois de stage qui resteront inoubliables,

A Halima, Dalila et Amel,

Pour ces super années passées à la fac

A tous les amis

Qui ont vécu, supporté et soutenu les hauts et les bas de mes états d'âme d'apprentie
chercheuse...

A mes tantes et mes ancles

Nour El Houda

Résumé

Trois espèces des tiques ont été échantillonnées dans la région de Chréa entre Mai et Aout 2015 pour déterminer la prévalence des infections à des pathogènes bactériens et parasites dans les communautés des bovins. L'identification des tiques a été réalisée en utilisant la clé établie par Estarada –pena et *al.*, (2004), ainsi trois espèces ont été identifiées : *Rhipicephalus bursa* (75.38%), *Rhipicephalus turanicus* (20%) et *Hyalomma detritum detritum* (4.61%). Le portage des Ixodidae par les bovins peut conduire à la transmission de nombreuses bactéries et parasites. La détection a été faite par la Polymérisation en Chaîne Réactif en temps réel. L'objectif de cette étude est d'une part d'étudier le portage de plusieurs agents pathogènes par les Ixodidés collectées sur les bovins en milieu naturel afin d'évaluer les facteurs de risque de transmission de ces agents et d'autre part d'adapter des techniques de biologie moléculaire innovantes à l'étude de portage des agents pathogènes par les tiques.

Mots clés : Agents pathogènes, Détection Moléculaire, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus turanicus*, *Hyalomma detritum detritum*.

Abstract:

Three species of ticks were sampled at Chr ea between May and August 2015 to determine the prevalence of infection with both parasites and bacterial pathogens in cattle communities. The identification of ticks was carried out using the key established by Estrada-pena et al., (2004) thereby identifying three species: *Rhipicephalus bursa* (75.38%), *Rhipicephalus turanicus* (20%) et *Hyalomma detritum detritum* (4.61%). This part of Ixodidae from cattle can lead to the transmission of many virulent bacteria. The detection was accomplished by real time polymerization in chain reaction. The objective of this study firstly is to study the part of many virulent bacteria and parasites by Ixodidae collected from cattle in wild nature in order to control the transmission's risk of these agents in Algeria, and secondly adapt innovative techniques of molecular biology to the study of bacterial carriage by these vectors.

Keywords : Bacteria, Parasites, Molecular detection, *Rhipicephalus turanicus*, *Rhipicephalus bursa*, *Hyalomma detritum detritum*.

ملخص

تم أخذ عدة عينات من ثلاثة أنواع من القراد في أعالي جبال الحظيرة الوطنية للشريعة خلال الفترة الممتدة من مايو إلى جويلية 2015 وذلك من أجل تحديد مدى انتشار العدوى بالبكتيريا المسببة للأمراض في المجتمعات المحلية للأبقار ولذا تم إجراء دراسة على الطفيليات الخارجية مفصليات الأرجل الخاصة بالأبقار. تم الاستدلال على القراد باستخدام مفتاح والكر و اخرون 2004 ولقد تمكنا من التعرف على ثلاثة أنواع: ريبسيفالوس بورسنا بنسبة 75.38%، ريبسيفالوس تورانيكوس بنسبة 20% و ايلوما ديتريتوم ديتريتوم بنسبة 4.61%. هذا المنفذ من الطفيليات الخارجية للأبقار يمكن ان يؤدي الى انتقال العديد من الامراض ذات مصدر بكتيري و طفيلي. تم الكشف عن هذه الأخيرة بواسطة واحدة من احدث و ادق تقنيات البيولوجيا الجزيئية الا و هي تفاعل البلمرة التسلسلي في الوقت الحقيقي. الهدف من هذه الدراسة هو التحقيق في مسببات الامراض المتنقلة بواسطة مفصليات الارجل (في هذه الدراسة القراد) التي جمعت في الابقار و كذا تقييم مخاطر انتقال هذه الطفيليات في الجزائر بالإضافة الى هذا فان استعمال التقنيات البيولوجية الحديثة سيزيد من دقة و واقعية النتائج المتحصل عليها.

كلمات البحث: القراد، ريبسيفالوس بورسنا، ريبسيفالوس تورانيكوس، ايلوما ديتريتوم ديتريتوم، البكتيريا، الطفيليات.

Liste des abréviations :

- ***AE**: Elution Buffer.
- ***AL**: Lysis buffer for DNA purification.
- ***AP**: Agent Pathogène.
- ***ATL**: Tissue lysis buffer.
- ***AW**: Wash buffer.
- ***dNTP** : Dichlorodiphényltrichloroéthane.
- ***EGH** : Ehrlichiose Granulocytaire Humaine.
- ***IPA** : Institut Pasteur d'Algérie.
- ***O.N.M** : Office National de Météorologie.
- ***Omp** :Outer membrane protein.
- ***Osp** :Outer surface protein.
- ***P** : Primer
- ***PCR** : Polymérase Chaîne Réaction
- ***P.N.C** : Parc National de Chréa
- ***rtPCR** : Real Time Polymerase Chain Reaction
- ***SARS**: Syndrome Respiratoire Aigue Sévère.
- ***T+** : Témoin positif
- ***T-** : Témoin négatif

Liste des Figures

Figure N°01 : Morphologie schématique des différents types de capitulum chez les tiques Ixodidés.....	4
Figure N°02 : Les principaux critères d'identification des genres chez les tiques dures.....	5
Figure N°03 : Schéma du rostre d'Ixodidae.....	6
Figure N°04 : Schéma d'une patte d'Ixodidae.....	7
Figure N°05 : Morphologie générale d' <i>Ixodes ricinus</i> , une femelle adulte.....	8
Figure N°06 : Systématique des tiques.....	10
Figure N°07 : Principaux organes excréteurs et digestifs d'une tique.....	13
Figure N°08 : Schéma de l'anatomie interne d'Ixodidae.....	15
Figure N°09 : Schéma simplifié du cycle biologique triphasique d'une tique dure.....	18
Figure N°10 : Distribution des Ixodidae en Algérie selon les trois aires bioclimatiques.....	23
Figure N°11 : Illustration du co-repas chez la tique.....	25
Figure N°12 : Voies de transmission des agents pathogènes chez les tiques.....	26
Figure N°13 : Coloration de Giemsa de <i>Borrelia recurrentis</i> dans le sang d'un patient atteint de fièvre récurrente.....	35
Figure N°14 : Cycle de transmission de <i>Borrelia burgdorferi</i>	36
Figure N°15 : Nouvelle classification des bactéries de l'ordre des Rickettsiales.....	38
Figure N°16 : <i>Rickettsia conorii</i> à l'intérieur d'une cellule endothéliale humaine. Coloration de Gimenez.....	39

Figure N°17 : Les différentes formes morphologiques de <i>Babesia divergens</i> à l'intérieur des hématies des bovins.....	47
Figure N°18 : Moyennes mensuelles des précipitations pour la période de 2004-2013 dans la région de Médéa.....	55
Figure N°19 : Température moyenne maximales corrigées à Médéa durant la période 2004 à 2013.....	57
Figure N°20 : Diagramme Ombrothermique de Chréa (2004- 2013).....	59
Figure N°21 : Climagramme pluviothermique d'Emberger.....	60
Figure N°22 : Variation de la Vitesse moyenne mensuel de la région de Chréa durant la période 2004 à 2013.....	61
Figure N°23 : Présentation du site d'études.....	64
Figure N°24 : Les bovins rencontrés dans la zone d'étude.....	65
Figure N°25 : La Végétation (<i>Pistacia lentiscus</i>).....	65
Figure N°26 : Collecte des tiques au niveau de la région anale chez les bovins.....	66
Figure N°27 : Tissu utilisé dans la méthode de Drapeau.....	67
Figure N°28 : Clé d'identification des tiques.....	68
Figure N°29: Les réactifs de Kit QIAamp utilisé pour l'extraction d'ADN.....	69
Figure N°30 : Réalisation des coupes en petits morceaux.....	70
Figure N°31 : Placer les dans un Eppendorf.....	70
Figure N°32 : L'ajout de l'ATL.....	71
Figure N°33 : L'ajout de protéinase K	71
Figure N°34 : L'incubation au bain a sec.....	72
Figure N°35 : L'ajout de buffer AL.....	72
Figure N°36 : La deuxième incubation au bain a sec.....	72

Figure N°37 : L'ajout de l'éthanol.....	73
Figure N°38 : Versement dans des tubes collecteurs et centrifugation rapide.....	73
Figure N°39 : L'ajout de AW1.....	74
Figure N°40 : L'ajout de AW2.....	74
Figure N°41 : Dépôt de filtre dans un nouveau tube Eppendorf.....	75
Figure N°42 : L'ajout de AE.....	75
Figure N°43 : Récupération d'ADN.....	76
Figure N°44 : Stérilisation de matériel.....	77
Figure N°45 : Protocole expérimentale de la PCR en temps réel.....	79
Figure N°46 : Smart Cyclers.....	81
Figure N°47 : <i>Rhipicephalus bursa</i> femelle (Vue dorsale).....	85
Figure N°48 : <i>Rhipicephalus bursa</i> (Vue ventrale).....	86
Figure N°49 : <i>Rhipicephalus turanicus</i> femelle (Vue dorsale).....	87
Figure N°50 : <i>Rhipicephalus turanicus</i> male (Vue ventrale).....	88
Figure N°51 : <i>Hyalomma detritum detritum</i> femelle (Vue ventrale).....	89
Figure N°52 : <i>Hyalomma detritum detritum</i> male (Vue dorsale).....	89
Figure N°53 : Abondance des espèces de tiques collectées.....	92
Figure N°54 : La répartition des tiques en fonction de leurs sexes.....	93
Figure N°55 : Tracé de <i>Rickettsia sp.</i> par PCR en temps réel.....	95
Figure N°56 : Tracé de <i>Borrelia sp.</i> par PCR en temps réel.....	96
Figure N°57 : Tracé de <i>Babesia sp.</i> par PCR en temps réel.....	97

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Principales différences chez les imagos entre les deux familles de Méstigmata.....	11
Tableau 02 : Types de cycles en fonction du nombre d'hôtes intervenant.....	20
Tableau 03 : Les molécules salivaires des tiques et leurs rôles.....	28
Tableau 04 : Principaux symbiontes identifiés par la biologie moléculaire ou isolés de tiques dures.....	33
Tableau 05 : Position phylogénétiques des principales bactéries associées aux tiques.....	34
Tableau 06 : Répartition, vecteurs et pouvoir pathogène des différentes espèces de <i>Rickettsia</i> du groupe boutonneux.....	42
Tableau 07 : Moyennes mensuelles des précipitations de la région de Médéa de la pour la période allant de 2004-2013.....	54
Tableau 08 : Températures mensuelles moyennes corrigées (M C°) à Chréa (la période 2004-2013).....	56
Tableau 09 : Température mensuelles moyennes, moyenne sur dix ans et précipitation corrigées à Chréa des 10 dernières années pour la période de 2004 – 2013.....	57
Tableau 10 : Température mensuelles moyennes enregistrées à Chréa en 2012 et 2013.....	58
Tableau 11 : Vitesse mensuelle moyenne du vent (km/h) à Chréa corrigées dans la période 2004-2013.....	61
Tableau 12 : Les produits du mix et leur concentration pour un seul échantillon.....	77
Tableau 13 : Répartition du mix ainsi que la quantité d'ADN ajoutée.....	78
Tableau 14 : Liste des espèces collectées chez les bovins et sur végétation dans la région de Chréa.....	90
Tableau 15 : Richesse totale et moyenne des espèces des tiques capturées durant 2015 dans la région de Chréa.....	91

Tableau 16 : Résultats de sex-ratio des différents échantillons récoltés durant 04 mois d'étude 2015 dans la région de Chréa.....	93
---	----

Glossaire

Acrodermatite chronique atrophiant : manifestation progressive de la Maladie de Lyme, qui apparaît d'abord sur les pieds, les mains, les coudes ou les genoux et composé d'indurée, qui deviennent des plaques érythémateuses atrophiques, donnant une apparence de papier tissu.

Agent pathogène : microorganisme qui peut engendrer une maladie (**Petit Larousse**)

Diapause : diminution de l'activité métabolique induite par des neuro hormones (**Degeilh, 2007**).

Allopatrique : Se dit de deux ou de plusieurs groupes taxinomiques (sous-espèces, espèces...) séparés géographiquement et dont les échanges génétiques ne se font pas (ou plus).

Ambulacres : deux griffes et une ventouse.

Anorexie : C'est le manque ou bien l'absence totale d'appétit.

Arthrite : est définie comme l'inflammation d'une articulation. Elle peut affecter chacune des parties du système locomoteur humain : les os, les ligaments, les tendons ou les muscles.

Asthénie nerveuse : est semblable au « burnout », qui est une forme d'épuisement énergétique et nerveux. Cependant, elle est différente de la fatigue, qui est un phénomène naturel. La manifestation s'installe à différents niveaux (physique et intérieur), plusieurs états ou sentiments fondamentaux refont surface : peur, tristesse profonde, émotivité amplifiée, remords d'expériences passées et même amertume. Même si l'asthénie, qu'elle soit somatique, psychique ou réactionnelle, peut découler de plusieurs causes, je vérifie ce qui m'amène à manifester cet état.

Biovars : Un groupe de souches bactériennes qui se distinguent des autres souches de la même espèce, sur la base de leurs caractéristiques physiologiques.

Cosmopolite : Se dit d'une espèce répandue dans toutes les régions du monde où son habitat existe.

Céphalées : Maux de la tête.

Démangeaison : est une irritation, quelque chose qui « se glisse » sous la peau et qui m'affecte à un endroit particulier ou qui m'irrite intérieurement.

Epidémiologie : science qui étudie la distribution et les déterminants des états de santé dans une population définie, et application de cette étude au contrôle des problèmes de santé (**Last, 1988**).

Germe : microorganisme. Etre vivant microscopique tels que les bactéries, les virus, les champignons unicellulaires et les protistes. Appelés autre fois microbes, les microorganisme jouent un rôle essentiel dans les cycles écologiques, mais certaines espèces sont pathogènes (**Petit Larousse**).

Hemocoel : une cavité ou une série d'espèces entre les organes de la plupart des arthropodes et les mollusques à travers laquelle le sang circule.

Hémolymphe : Liquide souvent coloré dans lequel baignent les organes internes des insectes et qui assure la circulation des éléments nutritifs. appelé « sang » par erreur car il n'a aucun rôle respiratoire.

Infection : pénétration et reproduction dans un organisme réceptif d'une entité étrangère capable de s'y multiplier et de reproduire des entités identiques (**Toma et al., 1991**).

Infestation : pénétration et évolution d'un parasite dans un organisme. Le mot infestation s'emploie pour les parasites, de la même façon que le mot infection s'emploie pour les bactéries, virus, champignons. Mais alors que dans une infection, les éléments reproduits sont identiques à ceux qui leur ont donné naissance, dans une infestation, il existe différentes phases au cours des quelles les parasites une morphologie différente de celle des éléments initiaux (**Toma et al., 1991**).

Maladie infectieuse : maladie due à un agent pathogène qui se multiplie dans l'organisme atteint (**Toma et al., 1991**).

Maladie vectoriel : maladie transmise par un vecteur (**Toma et al., 1991**).

Neuroborreliose : infections du système nerveux provoquées par des spirochètes du complexe *Borrelia burgdorferi* transmis par les tiques, la maladie peut affecter des éléments du système nerveux centrale ou périphérique, isolés ou en combinaison.

Cedème pulmonaire : gonflement des tissus.

Population cible : en épidémiologie, population parmi laquelle est étudiée une maladie (Haydon et al., 2002).

Pronostic : jugement du médecin sur l'évolution d'une maladie.

Réplétion : état d'un organe rempli (Petit Larousse).

Réservoir : en épidémiologie un, ou plusieurs mécanisme(s), milieu(x), ou espèce(s), connectés épidémiologiquement, permettant la survie d'un agent pathogène considéré tant qu'espèce, et par qui l'infection est transmise à la population cible préalablement définie (Toma et al., 1991 ; Haydon et al., 2002).

Risque acarologique : densité de tiques infectées à l'affût (Brownstein et al., 2005).

Stade : en Entomologie, période entre deux mues n'entraînant pas de changement morphologique majeur. Chez les tiques Ixodina, les trois stases correspondent aux trois stades (Brun, 2000 ; Perez-Eid, 2007).

Stase : en entomologie, période entre deux mues responsables de la métamorphose (Brun, 2000 ; Perez-Eid, 2007).

Thrombose : qui se définit par une formation de caillots de sang dans une veine ou dans une artère, provoque un blocage empêchant le sang de circuler librement.

Vecteur : Etre vivant qui, à l'occasion de relations écologiques, acquiert un agent pathogène sur un hôte (Toma et al., 1991).

Zoonose : maladie ou infection qui se transmet naturellement des animaux vertébrés à l'Homme et vice-versa (Toma et al., 1991).

LE SOMMAIRE

Introduction Générale.....	01
----------------------------	----

Partie Bibliographique

CHAPITRE I : Présentation générale sur les tiques

I.1.Morphologie des tiques dures.....	03
I.2.Systématique des tiques dures	09
I.3.Différenciation entre <i>Ixodidae</i> et <i>Argasidae</i>	10
I.4.Physiologie des Tiques.....	12
I.5.Biologie des tiques.....	16
I.5.1.Cycle évolutif.....	16
I.5.2. Relation hôte et cycle de développement des tiques.....	18
I.6.Ecologie des Tiques.....	20
I.7. Les tiques en Algérie.....	22

CHAPITRE II : Rôle vecteur des Tiques

II.1.le rôle de vecteurs des tiques dures.....	24
II.2.Principales bactéries pathogènes transmises par les tiques.....	34

CHAPITRE III : Présentation de la région d'étude

III.1. Situation géographique de la région de Chréa.....	53
III.2. Situation administrative.....	53
III.3. Le relief.....	53
III.4. Facteurs écologiques.....	53
III.4.1.Facteurs abiotiques.....	54
III.4.1.1. Caractérisation pédologique du P.N.C.....	54

III.4.1.2. Cadre climatique.....	54
III.4.2. Facteurs biotiques.....	63

Matériel et Méthodes

1. Choix et description de la station d'étude.....	64
2. Matériel	65
3. Méthodes de travail.....	66
3.1. Collecte des Tiques.....	66
3.2. Méthodes utilisées au laboratoire.....	67
3.2.1. L'identification.....	67
3.2.2. Détection moléculaire.....	69
3.3. Méthodes d'exploitation des résultats.....	81

Résultats et Discussion

CHAPITRE I : RESULTATS

1. Description du site d'étude.....	83
2. Identification des principales espèces d'Ixodidae récoltés dans la station de Chréa.....	83
3. Nombre d'individus des Ixodidae récoltés dans la station d'étude.....	90
4. Exploitation des résultats obtenus dans la région d'étude.....	91
4.1. La richesse totale et moyenne.....	91
4.2. Fréquences centésimales de différentes espèces de tiques récoltées dans la région de Chréa.....	92
4.3. La Sex-ratio des espèces récoltées dans la région de Chréa.....	93
5. Identifications des agents pathogènes portés par les tiques par la méthode de PCR en temps réel.....	94

CHAPITRE II : DISCUSSION

1. Discussion de l'Identification des tiques dans la région de Chréa en 2015.....98
2. Discussion sur la Richesse totale des espèces de tiques collectées à la région de Chréa en 2015.....98
3. Richesse moyenne des espèces de tiques collectées à Chréa sur des bovins.....99
4. Fréquences centésimales de différentes espèces des tiques collectées à Chréa.....99

Conclusion et Perspectives

- Conclusion et Perspectives.....100

Références Bibliographiques

Parmi les maladies potentiellement émergentes, celles transmises par les arthropodes, en particulier les tiques, sont très nombreuses.

L'origine de ces arthropodes est mal connue. Les tiques dures seraient apparues à la fin du paléozoïque, dans des zones présentant un climat chaud et humide, certainement en tant que parasites des reptiles (**Klompfen et al ; 1996**).

Puis à l'ère tertiaire, elles seraient devenues des parasites, aussi bien des oiseaux et des mammifères, alors que certaines resteraient inféodées aux reptiles elles vont ensuite évoluer en s'adaptant à certains groupes d'espèces (**Bourdeau, 1993**).

La première démonstration de leur capacité à transmettre des maladies a été faite à la fin du 19^{ème} siècle par Smith et Kilbourne qui ont montré que *Boophilus annulatus* pouvait transmettre un protozoaire, *Babesia bigemina*, l'agent de la maladie « Texas Cattle Fever » (**Goodman et al ; 2005**). Les tiques dures ont été impliquées dans la transmission de maladies bactériennes à l'homme au début du 20^e siècle (**Socolovschi et al ; 2008**). Plusieurs virus, parasites ou bactéries transmis par les tiques ont été rapportés chez l'homme et l'animal, après la deuxième guerre mondiale (**Goodman et al ; 2005**). Leur impact en matière de santé publique a été réévalué avec la description en 1982 de *Borrelia burgdorferi* comme agent de la maladie de Lyme aux Etats Unis et en Europe (**Goodman et al ; 2005**). Ces dernières années, beaucoup de nouvelles maladies humaines transmises par les tiques Ixodidés ont été décrites à travers le monde. Les tiques sont considérées comme le deuxième groupe de vecteurs de maladies humaines après les moustiques (**Goodman et al ; 2005**).

Chaque espèce de tique dépend d'un biotope particulier, celui-ci détermine la distribution géographique des différentes espèces de tiques, de ce fait, il existe des « zone à risque » pour les maladies transmises par les tiques, Or, on assiste actuellement à des modifications en profondeur des écosystèmes qui découlent notamment des activités humaines ou des changements climatiques. Ces modifications environnementales peuvent conduire à des modifications de la répartition des arthropodes et son couramment associées à l'émergence de maladies (**Morse, 1995**).

Il faut noter également que de nombreux d'infections concomitantes à plusieurs agents vectorisés par les tiques ont été décrits chez l'Homme et les autre mammifères d'une part et

chez les tiques d'une autre part, évoquant l'existence de complexes de maladies infectieuses transmises par les tiques.

Dans cette étude nous nous intéresserons en particulier au portage d'agents pathogènes (bactéries et parasites) par les Ixodidés. L'objectif de cette étude est d'améliorer la connaissance que l'on a du risque de transmission des maladies d'origine bactérien et parasite à tiques. Pour cela nous nous proposons tout d'abord d'étudier le portage de plusieurs agents pathogènes (bactéries et parasites) par les tiques dures en milieu naturel, afin d'évaluer les facteurs de risque de transmission de ces agents et aussi d'adapter des techniques de biologie moléculaire innovantes à l'étude de portage d'agents pathogènes (bactéries, parasites) par les tiques.

I. Présentation générale sur les tiques :

Les tiques sont toutes des ectoparasites arthropodes hématophages, et donc elles sont toutes potentiellement vectrices de maladies pour l'homme. Elles sont cosmopolites et peuvent parasiter de nombreux hotes vertébrés (mammifères, oiseaux, reptiles). Leur durée de vie est longue, jusqu'à une dizaine d'années, et certaines d'entre elles peuvent survivre plusieurs années sans nourriture (**Bourdeau, 1993**).

I.1.Morphologie générale des tiques dures :

Les tiques sont de véritables « géants » parmi les acariens, pouvant mesurer de 1.5 à 15 mm dans le cas des adultes femelles gorgées. (**Bourdeau, 1993 ; Neveu-Lemaire, 1938**)

Les trois dernières stases (Larve, Nymphe, Adulte) présentent un corps d'aspect globuleux, piriforme, aplati dorso-ventralement à jeun et plus ovoïde après un repas sanguin. Ce corps ovalaire est issu de la soudure du céphalothorax et de l'abdomen. Ces deux parties, antérieure et postérieure, se nomment respectivement **le Gnathosoma** et **L'Idiosoma**. (**Bourdeau, 1993 ; Neveu-Lemaire, 1938**)

a)- Le Gnathosoma : constitue la partie antérieure du corps. Il comprend la base du rostre, sclérifié (*basis capituli* ou capitulum), pouvant prendre une forme triangulaire, rectangulaire, trapézoïdale, hexagonale ou pentagonale et le rostre, lui-même composé de différents éléments. La base du rostre des adultes est développée et fixée sur des pièces sclérifiées formant le capitulum dont la pièce basale s'articule dans une échancrure du corps (voir Figure 01).

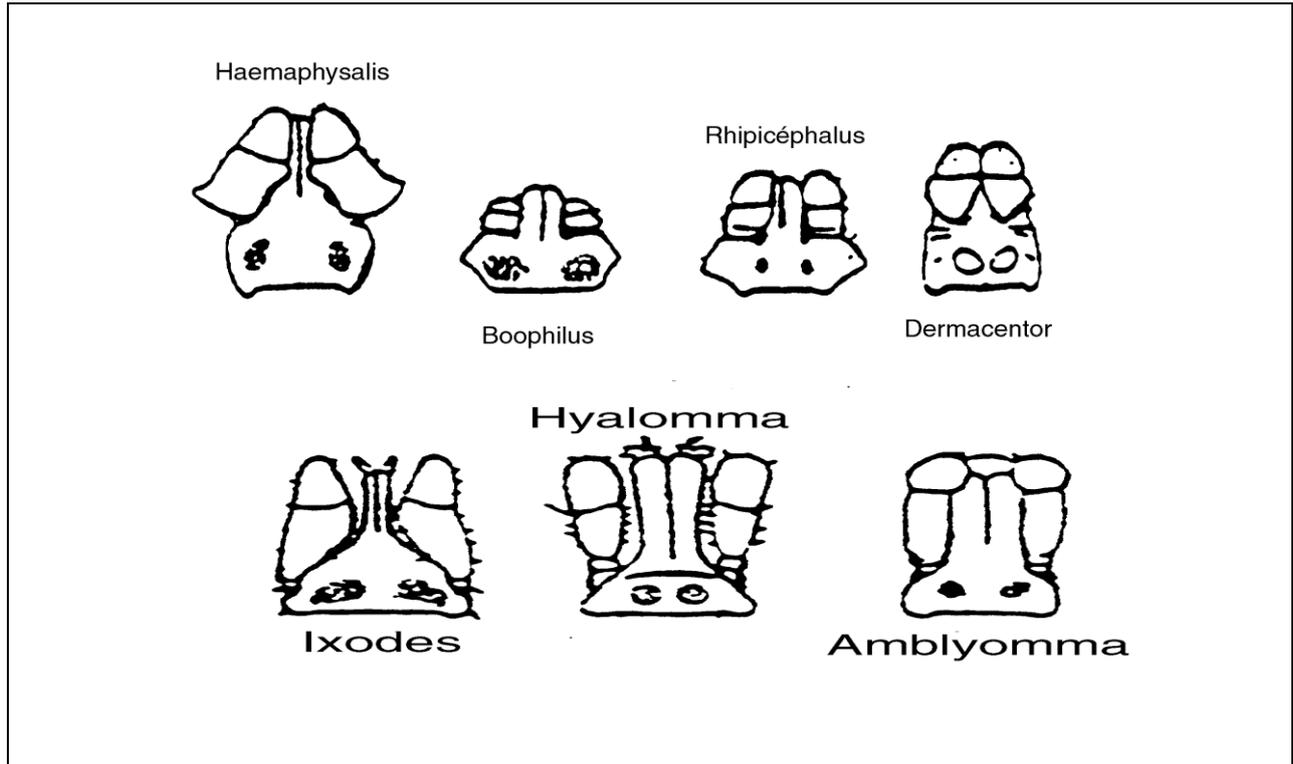


Figure 01 : Morphologie schématique des différents types de capitulum chez les tiques *Ixodidés* (Rodhain et Perez, 1985).

Les caractères morphologiques du rostre sont des éléments essentiels à la détermination des espèces de tiques dures et à la compréhension du rôle pathogène. On distingue des tiques **Longirostres** (rostre nettement plus long que large) et des tiques **Brévirostres** (rostre s'incrinant grossièrement dans un carré). (voir figure 02) (Rodhain et Perez, 1985).

<u>PROSTRIATA</u>		
Longirostres		Genre IXODES
Pas d'émail sur la chitine		
Pas de plaques ventrales chez la femelle, pas de festons		
Pas d'yeux		
Epine de la première hanche simple ou nulle		
<u>METASTRIATA</u>		
1) LONGIROSTRES : longueur des palpes triple ou quadruple de la largeur présence de festons et d'yeux		
a) Scutum non orné		
Mâle avec écussons ventraux		Genre HYALOMMA
Epine de la hanche I double, longue		
b) Scutum orné		
Mâle sans écussons ventraux		Genre AMBLYOMMA
Epine de la hanche I double, courte		
2) BREVIROSTRES : longueur des palpes inférieure au double de la largeur		
a) Capitulum rectangulaire ou en trapèze		
Présence de festons postérieurs		
Mâles sans écussons ventraux		
Pas d'yeux		Genre HAEMAPHYSALIS
Mâles à hanches IV normales		
Epine de la hanche I simple		
Pas d'émail		
Des yeux		Genre DERMACENTOR
Mâles à hanches IV énormes		
Epine de la hanche I double, longue		
b) Capitulum hexagonal		
Yeux, écussons ventraux chez le mâle, pas d'émail		
Des festons- un sillon anal		Genre RHIPICEPHALUS
Pas de festons- pas de sillon anal		Genre BOOPHILUS

Figure 02 : Les principaux critères d'identification des genres chez les tiques dures
(Keirans, 1992)

Le rostre quant à lui comporte :

*Un hypostome, pièce impaire médio-ventrale, résultant de la fusion de 02 pièces paires portant des denticules dirigées vers l'arrière (**Bussieras et Chermette, 1991 ; Estrada pena et al, 2004**). Leur disposition est utilisée pour la systématiques. Lorsque la tique male n'est pas hématophage, on constate une réduction et une irrégularité de ces denticules.

*Deux chélicères, organes pairs, dorsaux, en lames, mobiles, portés sur deux baguettes, intervenant dans la lésion et la fixation par dilacération des tissus au moment de la pénétration. Ils

se terminent par des crochets dirigés latéralement portant trois denticules ou lames. L'ensemble forme une sorte de doigt articulé par des muscles qui permettent la rétraction des chélicères dans une gaine.

*Deux pédipalpes, organes pairs latéraux à 4 articles (parfois plus au moins soudés, généralement inégaux). Le dernier article atrophié n'est visible que ventralement, où il apparaît comme inséré dans une dépression du troisième article. Une concavité médiane permet aux pédipalpes de former une sorte d'étui enveloppant les autres pièces au repos, (voir Figure 03).

Chez la femelle on note également la présence de deux aires poreuses sur la face dorsale du capitulum qui sont les abouchements de glandes (organe de Géné) dont le rôle sécrétoire est d'imperméabiliser les œufs.

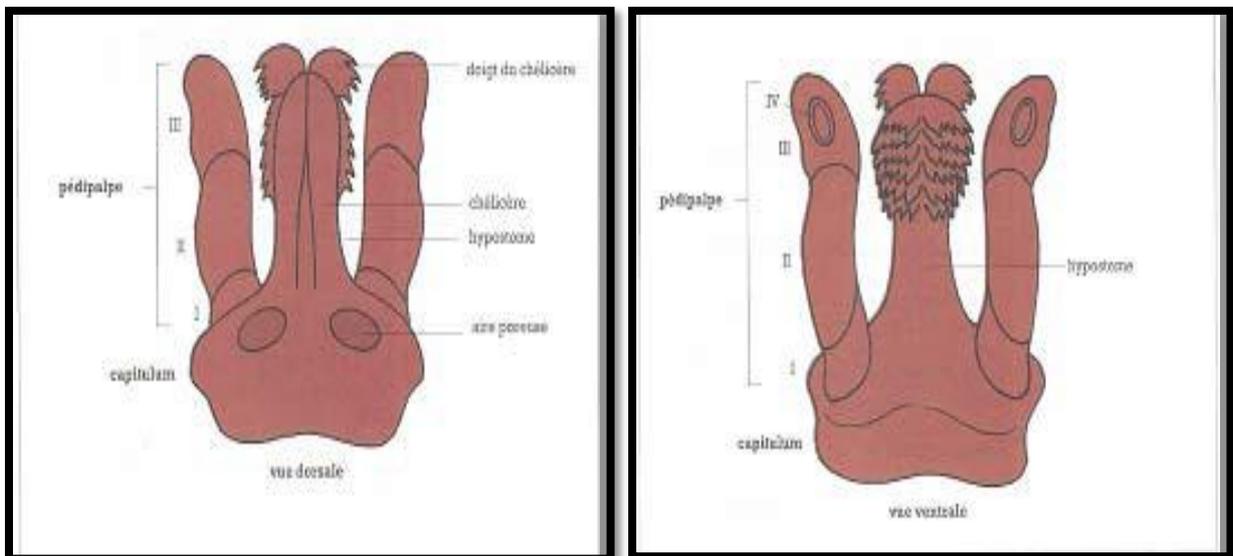


Figure 03 : Schéma du rostre d'*Ixodidés* (Bourdeau, 1993).

b)- L'Idiosoma : Le reste du corps beaucoup plus volumineux, porte le nom d'**Idiosoma**. sur celui-ci, on retrouve en face dorsale un écusson chitinisé : le **Scutum**, de couleur brun-rougeâtre présentant des plaques émaillées chez certaines espèces des genres *Amblyomma* ou *Dermacentor* (Halos, 2005). Cet écusson est réduit chez la femelle et les stases immatures, permettant ainsi la croissance lors de la réplétion (Socolovschi et al, 2008). Chez le male, ce scutum recouvre entièrement sa face dorsale et peut être accompagné par des plaques ventrales, ce qui explique le nom de tiques dures. Le scutum est parfois divisé sur sa face par des sillons (cervicale-scapulaire-médiodorsale-latérale-caudal) et son bord postérieure est parfois découpé

en festons plus ou moins fusionnés (parfois absents). Sur la face dorsale se trouvent également les ocelles au niveau de la deuxième paire de pattes (**Halos, 2005**).

La face ventrale de l'Idiosoma porte les quatre paires d'appendices locomoteurs (sauf chez la larve qui n'en compte que trois paires), composés de six articles : la Hanche ou Coxa qui est utilisée pour la diagnose, puis le trochanter, la patella ou genua, le tibia et le tarse se terminant par une ventouse et deux griffes, leur permettant un déplacement sur les objets lisses verticaux (**Bourdeau, 1993**), (voir Figure 05).

Ces pattes s'insèrent sur le corps via les quatre paires de hanches ou coxas sclérifiées, situés latéralement et antérieurement, numérotés de I à IV de l'avant à l'arrière. Ces coxas peuvent présenter 0, 1 ou 2 épines. Quand elles sont présentes, ces épines plus ou moins longues seront utilisées comme critère de diagnose. Sur la première paire de pattes on retrouve un organe sensoriel : l'organe de Haller (organe possédant des soies sensorielles qui permettent de détecter une présence par détection de gaz carbonique) (voir Figure 04) (**Moulinier, 2003**).

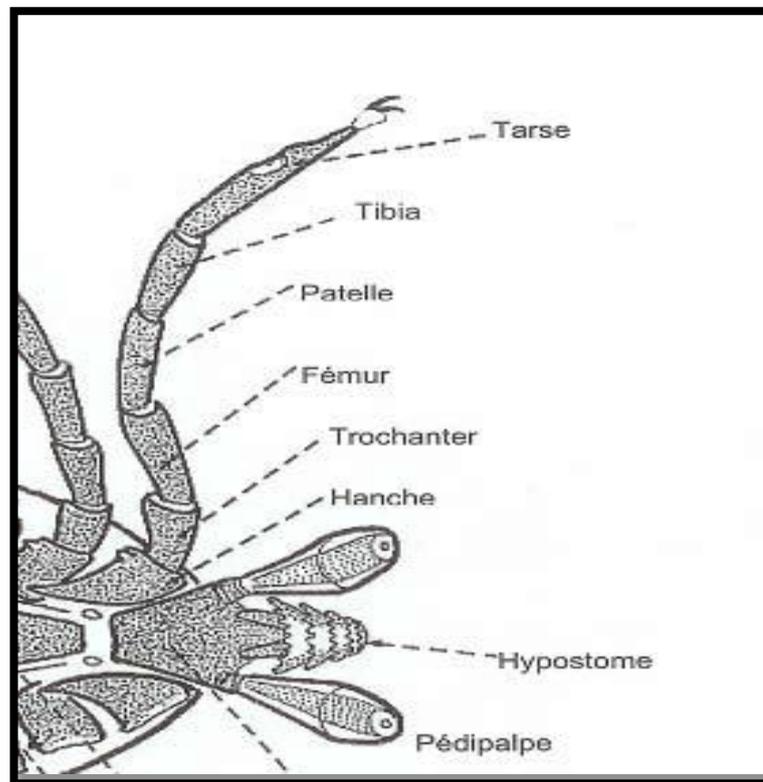


Figure 04 : Schéma d'une patte d'*Ixodidae* (**Moulinier, 2003**).

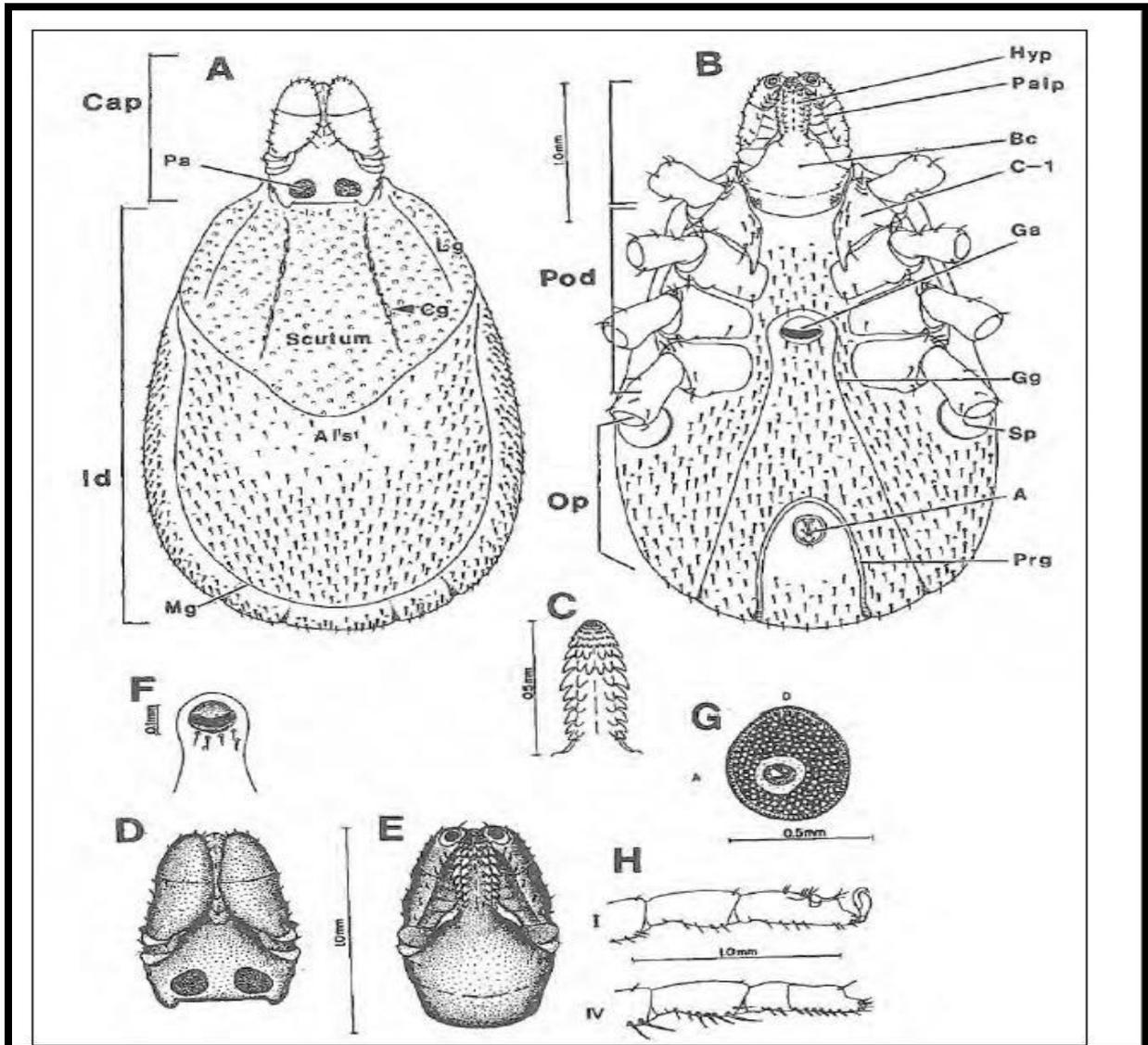


Figure 05 : Morphologie générale d'*Ixodes ricinus*, une femelle adulte (Sonenshine, 1991).

Légendes :

A=Vue dorsale ;cap=Capitulum, Pa=Aire poreuse, Id=Idiosome, Cg=Sillon cervical, Lg=Sillon latéral, Als=Alloscutum, Mg=Sillon marginal.

B=Vue ventrale ;Hyp=Hypostome, Palp=Pédipalpes, Bc=Basis Capituli, C-1=Coxa I, Pod=Podosome, Ga=Pore génital, Gg=Sillon génital, Sp=Stigmate respiratoire, A=Anus, Prg=Sillon périanal, Op=Opisthosoma.

C=Hypostome, vue ventrale ; **D**=Capitulum, vue dorsale ; **E**=Capitulum, vue ventrale ;**F**=Pore génital ; **G**=Stigmate respiratoire ; **H**=Segments terminaux des pattes I et IV.

I.2.Systématique générale des tiques dures :

Phylum: Arthropoda

Sous-Phylum: Chélicérata

Classe: Arachnida

Sous-Classe: Acari (Acariens)

Super-Ordre: Anactinotrichida (parasitoformes)

Ordre: Ixodida (Méastigmata)

Les tiques dures trouvent leur place dans l'embranchement, ou Phylum, des Arthropodes, signifiant « aux membres articulés » (**Bourdeau, 1993**), (voir Figure 06).

Dans cet embranchement, on retrouve le sous-embranchement des Chélicérates. Elles sont placées dans la classe des Arachnides, sous classe des Acariens, ordre des *Ixodida* (**Perez-Eid et Gilot,1998**).Cet ordre peut se diviser en deux sous-ordres mais le sous-ordre qui nous intéresse, celui des *Ixodina*, ou tiques dures (**Perez-Eid et Gilot,1998**)

La classification des tiques fait toujours l'objet de discussions parmi les écoles de systématique, américaine, française et russe. Ainsi, la lecture des différentes publications concernant les tiques est rendue difficile par le nombre important de noms qui ont pu être attribués aux différents taxa à travers l'histoire (**Socolovschi et al ; 2008**). Cependant, **Camicas et al ;** ont publié une synthèse de différent noms et synonymes utilisés dans la littérature avec 869 espèces ou sous-espèces. Cette publication constitue la référence majeure francophone en taxonomie (**Camicas et al ; 1998, Socolovschi et al ; 2008**).Il existe 223 espèces de tiques en Afrique dont 180 sont des tiques dures et 43 des tiques molles (**Socolovschi et al ; 2008**).

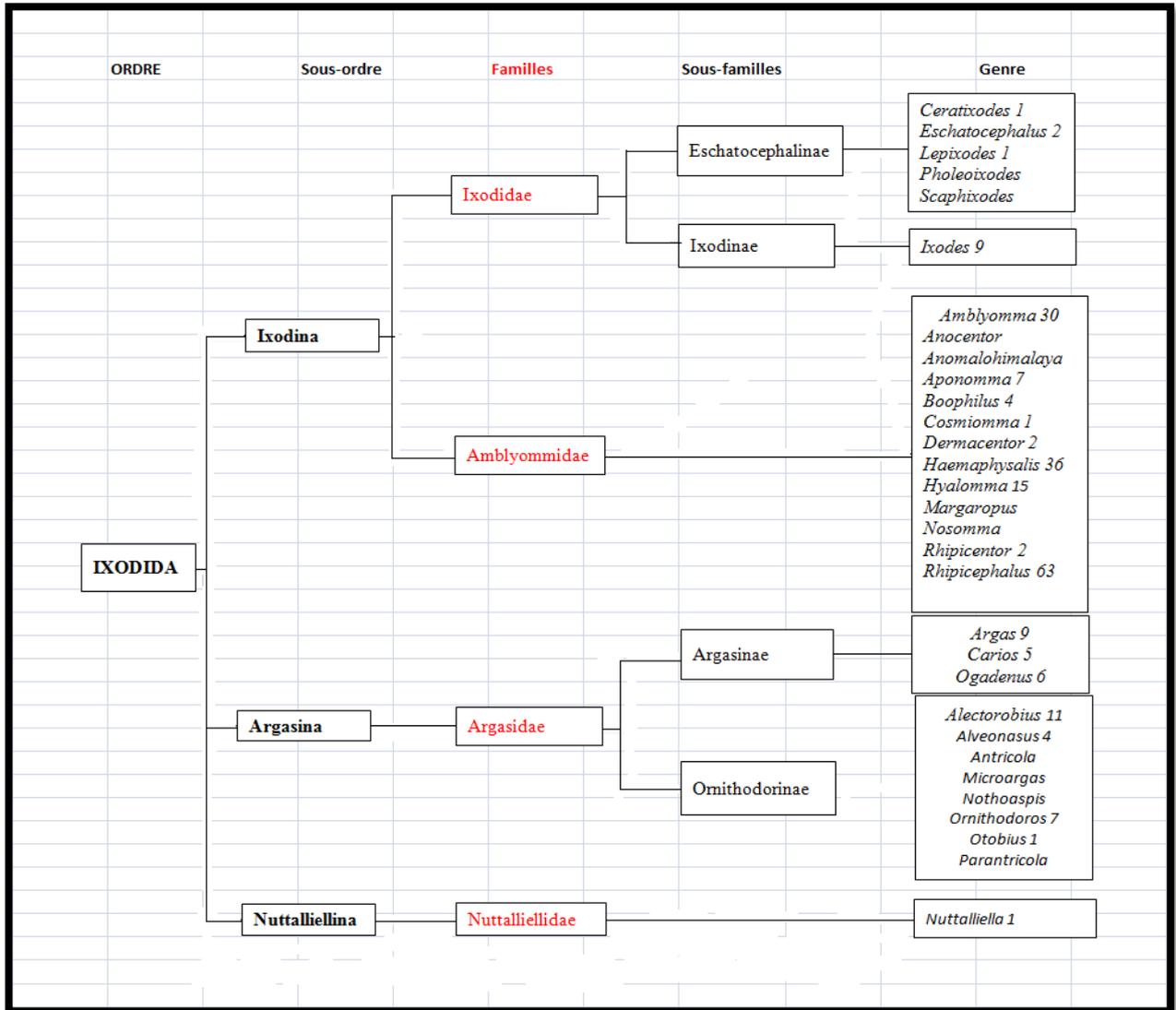


Figure 06 : Systématique des Tiques (Camicas et al ; 1998).

I.3. Différenciation entre *Ixodidae* et *Argasidae* :

De nombreuses différences anatomiques et environnementales permettent de différencier les *Ixodidae* et les *Argasidae*. Les principales sont rappelées dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Principales différences chez les imagos entre les deux familles de Méstastigmata (Moulinier, 2003).

<i>Ixodidae</i>	<i>Argasidae</i>
-Présence d'un écusson dorsal sclérifié (male ⁺⁺⁺) Tiques dures.	-Absence d'écusson dorsal sclérifié Tiques molles.
-Dimorphisme sexuel marqué.	-Dimorphisme sexuel peu net.
-Capitulum, antérieure, bien visible sur la face dorsale.	-Capitulum, ventral dans un camérostome. Non visible sur la face dorsale.
-Rostre puissant, hypostome avec fortes denticulations.	-Rostre peu développé, hypostome avec fines denticulations.
-Pattes avec ambulacres.	-Pattes sans ambulacres ou avec ambulacres rudimentaires.
-Aire poreuse sur la base du capitulum des femelles.	-Pas d'aire poreuse.
-Plaque stigmatique large en arrière des coxas IV.	-Plaque stigmatique petite, en avant des coxas IV.
-Pas d'orifice coxal (absence d'organe coxal)	-Orifice coxal (présence d'organe coxal).
-Tiques cosmopolites.	-Tiques tropicales et subtropicales.
-Mœurs sauvages.	-Mœurs domestiques (Tiques synanthropes).
-Tiques exophiles.	-Tiques endophiles.
-Parasitisme semi-permanent sur l'hôte.	-Parasitisme temporaire.
-Vie sur l'hôte.	-Vie dans les gîtes de l'hôte.
-Activité diurne.	-Activité nocturne.
-Repas sanguin de longue durée (plusieurs jours).	-Repas sanguin court (1/4 d'heure).
-La femelle pond une seule fois et meurt.	-La femelle réalise plusieurs pontes et ne meurt donc pas.
-Tiques éclectiques dans le choix de l'hôte.	-Tiques spécifiques dans le choix de l'hôte.
-Parasites de Mammifères.	-Parasites d'oiseaux et de rongeurs ⁺⁺ (Ornithodorinae).
- Un seul stade nymphal.	-Plusieurs stades nymphaux.

<p>-Pas d'émission de liquide coxal (absence d'organe coxal).</p> <p>-Vecteur de rickettsies (salive).</p> <p>-Vecteur d'arbovirus.</p> <p>-Vecteur de <i>Borrelia burgdorferi</i> (maladie de Lyme).</p>	<p>-Emission de liquide coxal après le repas.</p> <p>-Vecteur de borrelies (salive+liquide coxal).</p> <p>-Vecteur négligeable d'arbovirus.</p>
---	---

I.4. Physiologie générale des Tiques :

I.4.1. La musculature :

La musculature des tiques est puissante, avec en particulier des muscles médians, dorso-ventraux. Elle permet aux tiques de se fixer solidement aux supports pendant l'affut, ou au tégument de l'hôte pendant le repas sanguin, mais aussi de se déplacer très activement (**Bourdeau, 1993**).

I.4.2. Appareil digestif :

Le système digestif se divise en trois parties :

La partie antérieure (comprenant le pharynx et l'œsophage). L'intestin moyen (composé d'un ventricule central ou estomac et de plusieurs diverticules ou caeca qui remplissent la cavité générale) et la partie postérieure (formée par l'ampoule rectale qui débouche sur l'anus) (**Coons et Alberti, 1999**).

Il existe par ailleurs des glandes cuticulaires qui permettent l'excrétion d'eau et des sels minéraux au cours des repas. Cet ensemble très diverticulé se trouve en contact étroit avec les autres organes de la cavité générale, facilitant ainsi le passage de germes pathogènes vers ceux-ci.

Ces acariens présentent également deux glandes salivaires très développées, s'étendant sur les cotés depuis les stigmates aux bords latéraux du scutum. Elles sont formées d'acini disposés en grappe. Les glandes déversent leur contenu dans le salivarium, réservoir situé au dessus du pharynx. Puis de ce réservoir part un canal unique se jetant dans le canal aspirateur.

La salive permet le passage des germes pathogènes de la tique vers l'hôte et a une action toxique en plus de son action histolytique. Son action toxique est due à des cellules 'venimeuses', plus ou moins disséminées sur le trajet des canaux excréteurs salivaires. Lorsque ces propriétés sont particulièrement marquées, et en fonction des sites de fixation, cette activité venimeuse peut être responsable de « Toxicose à Tiques » et notamment de phénomènes paralytiques (Neveu-Lemaire, 1938 ; Bourdeau, 1993 ; Chermette et Bussieras, 1991).

I.4.3.Appareil excréteur :

Une paire de longs tubes de Malpighi vont venir au contact des principaux organes de la tique. Ils se terminent dans le sac rectal. Ils vont collecter les déchets nitrogènes produits par les différents organes, ce qui va former des cristaux de guanine qui seront évacués via le rectum. Ces tubes de Malpighi jouent également un rôle dans la régulation osmotique en éliminant l'excès d'eau ingérée lors du repas sanguin. La tique peut ainsi concentrer plus d'hémoglobine et de protéines dans sa cavité gastrique (Don, 1961), (voir Figure 07).

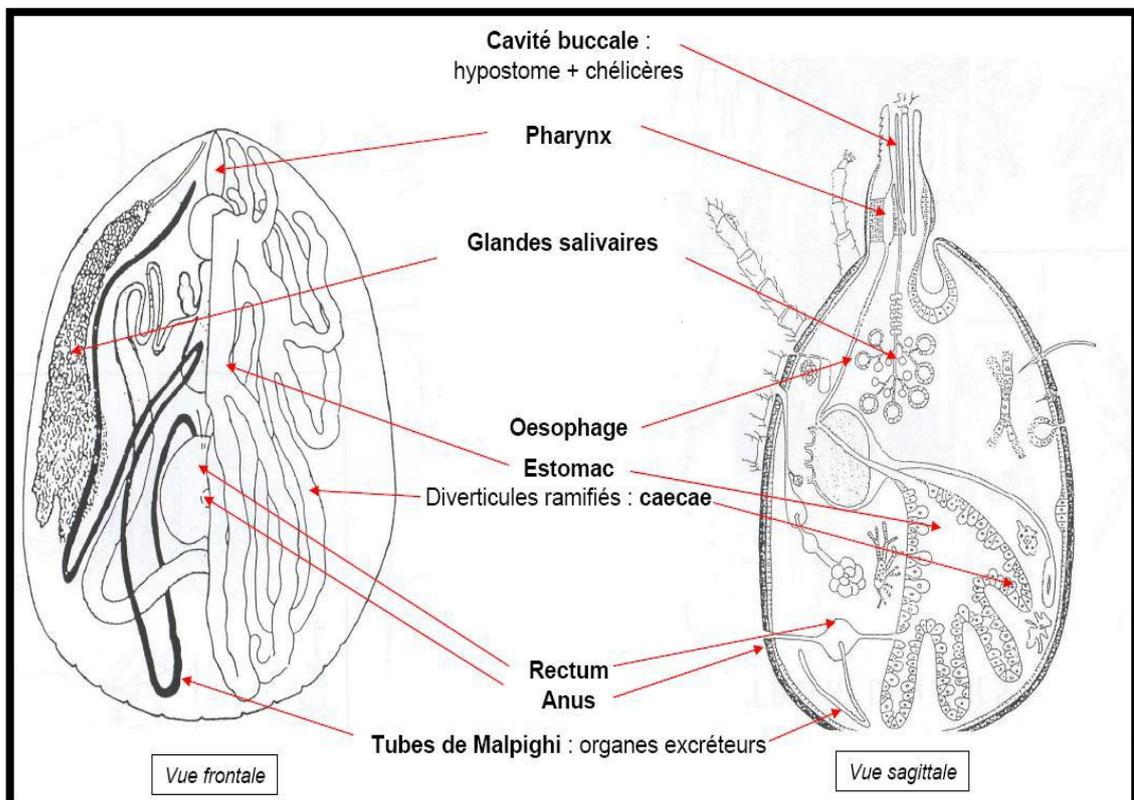


Figure 07 : Principaux organes excréteurs et digestifs d'une tique (Huber, 2010).

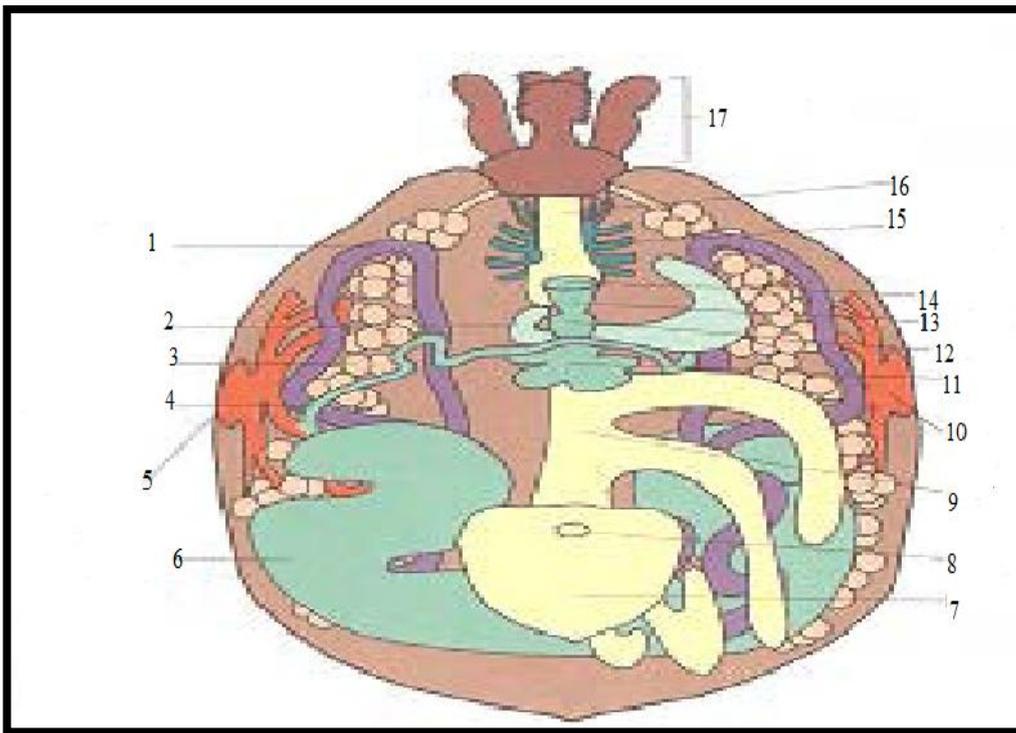
I.4.4.Appareil génital :

L'appareil génital femelle est particulièrement développé. Il est formé d'un ovaire en forme de « fer à cheval ». De chaque extrémité part un oviducte long, sinueux. Les deux oviductes se rejoignent dans un utérus auquel est annexé une spermathèque. L'appareil génital se termine par un vagin, plus ou moins protractile, s'ouvrant sur un gonopore. Chez une femelle de 10 mm de long, l'appareil génital déplié atteint 135 mm (**Neveu-Lemaire, 1938**). Le contact étroit entre les caeca gastriques et l'appareil génital permet le passage éventuel de certains microorganismes.

Chez le male, deux testicules tubulaires rejoignent une vésicule séminale via deux canaux déférents. En partie postérieure à cette vésicule, un complexe de glandes accessoires est présent médialement ; et la vésicule est en contact avec le gonopore par un conduit éjaculateur (**Don, 1961**). Les spermatozoïdes sont contenus dans des capsules, les spermatophores, transmis à la femelle au cours de l'accouplement (**Bourdeau, 1993**).

I.4.5.Appareil respiratoire :

Les tiques ne possèdent pas de poumons, mais dispose d'un système de trachées débouchant au voisinage de la hanche IV, par une paire de stigmates. Ceux-ci sont entourés d'un péritème qui prend une forme ovalaire chez les *Ixodidae* et de virgule chez les *Amblyommidae* (voir Figure 08).



Les légendes :

1 :tubes de Malpighi

2 :glandes accessoires

3 :glandes salivaires

4 :oviducte

5 :plaque stigmatique

6 :ovariole

7 :sac rectal

8 :anus

9 :estomat et caecums diventricules

10 : système trachéal

11 : receptacle séminale

12 : utérus

13 : vagin

14 :gonopore

15 :gonglion nerveux

16 :l'œsophage

17 :le rostre

Figure 08: Schéma de l'anatomie interne d'*Ixodidea*

I.4.6.Appareil circulatoire :

La cavité générale de la tique est remplie d'hémolymphe maintenant la paroi sous tension, ce qui permet une résistance à l'écrasement. L'hémolymphe, en dehors du maintien d'une pression osmotique, constitue la principale réserve hydrique et sert au transport de métabolites et d'hormones. Un coeur est présent en partie postérieure de la face dorsale et permet une circulation de l'hémolymphe, le rythme est irrégulier, et des arrêts de plusieurs secondes sont fréquents (**Don, 1961**).

I.4.7.Système nerveux :

Il est concentré en un gonglion cérébroïde , traversé par l'œsophage. Des nerfs moteurs et sensitifs vont aller innover la tique.

I.5.Biologie des tiques :

I.5.1.Cycle évolutif :

I.5.1.1.Différentes phases du cycle évolutif :

Les tiques dures sont des ectoparasites temporaires dont le cycle de développement comporte une alternance de phases parasitaires (phase alimentaire) sur l'hôte et des phases libres au sol. Comme pour tous les acariens, le cycle des tiques comporte quatre étapes évolutives :

- *L'œuf
- *La larve (hexapode)
- * Le stade nymphal
- *L'adulte (male ou femelle)

Chez les *Ixodiformes*, on appelle stases les différentes formes séparées par des métamorphoses vraies et stades, les différentes formes séparées par des mues de croissance. Mais les *Ixodidés*, qui sont hématophages, ne prennent qu'un unique repas de sang à chaque stase, ce dernier étant nécessaire à l'évolution et à la ponte des œufs.

La durée du cycle est très variable : elle dépend de l'abondance des hôtes et des conditions climatiques mais aussi de l'espèce considérée (**Rodhain et Perez, 1985**).

Chacune de ces stases comprends une phase de recherche de l'hôte, sur lequel aura lieu le repas sanguin, unique, de 03 à 12 jours selon la stase et l'espèce. Après le gorgement, la tique se détache et tombe sur le sol où auront lieu les métamorphoses ou dans le cas d'une femelle fécondée, la ponte. Cette ponte donnera 2500 à 10000 œufs, selon la quantité de sang prélevé, déposés directement sur le sol ou dans une anfractuosité de terrain (**Perez-Eid, 2004**).

Suite à la ponte, l'œuf  clot au bout de 20 à 50 jours, temps nécessaire à l'embryogénèse, pour donner la première stase : la Larve. Cette larve, après avoir éliminé ses déchets métaboliques résultant de l'embryogénèse, part à la recherche d'un hôte potentiel pour prendre son repas sanguin, la quantité de sang absorbée peut représenter jusqu'à 200 fois le poids de la tique. Ou alors la tique entre en diapause lors de conditions métaboliques défavorables. Le cycle reprendra quand les conditions redeviendront plus favorables (**Goodman et al., 2008**).

Après son repas sanguin, la larve se détache, tombe sur le sol pour y effectuer dans un endroit favorable, sa métamorphose en nymphe. Cette métamorphose peut durer 2 à 8 semaines selon l'espèce et les conditions climatiques. La deuxième stase, la nymphe, présente le même comportement, la seule différence tient en la durée de la métamorphose en stase adulte qui sera plus longue, 05 à 25 semaines (**Socolovschi et al, 2008**).

La stase adulte prend un repas sanguin plus important en volume et donc plus long afin d'assurer la ponte. Le repas dur de 05 à 10 jours, il arrive que la femelle vierge commence son repas mais elle ne peut le terminer que si la fécondation a lieu. Les femelles sont généralement plus grandes que les males (leur taille environ deux fois, jusqu'à 14 mm de long) (**Otsfeld et al, 2006**). Les males adultes, quant à eux, ne se nourrissent pas (cas des *Ixodes*), ou dans le cas des M tastriata, ne prennent qu'une petite quantité de sang pour assurer la spermatogénèse. L'accouplement aura lieu soit sur l'hôte, soit sur le sol. La copulation se fait par l'introduction d'un spermatophore par le male à l'aide de ses chélicères dans le vagin de la femelle. Un male peut s'accoupler avec plusieurs femelles avant de mourir (**Bouman et al ; 1999**). Après fécondation, le male mourra rapidement, tout comme la femelle après la ponte (voir Figure 09).

Ce cycle évolutif chez les *Ixodidae* peut être réalisé en un an. Cependant la durée du cycle peut être allongée en fonction des conditions climatiques et environnementales mais aussi des aléas de rencontre avec les hôtes. En effet, lors de conditions défavorables, les diapauses peuvent êtres allongées. Dans ces situations, on peut observer une seule phase de développement par an,

rythmé par des saisons, et donc un cycle bouclé en 2 à 3 ans (cas d'*Ixodes ricinus* en zone tempérée).

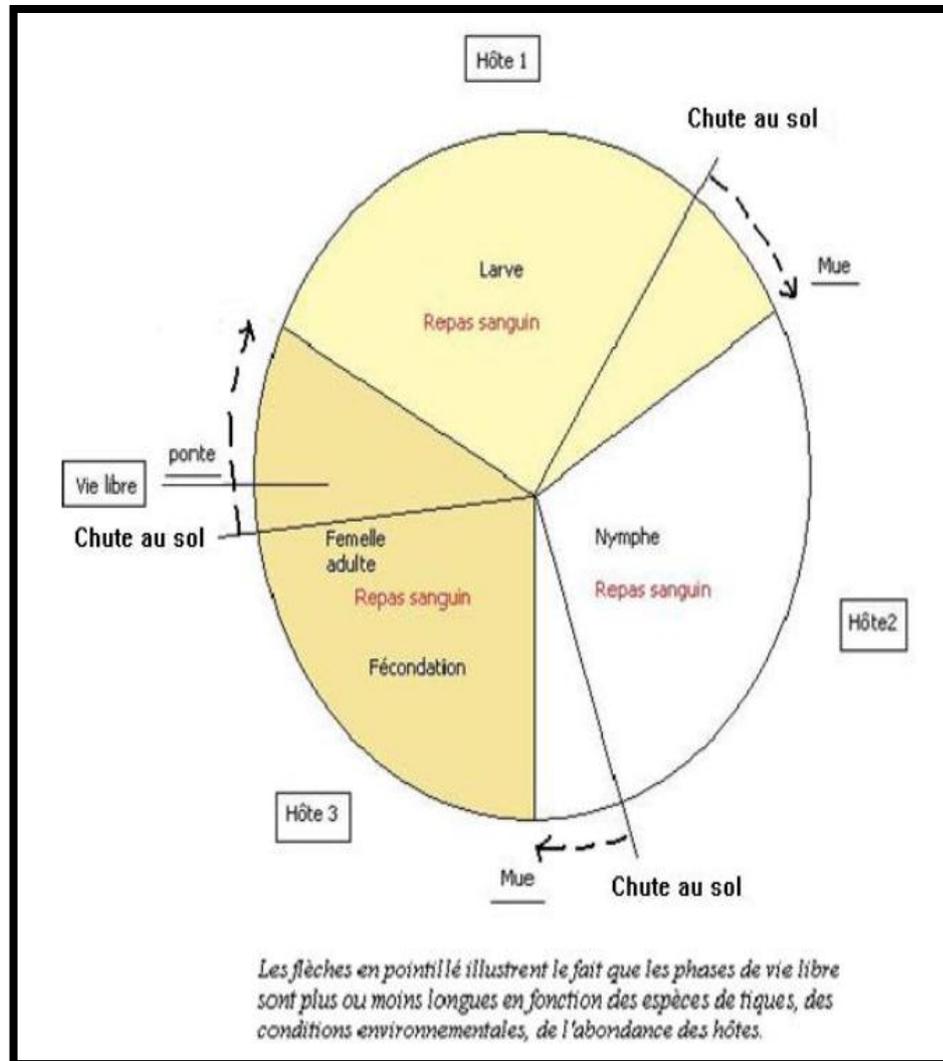


Figure 09 : Schémas simplifié du cycle biologique triphasique d'une tique dure (Perez-Eid, 2007).

I.5.2. Relation hôte et cycle de développement des tiques :

Les tiques étant des ectoparasites intermittents, il existe trois types de cycles en fonction du nombre d'hotes intervenant.

I.5.2.1. Les cycles trixènes (ou triphasiques) :

Ce sont les cycles présentant un changement d'hôte entre chaque stase. Ces les plus fréquemment rencontrés chez les espèces parasitant nos ruminants. les espèces possédant

ces cycle présentent trois phases parasitaires (larve, nymphe, adulte) séparées par deux phases à terre, ou se passent les mues.

La fécondation à lieu sur l'hôte, la femelle se gorge ensuite pendant plusieurs jours puis se laisse tomber au sol. Cette dernière cherche un endroit sombre et abrité pour pondre après un repos d'une ou plusieurs semaines. Elle pond entre 500 et 700 œufs durant plusieurs semaines et meurt. Les œufs éclosent après une incubation de 02 à 36 semaines (selon l'espèce et les conditions climatiques

I.5.2.2.Les cycles dixénes (ou diphasiques) :

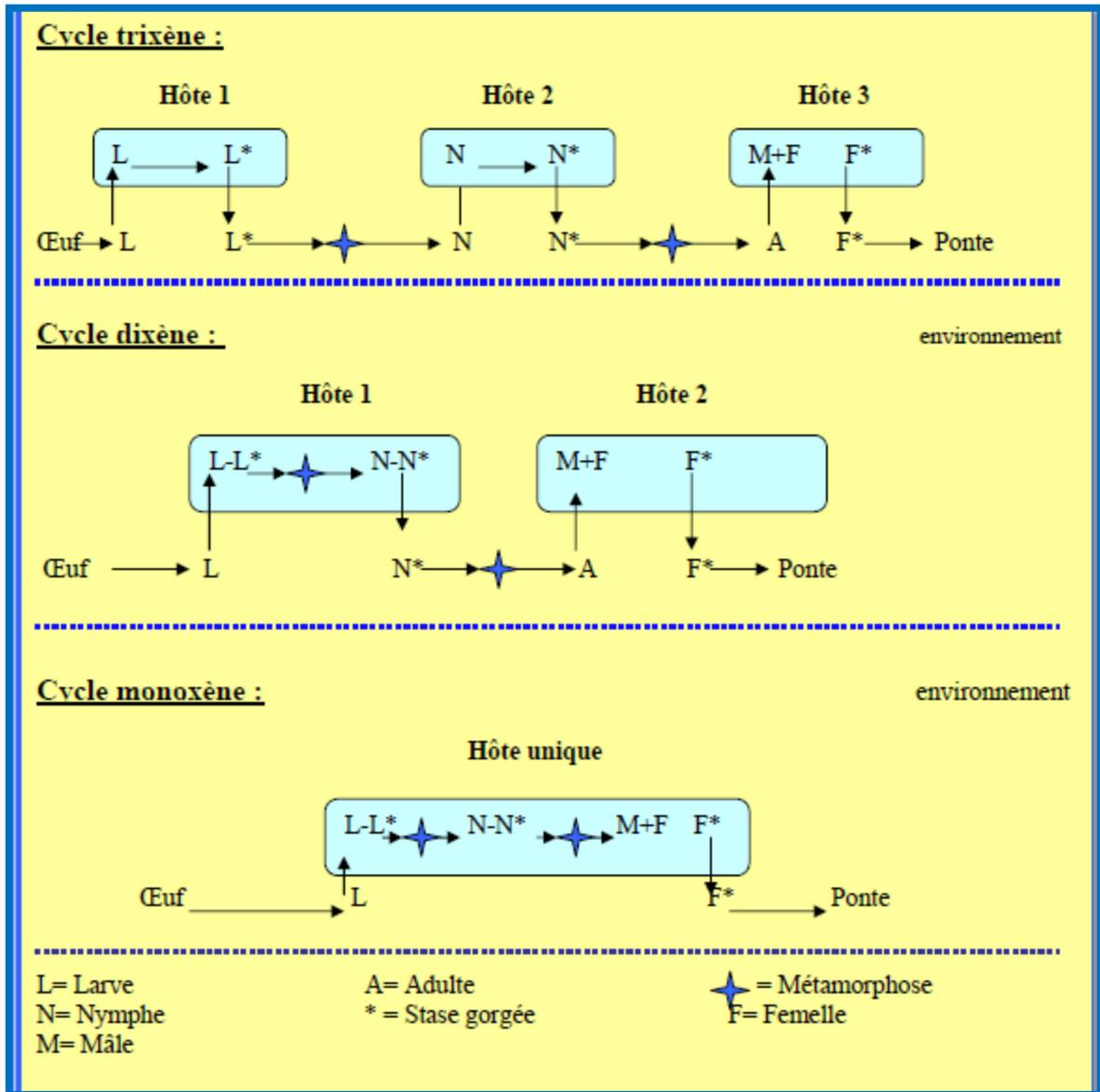
Dans ces cas les trois stases évoluent sur deux hôtes individuellement différents : dans la première phase, la larve gorgée mue sur l'hôte et la nymphe qui en provient se fixe à proximité ; par la suite, la pupaison nymphale a lieu sur le sol et les adultes se fixent sur un nouvel hôte (**Bussieras et Chermette, 1991**).

I.5.2.3.Les cycles monoxénes (ou monophasique) :

Ces cycles sont rarement rencontrés, toutes les stases se succèdent sur un unique vertébré abordé par la larve, il n'y a qu'une phase parasitaire et seuls la ponte, l'incubation et les déplacements des larves en quête d'un hôte se passent sur le sol, la durée du cycle s'en voit raccourcie. Ce type de cycle est l'aboutissement d'une sélection adaptée à des conditions microclimatiques difficiles. Le cycle est donc beaucoup plus rapide (suppression de 02 phases de vie libre) la période de séjour sur l'hôte est au contraire prolongée (**Rodhain et Perez, 1985**). Le type de cycle est caractéristique des espèces de tiques (**Bussieras et Chermette, 1991**). (Voir Tableau 02)

Tableau 02 : Types de cycles en fonction du nombre d'hôtes intervenant

(Perez-Eid et Gilot, 1998).



I.6. Ecologie des Tiques :

I.6.1. Mode de vie des tiques :

I.6.1.1. La vie libre :

Les tiques passent plus de 90% de leurs temps en vie libre (Needham et al, 1991). La vie libre des tiques est fortement liée aux conditions climatiques : la température est le facteur dynamique essentiel d'organogénèse et d'activité tandis que l'humidité est un facteur

important de survie qui caractérise le biotope. Nous pouvons ainsi observer deux catégories de mode de vie :

*Les tiques Endophiles ou Pholéophiles :

Vivent dans des habitats très spécialisés ou sélectifs, en raison des conditions microclimatiques qui y règnent. Elles infestent l'hôte dans son gîte (terriers-nids) et s'y reproduisent. Elles se déplacent peu et l'infestation de l'hôte est facile. En revanche, l'attente est longue (**Bourdeau, 1993**).

*Les tiques Exophiles :

Les tiques endophiles n'ont pas d'habitat spécifique. L'hôte est rencontré à la suite d'un affut sur la végétation. Cet affut détermine une succession d'ascensions et de descentes des supports ou des déplacements horizontaux (**Bourdeau, 1993**).

De nombreuses espèces de tiques sont « mixtes », elles sont endophiles aux stases larvaire et nymphale et exophiles à la stase adulte (**Bourdeau, 1993**).

I.6.1.2.La recherche de l'hôte :

Il y a deux stratégies de base pour trouver un hôte :

I.6.1.2.1.La stratégie passive :

Elle consiste à attendre à des endroits particuliers jusqu'à ce que l'hôte entre dans le champ d'attaque. Cette approche passive peut se subdiviser en stratégie de chasse ou d'embuscade selon que la tique se déplace vers l'hôte détecté ou qu'elle attende qu'il passe à proximité. Il en résulte que les chances de rencontre avec l'hôte dépendent du degré de contact (dimension de biotope, abondance des vertébrés.....) (**Rodhain et Perez, 1985**).

I.6.1.2.2.la stratégie active :

Cette stratégie nécessite de partir à la recherche de l'hôte dans des endroits et à des moments où celui-ci montre des signes de sa présence, la détection du passage d'un hôte potentiel fait intervenir différents facteurs captés par la tique, comme par exemple le changement de luminosité, le dégagement de chaleur et de CO₂ par l'animal . par conséquent la durée de cycle d'une espèce de tique donnée dépendra de la présence d'hôte dans le biotope de cette tique (**Rodhain et Perez, 1985**).

Ces comportements sont gouvernés par la réception par la tique de stimuli sensoriels élaborés par l'hôte et /ou la tique. Ces stimuli sont au nombre de quatre :

*les stimuli visuels :

Ceux-ci sont détectés par les ocelles situés sur la face dorsale des pattes II.

*Les stimuli sonores :

De nombreux hôtes vertébrés produisent des sons associés à des mouvements et à des communications, certaines tiques sont très bien équipées pour recevoir et différencier les fréquences sonores.

*les stimuli olfactifs :

Le principal stimulus olfactif perçue par l'organe de Haller, situé sur le tarse des pattes I de la tique, et l'odeur de l'hôte.

*les stimuli chimiques :

Chez les tiques les signaux chimiques sont émis et reçus selon une hiérarchie bien établie.

Ceci forme un langage précis pouvant notamment concourir à la régulation d'une organisation sociale plus ou moins complexe.

Ces informations sont dénommés sémiochimiques, terme qui désigne un message chimique indépendamment de son utilisation. Parmi les composés sémiochimiques, nous trouvons :

- les phéromones qui permettent de communiquer entre les différents tiques d'une même espèce.
- les allomones, ils'agit d'un message émis dont le bénéficiaire sera l'animal émetteur.
- les kairomones, message dont le bénéficiaire sera l'animal receveur (**Chanourdie, 2001**).

I.7. Les tiques en Algérie :

La répartition géographique des tiques en Algérie a fait l'objet de plusieurs études :

En 2006, **Meddour Boudarba K. et Meddour A.** ont pu recenser la présence de 15 espèces de tique sur des animaux domestiques et sauvages prospectées essentiellement dans le Nord Est Algérien. Dans le but d'étudier la répartition et la biodiversité de la faune Ixodienne dans l'Est

Algérien ; une autre étude a été réalisée par **Dib L. et al.** En **2002**, où 4 genres et 7 espèces ont été identifiés. Un précédent travail publié par **Boukabout A.** en 2003 à Tiaret rapporte, en plus des genres recensés la présence de *Dermacentor* et *Heamaphysalis*. Une étude plus récente en Algérie réalisée en **2013** par **Kernif T.** et collaborateurs, où 20 espèces ont été recensées appartenant à 6 genres à savoir : *Ixodes*, *Dermacentor*, *Boophilus*, *Rhipicephalus*, *Heamaphysalis* et *Hyalomma* ; dont cinq espèces ont été inféodées aux milieux désertiques ; cinq sont présentes sur toute la zone Nord-est de Algérie et les autres espèces sont omniprésentes (voir Figure 10).

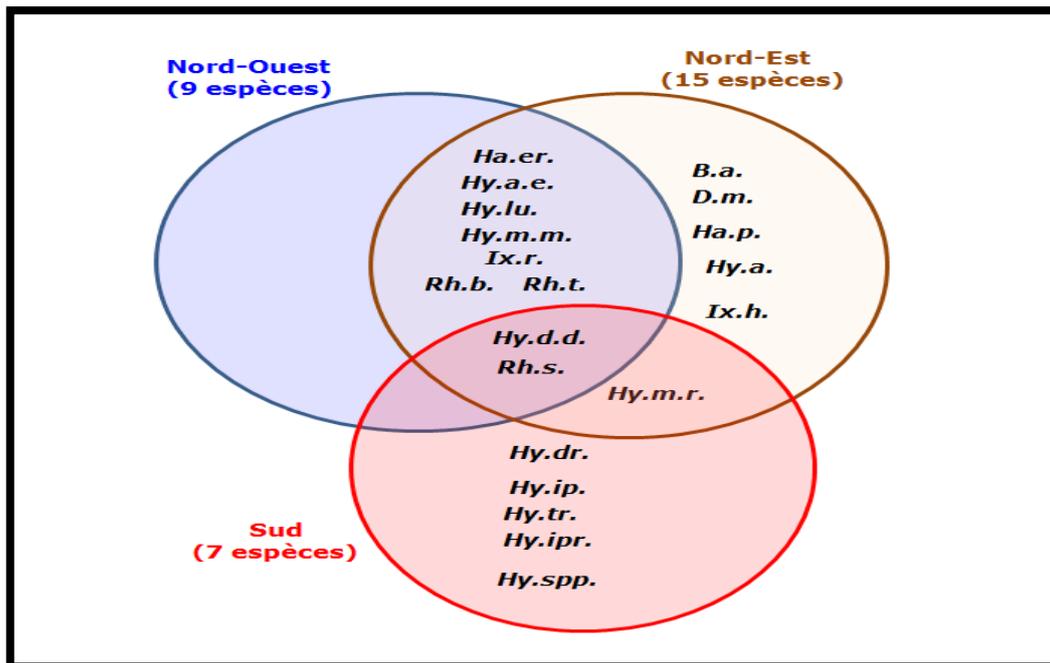


Figure 10 : Distribution des Ixodidae en Algérie selon les trois aires bioclimatiques (**Kernif et al., 2013**).

II.1. le rôle de vecteurs des tiques dures :

Nombre de caractéristiques des Ixodidés présentées jusqu'à présent rehaussent leur potentiel vecteur. Elles se nourrissent pendant de longues périodes et leur morsure indolore leur permet de passer inaperçues, chaque stade évolutif ne se nourrit qu'une seule fois, mais ce repas peut être pris sur une grande variété d'hôtes. Ce cycle biologique favorise donc la transmission des agents pathogènes de la tique à son hôte, mais aussi d'une espèce d'hôtes à une autre, et de fait, les tiques sont les vecteurs d'un très grand nombre d'agents pathogènes qui pour la plus part sont agents de zoonoses. De nombreuses bactéries transportées par les tiques et considérées comme non pathogènes se sont révélées être impliquées dans des processus pathologiques.

II.1.1. Aspects épidémiologiques généraux de la transmission d'agents pathogènes par les tiques :

II.1.1.1. Influence du mode d'acquisition de l'agent pathogène :

L'acquisition des agents pathogènes par une tique peut emprunter trois voies principales.

Tout d'abord une tique peut s'infecter lors de son repas sanguin. Il s'agit alors de transmission dite **horizontale**, la durée de l'attachement à l'hôte réservoir et donc du repas est déterminante pour que cette transmission soit efficace, la proportion de tiques qui s'infectent étant souvent directement proportionnelle au temps d'attachement (**Piesman et al., 1991**)

Pour un même individu, la transmission peut également avoir lieu au cours de la mue, lors du passage d'un stade à l'autre, elle est alors nommée transmission **transtadiale**, ce mode de transmission doit nécessairement exister pour que la tique ait un rôle de vecteur puis qu'un seul repas est pris par stade évolutif.

Les bactéries acquises pendant le repas ne pourront être transmises à un second hôte qu'une fois la mue effectuée et le stade suivant atteint.

Enfin, une femelle infectée peut par transmission dite **transovarienne**, transmettre les agents pathogènes à sa descendance.

Pour certains agents pathogènes, toutes les voies de transmission sont possibles, dans ce cas, les tiques jouent alors, en plus du rôle de vecteur, celui de réservoir de la maladie. La

distribution de la maladie sera intimement liée à celle de la tique en cause. (Parola et Raoult, 2001).

Bien que cela soit anecdotique, il est possible pour les tiques de s'infecter par **co-repas** lors d'un repas à proximité sur le même hôte. L'agent pathogène peut être transmis d'une tique infectée à une tique saine sans infecter l'hôte (Randolph et al ; 1996), (voir Figure 11).

Enfin, pour certain *Rickettsia sp*, et certaines *Borrelia sp*, agent de fièvre récurrentes, une transmission sexuelle lors de l'accouplement a été décrite (Raoult et Roux, 1997), (voir Figure 12).

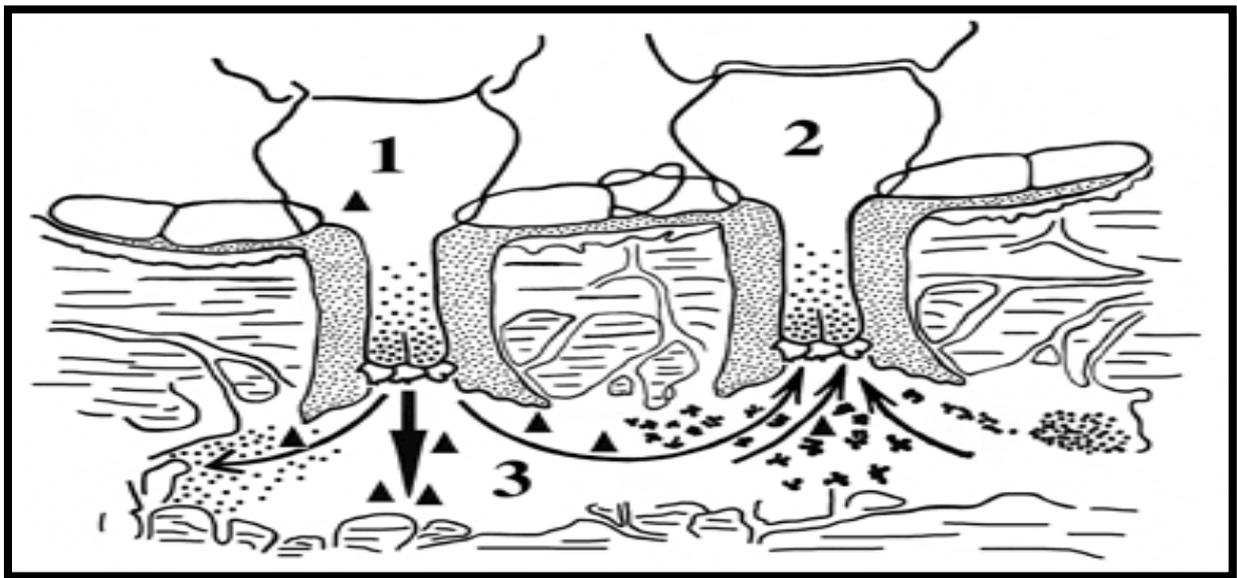


Figure 11 : Illustration du co-repas chez la tique (Huber, 2010).

1: Tique infectée par un germe; **2:** Tique saine; **3:** Transmission du germe par relargage de salive au niveau de la lésion de gorgement.

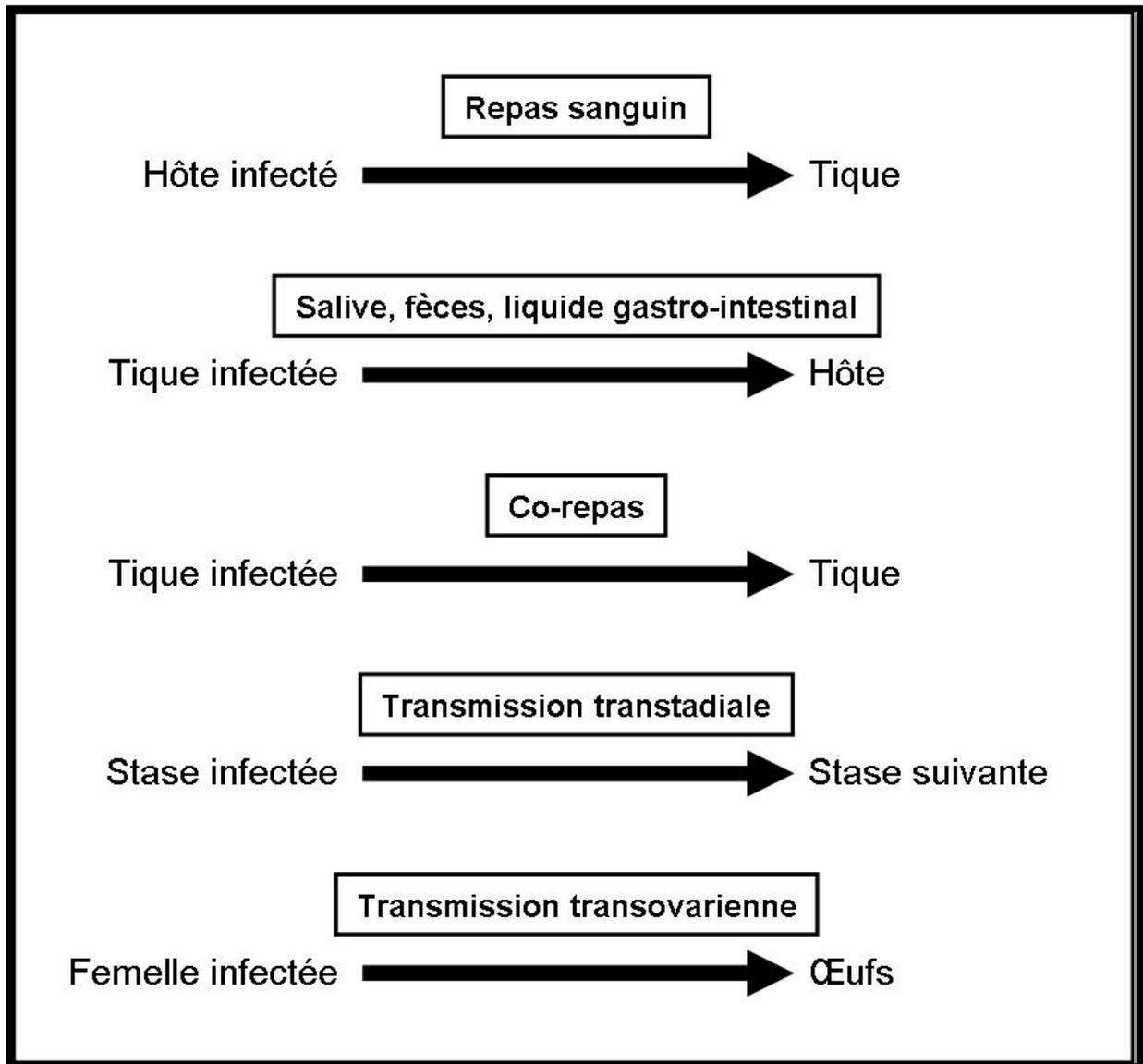


Figure 12 : Voies de transmission des agents pathogènes chez les tiques (Perez-Eid, 2007).

* Importance de la salive

La salive a donc une importance capitale pour la tique lors de son repas sanguin. Sa composition est extrêmement complexe, comprenant des centaines de protéines différentes, dont la plupart sont exclusives aux tiques et ne se retrouvent nulle part ailleurs dans le règne animal. De plus, la fonction de la grande majorité de ces protéines reste inconnue: on n'en connaît à peine que 5% (Francischetti et al., 2010).

Comme nous l'avons vu, la salive remplit de nombreuses actions (Francischetti et al., 2010, Hovius et al., 2008) :

-Anticoagulante, agissant tout au long de la cascade de coagulation. On retrouve ainsi des inhibiteurs directs du facteur X, de la thrombine, des inhibiteurs de type Kunitz/TFPI agissant au niveau de la voie extrinsèque de la coagulation, des anti-aggrégants plaquettaires, des agents de fibrinolyse et des prostaglandines vasodilatatrices. *Ixodes ricinus* possède une protéine de type Kunitz spécifique, appelée Ir-CPI (Ixodes Ricinus Contact Phase Inhibitor)

-Immunosuppressive, là aussi à quasiment tous les niveaux de réponse immunitaire. Il y a présence d'inhibiteurs du complément, d'inhibiteurs des interleukines notamment IL-2 (prolifération lymphocytaire) et IL-8 (chimiotactisme des neutrophiles), inhibiteurs du TNF- α (réaction inflammatoire), antihistaminique empêchant la dégranulation des basophiles.

On retrouve des protéines comme IRIS (Ixodes Ricinus Immuno-Suppressor) inhibant la prolifération lymphocytaire. Présent dans la salive mais aussi dans l'hémolymphe de la tique, des "Immunoglobulin binding proteins" permettent de neutraliser localement les anticorps ainsi que ceux qui auraient pu être ingérés. L'immunosuppression locale facilite la prolifération des germes qui seront transmis. *Borrelia burgdorferi*, bactérie responsable de la maladie de Lyme, va jusqu'à s'associer via son récepteur OspC à la protéine salivaire Salp-15 de la tique pour déjouer son entrée dans le système immunitaire. Sans cette association, la prolifération de *B.burgdorferi* serait compromise (**Hovius et al., 2008**).

-Création d'une cavité dermique grâce à ses protéases et à diverses enzymes lytiques.

-Formation d'un ciment via des enzymes de polymérisation

-Action analgésique (démontrée pour l'instant que chez certaines espèces)

La salive des tiques intéresse énormément les chercheurs, pour deux raisons principalement. La première est son intérêt pharmacologique; la salive présente beaucoup de protéines exclusives et pouvant avoir un intérêt majeur en thérapeutique, notamment au niveau anti-coagulation (par exemple le Ir-CPI) et immunosuppression/régulation dans les maladies auto-immunes (**Hovius et al., 2008**).

C'est dans le cadre de ces recherches qu'une équipe brésilienne travaillant sur un inhibiteur de type Kunitz des tiques *Amblyomma cajennense*, lui a également découvert des propriétés anticancéreuses anti-angiogéniques prometteuses (**Chudzinski et al., 2010**).

La seconde raison d'intérêt pour les scientifiques, est la recherche de protéines spécifiques et nécessaires aux tiques pour la réalisation du repas, dans le but d'établir un vaccin "anti-tique". En effet, si les choses ne se déroulent pas correctement lors du repas pour la tique (début de coagulation, arrivée de globules blancs activés), celle-ci abandonnera rapidement et se détachera pour se laisser tomber au sol. Un vaccin permettrait de se prémunir

de ce fait de toutes les maladies transmissibles par les tiques. Un vaccin animal existe depuis la fin des années 1980; c'est le TickGard® qui vise le Bm86, une molécule de la paroi interne de l'intestin de *Boophilus microplus*. Il est utilisé chez les bovins en Australie où son efficacité est modérée, à cause de sa spécificité limitée à certaines souches de cette tique. Un vaccin amélioré avec un adjuvant (TickGard Plus®) est relativement plus efficace (Sparagano, 2002).

Tableau 03 : Les molécules salivaires des tiques et leurs rôles (Steen et al., 2006, Valenzuela, 2004).

Molécules salivaires	Rôles connus
Péroxydase	Modulation de la réaction immunitaire de l'hôte Défense de l'appareil digestif de la tique après ingestion du sang
Inhibiteurs des enzymes de la coagulation	Inhibition de la coagulation au niveau de la plaie de morsure
Antihistaminiques protéiques	Compétiteurs de l'histamine sur les récepteurs spécifiques, ce qui empêcherait l'apparition de l'œdème et de l'érythème qui participent au détachement de la tique
Antagonistes des récepteurs au fibrinogène plaquettaire et des désagrégants plaquettaires	Anti-coagulant
Protéines inhibitrices du complément	Blocage de la voie du complément
Protéines homologues des modulateurs de la réaction immunitaire et inflammatoire de l'hôte	Échappement efficace à la réponse immunitaire de l'hôte
Facteurs inhibant la migration des macrophages	
Facteurs inhibant les facteurs de relargage des histamines IgE-dépendants	
Protéines de liaisons aux immunoglobulines	Résistance aux anticorps de l'hôte qui sont ingérés avec le repas sanguin
Protéines fixant les amines	Lutte contre l'inflammation et les amines vasoactives de l'hôte
Protéines fixatrices du calcium	Régulation de l'homéostasie du calcium : signal intercellulaire, fonctionnement des protéines chaperonnes, interactions protéiques ou protéo-glycoprotéiques, voie du complément
Protéines du ciment	Protection des parties buccales dans la peau Fixation solide de la tique à son hôte Limite les pertes de liquides lors du repas

	sanguin
Modulateurs de l'expression des cytokines	Modulation de la transcription des cytokines par les leucocytes.
Prostaglandines	Tonicité et perméabilité vasculaire, réaction inflammatoire
Facteurs cardiotoxiques	Arythmies, élongation de l'intervalle Q-T de l'ECG
Facteurs neurotoxiques	T de l'ECG Facteurs neurotoxiques

II.1.1.2. Interaction entre agent pathogène et vecteurs :

On ne sait que peu de choses sur les conséquences des infections au sein de la tique elle-même. Une baisse de fertilité et une plus grande mortalité ont été décrites chez des tiques infectées par *R.rickettsii* (Niebylski et al., 1999). Il reste également à établir si les propriétés des agent pathogènes, en particulier leur virulence, évoluent lorsqu'elles infectent la tique.

C'est par exemple le cas pour *R.rickettsii* qui perd sa virulence chez le cochon d'Inde si la tique est soumise à un stress physiologique (Raoult et Roux ; 1997).

II.1.1.3. Transmission des agents pathogènes à l'hôte :

II.1.1.3.1. Voies de transmission :

Les tiques transmettent les agents pathogènes à leur hôte de différentes façons au niveau du site de nutrition. Les agents pathogènes peuvent être transmis via des sécrétions salivaires infectées ou si du contenu intestinal infecté est régurgité dans la lacune de nutrition, ou si le site de nutrition est contaminé avec des fèces. Le risque de transmission augmente proportionnellement avec le temps d'attachement. (Piesman et al ; 1991, Raoult et Roux ; 1997, Parola et Raoult ; 2001).

La transmission peut également emprunter d'autres voies comme la contamination de muqueuses (peau scarifiée, yeux ...etc) après écrasement ou manipulation des tiques infectées.

Le fait que la morsure de tique soit indolore rend les tiques, en particulier les stades immatures, pratiquement indétectables et dans les cas cliniques avérés de maladies transmises par les tiques, il arrive fréquemment qu'il n'y ait pas d'anamnés de morsure de tiques (Parola et Raoult ; 2001).

II.1.1.3.2. Compétence vectorielle :

La compétence vectorielle est l'aptitude physiologique individuelle d'un vecteur à acquérir un agent pathogène et à le transmettre. La compétence vectorielle varie en fonction de nombreux facteurs qui découlent directement de la relation entre le vecteur et l'agent pathogène. Ainsi, par exemple, il semble que l'efficacité de transmission d'*Anaplasma phagocytophilum* par *Ixodes scapularis* soit plus faible que celle de *Borrelia sp.*, **(Des vignes et Fisch ; 1997, Levin et Fisch ; 2000)**. Cependant, la compétence vectorielle des tiques par rapport aux différentes bactéries pathogènes vectorisées et en générale mal connue d'autant plus que les études expérimentales de transmission sont plus souvent des protéines immuno modulatrices de la salive des tiques *I. ricinus* semblent favoriser la transmission de *B. burgdorferi* *sl* chez la souris en inhibant la phagocytose des spirochètes et en accélérant la prolifération des bactéries dans la peau **(Kopecky et al., communication orale, 2005)**.

II.1.1.3.3. Facteurs favorisant l'établissement d'une maladie à tique :

Le système épidémiologique d'une maladie à tiques comme toute autre maladie vectorisée, dépend d'une triade « hôte-vecteur-agent pathogène » dont le rendez-vous constitue le facteur de risque **(Combes ; 1995)**.

Le taux d'infection des tiques, celui des hôtes réservoirs, et la densité de ces derniers, sont les variables majeures qui déterminent l'incidence d'une maladie à tiques dans une région donnée. Ces variables sont sous la dépendance complexe de nombreux facteurs physiologiques et écologiques incluant la préférence d'hôtes, la susceptibilité et l'immunité des hôtes, et les conditions environnementales **(Parola et Raoult ; 2001)**.

Les facteurs favorisants liés à la tique comprennent la densité des tiques et leur taux de portage de l'agent pathogène, leur capacité à se nourrir sur l'Homme et l'animal domestique et la prévalence de leur hôte habituel.

Les facteurs liés à l'Homme ou l'animal domestique sont la fréquence d'entrée dans le biotope de la tique et la susceptibilité à l'infection. Le développement récent des activités de loisir en plein air est considéré comme un des facteurs majeurs expliquant l'augmentation de l'incidence des maladies à tiques humaines **(Lane et al ; 2004, Parola ; 2004)**.

II.1.1.3.4. Caractères zoonotiques des maladies à tiques :

Les Hommes sont la plupart du temps des hôtes accidentels pour les tiques et c'est à l'occasion de ce parasitisme aléatoire que se déclenche le cycle infectieux humain (**Parola et Raoult, 2001**). Le potentiel de vecteur de zoonose d'une espèce de tique est directement lié à son spectre d'hôte. Ainsi *I. ricinus* qui est télotrope et anthropophile est davantage impliquée dans la transmission de maladies zoonotiques que *R. sanguineus*.

II.1.1.4. Répartition géographique des zoonoses transmises par les tiques :

Les hypothèses expliquant l'origine et la dissémination des zoonoses transmises par les tiques reposent principalement sur le concept de co-évolution du micro-organisme pathogène, de la tique et de l'animal hôte (**Parola et Raoult ; 2001**). Ainsi les maladies transmises par les tiques ont une détermination géographique et ne sévissent que dans les zones optimales pour le développement de la tique vecteur et des hôtes réservoirs nécessaires à la circulation de l'agent pathogène. Dans ce contexte précis, l'hôte et la tique sont soumis à des pressions de sélection qui conduisent à une co-évolution. Cette hypothèse s'appuie sur la distribution continentale de la plupart des maladies transmises par les tiques.

C'est par exemple le cas de *R. rickettsi* sévit en Amérique du nord, *R. conorii* est retrouvée de l'Europe du sud à l'Asie du sud l'Inde et l'Afrique (**Raoult et Roux, 1997**). C'est aussi celui de la borréliose de Lyme (**Stanek et Steere, 2003**).

Un certain nombre de facteurs, comme les macro-modifications climatiques, l'urbanisation et la déforestation, peut cependant modifier cette répartition. La dissémination des maladies transmises par les tiques implique obligatoirement la dispersion de la tique vectrice et /ou l'hôte, doivent trouver respectivement des hôtes ou des tiques qui sont susceptibles de porter l'infection et qui peuvent assurer le maintien de l'organisme pathogène (**Parola et Raoult, 2001**).

Les tiques ne se déplacent pas au-delà d'un rayon d'en moyenne 50 mètres, mais peuvent être dispersées alors qu'elles sont attachées à l'hôte lors des déplacements de celui-ci. Suivant l'hôte, les distances parcourues peuvent être très grandes. C'est en particulier le cas des oiseaux ou des mammifères migrateurs (**Smith et al ; 2004**).

Les Hommes peuvent aussi avoir une influence sur la dispersion des tiques en modifiant l'habitat des tiques ou par le transport d'animaux sur de longues distances. La dispersion de la

fièvre à tique africaine à *Rickettsia africae* dans les caraïbes est un exemple d'introduction anthropique d'une maladie dans une zone où était absente (**Parola et al ; 1999**).

II.1.1.5. Les bactéries considérées comme symbiotes de tiques :

Les tiques représentent un écosystème à part entière et de nombreuses études ont révélé l'existence de bactéries régulièrement associées aux tiques et considérées comme des symbiotes (**Nibilsky et al ; 1997, Noda et al ; 1997, Azad et Beard ; 1998, Simser et al ; 2001**). Les termes de symbiotes (littéralement « vivant ensemble ») ou endosymbiote (ceux qui vivent dans des symbioses endocellulaire) ont été attribués aux bactéries associées aux arthropodes. La présence de ces symbiotes chez les arthropodes est fréquemment associée à un régime alimentaire non diversifié. Ainsi les arthropodes strictement hématophages, dont l'unique source alimentaire tout au long de leur cycle de développement est le sang, dépendraient d'une grande diversité de symbiotes pour obtenir les nutriments manquants qu'ils n'ont pas la capacité de synthétiser seuls (**Eicher et Shaub ; 2004, Aksoy ; 2003**).

Ces symbiotes peuvent être retrouvés dans une grande variété de tissus et sont souvent intimement liés à la physiologie de leur hôte pour l'arthropode, une distorsion du sex-ratio ainsi que l'altération du déterminisme sexuel chez l'arthropode ont été décrites (**Fialho et Stevens, 2000**). En revanche leur élimination peut également rendre certains arthropodes stériles (**Aksoy, 2003**).

Des représentants des genres *Wolbachia*, *Rickettsia*, *Coxiella* et *Francisella* (tableau.) ont été reconnus comme des symbiotes maintenus dans les populations de tiques dures à la fois par transmission transtadiale et transovarienne. Ainsi des *Rickettsia* du groupe boutonneux ont été retrouvées chez *Ixodes scapularis* et *Dermacentor andersoni*, et des symbiotes du genre *Coxiella* ont été identifiés chez *R. sanguineus*, *Haemaphysalis longicornis* et *Ornithodoros moubata* (**Noda et al ; 1997, Simser et al ; 2001**).

Le pouvoir pathogène propre des symbiotes sur l'hôte mammifère de la tique reste méconnu (**Noda et al ; 1997, Azad et Beard ; 1998**). Certaines bactéries étaient considérées comme des symbiotes stricts avant d'être associées à des pathologies définies (**Parola et Raoult, 2001**). En revanche, si le symbiote en question colonise exclusivement le tissu ovarien de la tique, la transmission à l'hôte vertébré est hautement improbable (**Raoult et Roux, 1997**).

Les bactéries symbiontes peuvent également avoir un rôle indirect en influant sur l'installation ou la transmission des agents pathogènes vectorisés par l'arthropode qu'elles colonisent, on sait par exemple que, chez les glossines, les micro-organismes symbiontes intestinaux du genre *Sodalis* favorise l'installation des parasites du genre *Trypanosoma* (Welburn et Maudlin, 1999). En revanche, cette influence potentielle est peu connue chez les tiques. Chez *Dermacentor andersoni*, il a été démontré que la présence du symbionte *Rickettsia peacockii* dans les ovaires des femelles limitait l'installation de l'espèce pathogène *Rickettsia rickettsi* et donc la transmission transovarienne de l'agent pathogène (Simser et al ; 2001).

Les relations phylogéniques des symbiontes avec les agents pathogènes auxquels ils sont apparentés restent à définir. Les symbiontes et les agents pathogènes descendraient d'un ancêtre commun qui aurait évolué en deux lignées : la lignée endosymbiotique, « spécialiste », complètement adaptée à l'environnement interne de la tique et la lignée pathogène, « généraliste », capable d'infecter et de coloniser à la fois les tiques et leurs hôtes. (Noda et al ; 1997). Selon cette hypothèse, le potentiel d'émergence ou de réémergence en tant que pathogènes de ces endosymbiontes reste à évaluer (Noda et al ; 1997, Weller et al ; 1998).

Tableau 04 : Principaux symbiontes identifiés par la biologie moléculaire ou isolés de tiques dures

Tiques	Symbionte identifié et Affiliation phylogénétique		Référence
<i>Ixodes scapularis</i>	<i>Rickettsia sp</i>	Alphaproteobacteria Spotted Fever Group <i>Rickettsia</i>	Noda et al ; 1997
<i>Ixodes scapularis</i>	?	Cytophaga- Flavobacterium- bacteroides ?	Kurtti et al ; 1996
<i>Dermacentor andersoni</i>	<i>Rickettsia peacockii</i>	Alphaproteobacteria Spotted Fever Group <i>Rickettsia</i>	Simser et al ; 2001
<i>Amblyomma americanum</i>	<i>Rickettsia sp.</i>	Alphaproteobacteria Spotted Fever Group <i>Rickettsia</i>	Weller et al ; 1998
<i>Ixodes ricinus</i>	<i>IRicES1</i>	Alphaproteobacteria <i>Rickettsiales</i>	Beninati et al ; 2004
<i>Dermacentor andersoni</i>	<i>Francisella sp.</i>	Alphaproteobacteria <i>Rickettsiales</i>	Niebylski et al ; 1997
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>Coxiella sp.</i>	Gammaproteobacteria <i>Coxiellaceae</i>	Noda et al ; 1997
<i>Haemaphysalis longicornis</i>	<i>Coxiella sp.</i>	Gammaproteobacteria <i>Coxiellaceae</i>	Noda et al ; 1997
<i>Ixodes woodi</i>	<i>Rickettsiella sp.</i>	Gammaproteobacteria <i>Coxiellaceae</i>	Kurtti et al ; 2001

II.2.Principales bactéries pathogènes transmises par les tiques :

Les bactéries pathogènes transmises par les tiques appartiennent majoritairement à deux groupes d'eue bactéries, les spirochètes et les protéobactéries (Halos, 2005).

Tableau 05 : Position phylogénétiques des principales bactéries associées aux tiques

Groupe	Sous-Groupe	Ordre	Famille	Genre
<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rickettsiales</i>	<i>Anaplasmataceae</i>	<i>Neorickettsia</i> <i>Aegyptionella</i> <i>Ehrlichia</i> <i>Anaplasma</i>
			<i>Rickettsiaceae</i>	<i>Rickettsia</i> <i>Wolbachia</i>
		<i>Rhizobiales</i>	<i>Bartonellaceae</i>	<i>Bartonella</i>
	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pasteurellales</i>	<i>Francisellaceae</i>	<i>Francisella</i> <i>Wolbachia</i> <i>percia</i>
			<i>Legionellales</i>	<i>Coxiellaceae</i>
<i>Spirochaete</i>		<i>Spirochaetales</i>	<i>Spirochaetaceae</i>	<i>Borrelia</i>

Il faut noter que les alpha-protéobactéries transmises par les tiques ont toutes appartenue au genre *Rickettsia* à un moment ou à un autre de leur description. Ceci conduit à un certain flou dans les dominations des maladies induites par ces bactéries.

II.2.1. Agents pathogènes transmis par les tiques:

* **Spirochaete : *Borrelia sp.***

Voir (ANNEXE I)

a)- Éléments de bactériologie :

Les *Borrelia* sont des bactéries spiralées, Gram négatif, qui, parmi les spirochètes, ont la particularité d'avoir un cycle de développement requérant à la fois des hôtes mammifères et arthropodes.

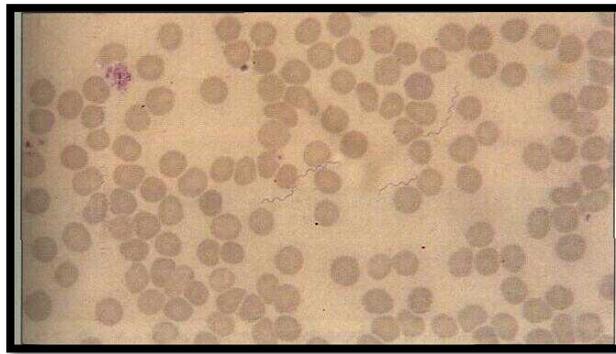


Figure 13 : Coloration de Giemsa de *Borrelia recurrentis* dans le sang d'un patient atteint de fièvre récurrente (Hart et Shears, 1997).

Il existe deux groupes de *Borrelia* : Le complexe d'espèce *Borrelia burgdorferi sensu lato (s.l)* dont les membres sont transmis par les tiques dures du genre *Ixodes* et le groupe des *Borrelia* associées aux tiques molles. Nous nous intéresserons ici exclusivement aux bactéries du complexe *B. burgdorferi s.l*, dont certaines sont les agents de la maladie de Lyme.

Quatre espèces du complexe d'espèces *Borrelia burgdorferi s.l* ont un pouvoir pathogène reconnu (*Borrelia burgdorferi sensu stricto (s.s)*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii* et *Borrelia japonica*) (Annexe II). Aux États-Unis seule *Borrelia burgdorferi s.s* est retrouvée. En Europe on retrouve *Borrelia burgdorferi s.s*, *Borrelia afzelii* et *Borrelia garinii* et deux autres espèces *B. valaisiana* et *B. lusitaniae*.

b)-Éléments d'épidémiologie :

⇨ **Vecteurs et réservoirs :**

En Europe, *Ixodes ricinus* est l'espèce majeure impliquée dans la transmission des *Borrelia sp.* La bactérie a été isolée chez d'autres genres de tiques comme *Dermacentor sp.* Et chez d'autres arthropodes (*Ctenocephalides felis*), mais ils ne sont sans doute pas impliqués dans la transmission (Euzéby, 1989 ; Hubalek et Halouzka, 1997).

Chez leur vecteur, les *Borrelia sp.* subissent un grand nombre de modifications à la fois quantitatives et qualitatives qui conditionnent la transmission des bactéries à l'hôte mammifère. Quand une larve ou une nymphe ingère des *Borrelia*, les spirochètes sont d'abord localisées dans l'intestin où elles se multiplient activement jusqu'à la mue de la tique. Le nombre de spirochètes décroît ensuite et les individus à l'affût sont faiblement infectés (Schwan et Piesman, 2002). Une fois la tique infectée fixée sur un nouvel hôte, les spirochètes se multiplient à nouveau rapidement dans la lumière de l'intestin moyen, où a lieu une modification d'expression de leurs protéines membranaires (expression d'OspA au détriment d'OspC) (Piesman et al., 2003). Les spirochètes migrent ensuite dans l'hémocoel de la tique jusqu'aux glandes salivaires d'où elles peuvent être transmises à l'hôte. Ce cycle nécessite environ deux à trois jours, c'est pourquoi le risque de transmission est très faible avant 48 heures de fixation (Stanek et Steere, 2003). La transmission de la bactérie chez le vecteur se fait essentiellement de manière transtadiale (Figure 14). La transmission transovarienne existe mais reste anecdotique. Moins de 5 % des larves issues d'une femelle infectée sont porteuses de *Borrelia burgdorferi* (Bellet-Edimo, 1997).

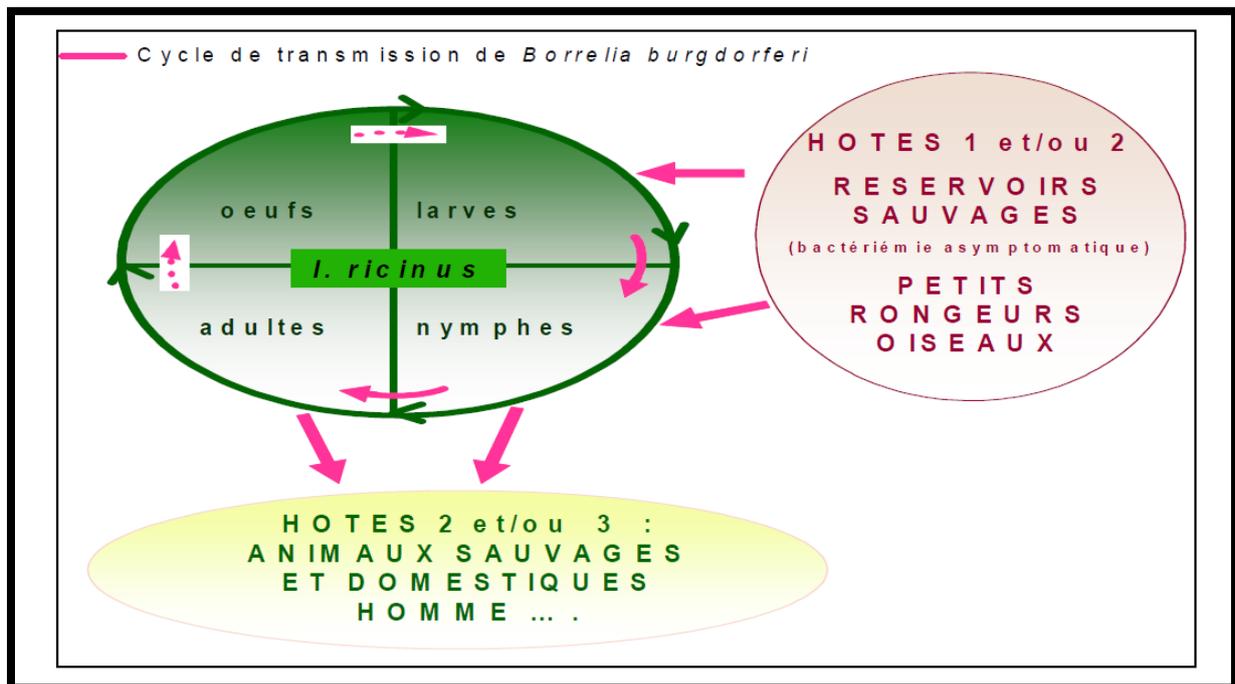


Figure 14 : Cycle de transmission de *Borrelia burgdorferi*

⇒ **Répartition géographique :**

La distribution de *B. burgdorferi* recouvre la zone tempérée de l'hémisphère Nord et comprend la majeure partie de l'Eurasie et des États Unis, zones d'endémie de la maladie. Tous les pays d'Europe du Nord sont touchés de manières variables selon les régions et avec de grandes différences de risque à l'intérieur d'une même zone (**Stanek et Steere , 2003**).

c)-Importance :

La maladie de Lyme est la première maladie à vecteur de l'hémisphère Nord. Sa prévalence, tant chez l'Homme que chez l'Animal reste mal connue et l'incidence en très forte augmentation depuis une dizaine d'années serait en partie due à l'amélioration des connaissances à son sujet.

Chez l'Homme, selon les statistiques du CDC (Center for Disease Control and prévention, Atlanta), l'incidence annuelle de la maladie atteint 5,1 cas pour 100.000 personnes par an aux Etats-Unis et une prévalence de 1.070.000 cas sur la période 1925- 2000 soit 2% de la population américaine. Ce chiffre serait applicable à l'ensemble du globe (**Harvey et Salvato ; 2003**).

⇒ **Manifestations cliniques : la maladie de Lyme :**

Chez l'Homme, la maladie de Lyme évolue en général en trois phases bien définies.

- La première de ces phases correspond aux manifestations cutanées précoces localisées au point d'inoculation du germe. Le marqueur clinique de cette phase, considéré comme pathognomonique, est l'érythème migrant.
- La seconde phase peut survenir de quelques semaines à quelques mois après l'infection avec des manifestations cutanées, nerveuses, articulaires ou cardiaques. Les manifestations les plus courantes en Europe sont de type neurologique.
- Les manifestations de la phase tertiaire sont les mêmes qu'en phase secondaire mais chroniques et peuvent survenir des mois après l'inoculation (**Parola et Raoult, 2001**).

Les divers aspects pris par la maladie seraient à mettre en relation avec les espèces en cause : *B. burgdorferi s.s* serait plutôt impliquée dans les affections articulaires et cutanées, *B. garinii* entraînerait des manifestations neurologiques et *B. afzelii* serait en cause lors de symptômes cutanés tardifs (acrodermatites chroniques atrophiantes).

La borréliose de Lyme a été décrite chez le chien, le chat, le cheval, les bovins et les petits ruminants. Les animaux développent un tableau clinique frustré, varié et non spécifique, dominé par de la fièvre, de l'asthénie, de l'anorexie et des boiteries. Les trois stades de la

maladie décrits chez l'homme ne sont pas retrouvés et de nombreux animaux restent asymptomatiques malgré des titres sérologiques élevés (Euzéby, 1989).

Alphaprotéobactéries : *Rickettsia* sp. du groupe boutonneux

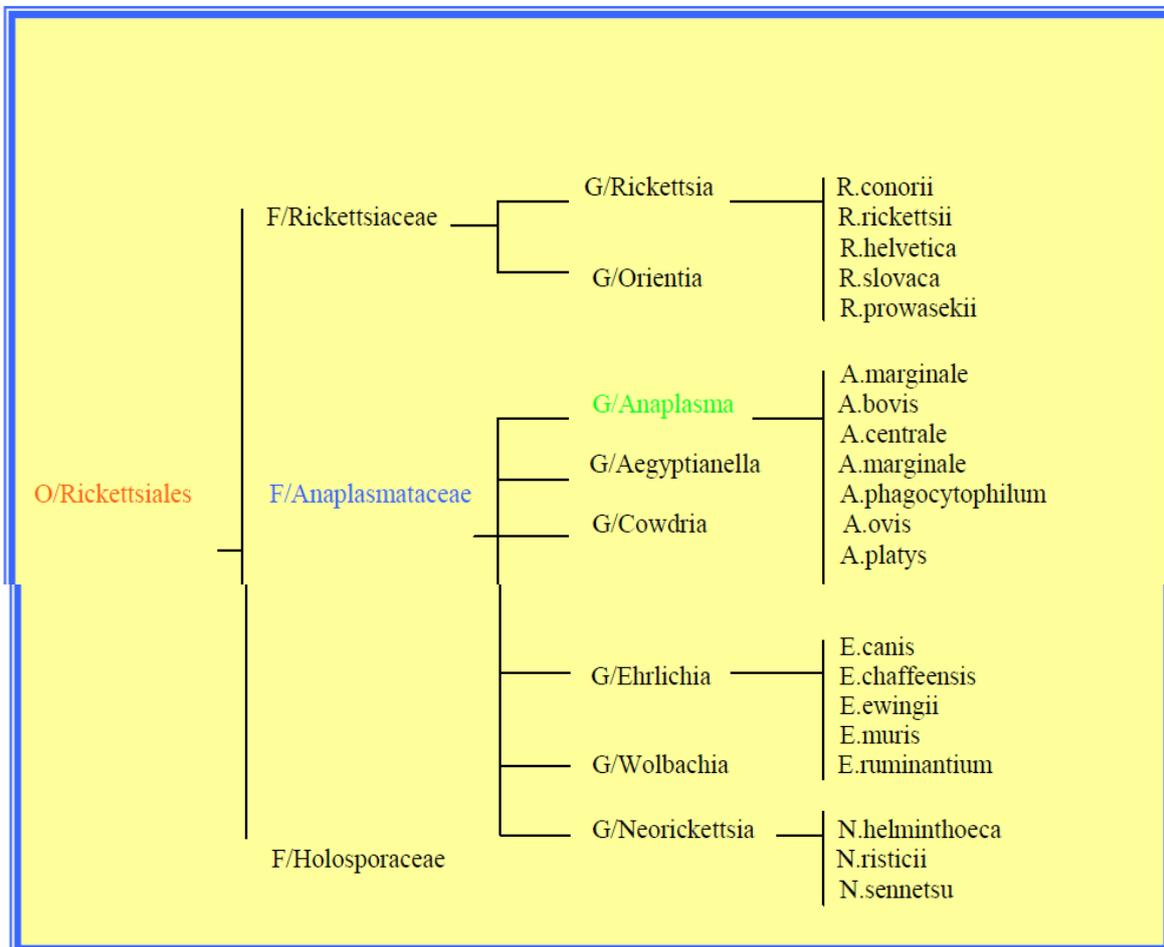


Figure 15 : Nouvelle classification des bactéries de l'ordre des Rickettsiales (Bergey, 2003).

a)-Éléments de bactériologie :

Le genre *Rickettsia* (da Rocha-Lima, 1916) rassemble de courts bacilles à Gram négatif, intracellulaires obligatoires qui se multiplient dans le cytoplasme ou parfois dans le noyau des cellules de certains vertébrés et de certains arthropodes (Raoult et Roux, 1997). Le genre *Rickettsia* a connu de nombreux remaniements au cours du XXème siècle et à l'heure actuelle, il n'existe pas de réel consensus sur la notion d'espèce au sein de ce genre.

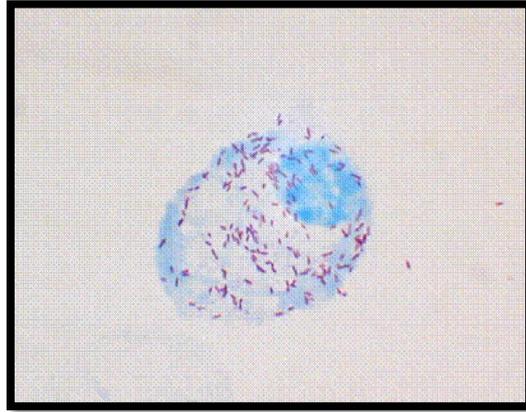


Figure 16 : *Rickettsia conorii* à l'intérieur d'une cellule endothéliale humaine. Coloration de Gimenez (**Raoult et Renvoisé, 2008**).

Sur la base de caractères phénotypiques, les espèces du genre *Rickettsia* sont classiquement séparées en deux groupes : Les espèces du groupe typhus ont une localisation exclusivement intracytoplasmique et ont des insectes pour habitat et/ou vecteurs. Les espèces du groupe boutonneux sont localisées dans le cytoplasme et le noyau des cellules infectées et ont pour habitat et/ou vecteurs des acariens (Tableau 06) (**Raoult et Renvoisé, 2008**).

Les études génomiques montrent que les espèces du groupe boutonneux possèdent le gène rOmpA alors que celui-ci est absent ou non exprimé chez les espèces du groupe typhus. De plus, sur critère génomique, des espèces au phénotype moins caractéristique ont été classées dans des groupes apparentés au groupe boutonneux (par exemple *R. helvetica*, *R. australis*, *R. acari* et *R. felis*) (**Euzéby, 2005**).

Dans cette étude nous nous intéresserons exclusivement aux *Rickettsia* du groupe «boutonneux », appelée aussi SFG *Rickettsia* sp. d'après le terme anglais « Spotted Fever Group ».

En tant que bactéries strictement intracellulaires, la culture des *Rickettsia* sur milieu inerte n'est pas possible. En revanche, la plupart des espèces poussent en cultures cellulaires (**Raoult et Roux, 1997**).

b)-Eléments d'épidémiologie :

⇨ Vecteurs et Réservoirs des *Rickettsia* du groupe boutonneux :

Les *Rickettsia* se maintiennent dans les populations de tiques à la fois par transmission transtadiale et par transmission transovarienne. Ainsi, la tique joue à la fois le rôle de vecteur et de réservoir de la bactérie. Les *Rickettsia* se multiplient dans pratiquement tous les organes de leur hôte invertébré y compris les ovaires et les oocytes chez la femelle, ce qui explique la transmission trans-ovarienne. Le taux d'œufs infectés par femelle de la même espèce de tique

infectée par la même souche de *Rickettsia* varie sous l'influence de facteurs encore inconnus (**Raoult et Roux, 1997**). Chaque espèce étant étroitement liée à son vecteur, l'identification de la tique revêt aussi une très grande importance. De nombreux animaux, oiseaux et mammifères sont sensibles à l'infection par les *Rickettsia* du groupe boutonneux mais leur rôle de réservoir potentiel dans le maintien de zones d'endémie demeure inconnu (**Raoult et Roux, 1997**).

⇒ **Répartition géographique :**

Le lien étroit entre la bactérie et son vecteur fait que la distribution géographique des Rickettsioses transmises par les tiques épouse celle des tiques (**Brouqui et al, 2004**). La distribution des SFG *Rickettsia sp.* est mondiale, chaque espèce ayant une répartition géographique propre.

c)-Importance :

L'importance des Rickettsioses, comme celle de la plupart des maladies à tiques, reste mal connue et parcellaire. Des données ponctuelles provenant des campagnes d'épidémiologie surveillance permettent d'avoir un aperçu de l'importance de ces maladies. Dans le sud de la France, jusqu'à 12% des *Rhipicephalus sanguineus* sont porteuses de *Rickettsia conorii*. Ces tiques, bien adaptées à l'environnement urbain, ne se nourrissent que très rarement sur les Hommes auxquels elles préfèrent les chiens. L'incidence de la fièvre boutonneuse méditerranéenne chez l'Homme est relativement basse dans cette région (**Raoult et Roux ; 1997**).

En Europe de l'Ouest la détection de *Rickettsia helvetica* dans des tiques *Ixodes ricinus* donnent des taux de portage compris entre 2% et 9% (**Parola et al., 1998a, Beninati et al., 2002, Nielsen et al., 2004, Hartelt et al., 2004**).

Aux Etats-Unis, dans les états de Caroline du Nord et du Sud, les tiques *Dermacentor variabilis* ont un taux de portage de *Rickettsia rickettsi* de seulement 0,5 % mais ces tiques se nourrissent fréquemment sur les Hommes et la fièvre boutonneuse des montagnes Rocheuses est commune dans cette zone. Ainsi entre 1981 et 1992, le CDC a répertorié 9223 cas de fièvre des Montagnes rocheuses (**Dalton et al., 1995**).

⇒ **Manifestations cliniques :**

Lors de transmission à l'Homme ou à l'hôte mammifère, les *Rickettsia* pathogènes se multiplient à leur point d'inoculation pour donner un escharre suivi de vascularite, d'inflammation péri-vasculaire et de thrombose et éventuellement d'atteintes viscérales (**Brouqui et al., 2004**). Les Rickettsioses se manifestent aussi par une fièvre importante

(> 39 °C), des myalgies, arthralgies, et céphalées. Les deux Rickettsioses historiquement les plus connues sont la fièvre pourprée des montagnes rocheuses à *Rickettsia rickettsi* principalement transmise par *Dermacentor sp.* sur le continent Américain et la fièvre boutonneuse méditerranéenne sur le pourtour de la Méditerranée, qui jusqu'à très récemment, était considérée comme la seule rickettsiose prévalente en Europe. Cette maladie est causée par *R. conorii* et est transmise par la tique *R. sanguineus* (Brouqui et al., 2004). Depuis dix ans, cinq nouvelles Rickettsioses transmises par les tiques ont été décrites en Europe. Parmi ces Rickettsioses, une infection à *R. mongolotimonae* transmise par *Hyalomma asiaticum*, vraisemblablement importé par un oiseau migrateur a été décrite dans le sud de la France (Fournier et al., 2000b). Une infection appelée TIBOLA (tick-borne-Lymphadénopathie) à *R. slovaca* transmise par la tique *Dermacentor variabilis* a été décrite pour la première fois chez un patient en 1980 et est maintenant reconnue dans toute l'Europe (Mittermayer et al., 1980, Lakos., 2002, Raoult et al., 2002). *R. helvetica* est transmise par *Ixodes ricinus* dans toute l'Europe et est responsable de fièvre et pouvant conduire à la mort (Nilsson et al., 1999 a et b, Fournier et al., 2000a).

Tableau 06 : Répartition, vecteurs et pouvoir pathogène des différentes espèces de Rickettsia du groupe boutonneux (Euzéby, 2005 ., Parola et Raoult, 2001).

Bactérie	Vecteur	Maladie induite	Répartition Géographique
<i>R. aeschlimannii</i>	<i>Hyalomma marginatum</i>	???	Maroc
<i>R. africae</i>	<i>Amblyomma variegatum</i> <i>Amblyomma hebraeum</i>	Fièvre à tique africaine	Afrique subsaharienne
<i>R. amblyommi</i>	<i>Amblyomma americanum</i>	???	U.S.A.
<i>R. australis</i>	<i>Ixodes holocyclus</i>	Fièvre à tique du Queensland	Queensland
<i>R. bellii</i>	<i>Dermacentor variabilis</i> , <i>Dermacentor sp.</i> , <i>Ornithodoros concanensis</i> , <i>Argas cooleyi</i> <i>Haemaphysalis leporipalustris</i>	???	U.S.A.
<i>R. conorii</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fièvre Boutonneuse Méditerranéenne	Pourtour méditerranéen, France, Afrique, Inde, Géorgie
<i>R. heilongjiangii</i>	<i>Dermacentor silvarum</i>	???	Chine
<i>R. helvetica</i>	<i>Ixodes ricinus</i>	Fièvre, péricardite, mort subite	Europe : France, Suisse, Suède
<i>R. honei</i>	???? (Îles Flinders) <i>Ixodes granulatus</i> (Thaïlande)	Fièvre boutonneuse des îles Flinders	- Îles Flinders (Australie), - Thaïlande
<i>R. hulinii</i>	<i>Haemaphysalis concinna</i>	???	Chine
<i>R. japonica</i>	Diverses espèces du genre <i>Haemaphysalis</i> <i>Dermacentor taiwanensis</i> , <i>Ixodes ovatus</i>	Fièvre boutonneuse orientale	Japon
<i>R. massiliae</i>	<i>Rhipicephalus turanicus</i> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	???	France, Grèce, Espagne, Portugal, Centrafrique
<i>R. mongolotimonae</i>	<i>Hyalomma asiaticum</i> Autres espèces inconnues	Fièvre boutonneuse	Mongolie, France
<i>R. montanensis</i>	<i>Dermacentor variabilis</i> , <i>Dermacentor andersoni</i>	???	U.S.A.
<i>R. parkeri</i>	<i>Amblyomma maculatum</i>	???	U.S.A.
<i>R. peacockii</i>	<i>Dermacentor andersoni</i>	???	U.S.A.

<i>R. rhipicephali</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> , <i>Dermacentor andersoni</i>	???	U.S.A., France, Portugal, République Centrafricaine
<i>R. rickettsii</i>	<i>Dermacentor andersoni</i> , <i>Dermacentor variabilis</i> , <i>Amblyomma canjennense</i> ,	Fièvre pourprée des Montagnes rocheuses	Amérique
<i>R. sibirica</i>	<i>Dermacentor nuttallii</i> , <i>Dermacentor marginatus</i> , <i>Haemaphysalis concinna</i>	Typhus à tique de Sibérie, typhus à tique d'Asie du Nord	Sibérie, Pakistan, Chine du Nord, Mongolie
<i>R. slovacca</i>	<i>Dermacentor marginatus</i>	TIBOLA : Fièvre avec escarres au niveau de la tête	Europe : notamment France, Suisse, Portugal, Russie, Slovaquie, Hongrie
<i>R. thailandii</i>	<i>Ixodes granulatus</i>	???	Thaïlande
<i>R. texiana</i>	<i>Amblyomma americanum</i>	???	U.S.A.
<i>Rickettsia sp.</i> (AB bacterium)	<i>Adalia bipunctata</i>	???	Royaume-Uni, Russie
<i>Rickettsia sp.</i> (Astrakhan Fever)	<i>Rhipicephalus pumilio</i>	Fièvre d'Astrakan	Russie
<i>Rickettsia sp.</i> (génotype RpA4)	<i>Rhipicephalus pumilio</i>	???	Russie
<i>Rickettsia sp.</i> (génotype Cooleyii)	<i>Ixodes scapularis</i>	???	Texas
<i>Rickettsia sp.</i> (génotypes DnS14 et DnS28)	<i>Dermacentor nutallii</i>	???	Russie
<i>Rickettsia sp.</i> (Israeli tick typhus rickettsia)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Fièvre boutonneuse d'Israël	Israël
<i>Rickettsia sp.</i> (souches Bar 29, JC880 et S)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	???	Espagne (bar 29) Pakistan (JC880) Arménie (S)
<i>Rickettsia sp.</i> (Pea aphid rickettsia)	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	???	U.S.A.
<i>Rickettsia sp.</i> (souche BJ-90)	<i>Dermacentor sinicus</i>	???	Chine
<i>Rickettsia sp.</i> (Thai tick typhus rickettsia)	<i>Ixodes sp.</i> ou <i>Rhipicephalus sp.</i>	???	Thaïlande

Anaplasmataceae : *Anaplasma sp.*

a)-Éléments de bactériologie :

Les *Anaplasma* sont de petites bactéries à Gram négatif partageant avec les *Ehrlichia* la caractéristique d'être présentes dans des vacuoles intracytoplasmiques, soit de manière isolée, soit regroupées dans des morulas.

Les cellules infectées par *Anaplasma sp.* sont les cellules matures ou immatures du système hématopoïétique notamment des globules rouges, des plaquettes, des granulocytes neutrophiles, des monocytes ou des macrophages.

La description phénotypique du genre *Anaplasma* est très proche de celle du genre *Ehrlichia*. Les différences sont liées au spectre d'hôtes et de cellules infectés.

Classiquement, le genre *Anaplasma* (**Theiler, 1910**) regroupait quatre espèces (*Anaplasma caudatum*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma marginale* et *Anaplasma ovis*), transmises par des arthropodes vecteurs (tiques) et aptes à infecter les globules rouges des ruminants.

La réorganisation de l'ordre des *Rickettsiales* (**Dumler et al ., 2001**) a conduit à inclure dans le genre *Anaplasma* des espèces appartenant préalablement au genre *Ehrlichia* : *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* et l'agent apparenté de l'Ehrlichiose Granulocytaire Humaine, ont été regroupés en une seule espèce, *Anaplasma phagocytophilum*. Deux espèces dépourvues de statut dans la nomenclature, "*Ehrlichia bovis*", "*Ehrlichia platys*" sont devenus respectivement *Anaplasma bovis* et *Anaplasma platys*. Cependant, sur la base d'études génomiques (Citratesynthase) et de critères phénotypique (infection des granulocytes en non des globules rouges) *Anaplasma phagocytophilum* pourrait être considéré comme un genre à part (**Inokuma et al ; 2001**).

b)-Éléments d'épidémiologie

⇨ **Vecteurs et réservoirs :**

Les vecteurs varient suivant l'espèce d'*Anaplasma* (tableaux 8a et 8b). Il s'agit principalement d'Ixodidés même si une transmission mécanique par les Tabanidés est possible pour *A. marginale*, *A. centrale*, *A. caudatum* et *A. ovis* (**Barbet, 1995**).

-De nombreuses espèces de tiques peuvent intervenir dans la transmission d'*A. marginale*, *A. centrale*, *A. caudatum* et *A. ovis*, notamment *Dermacentor andersoni*, *Boophilus annulatus* et, en France, *I. ricinus*, *R. bursa* et *R. sanguineus*. Aucune étude n'a pu démontrer l'existence d'une transmission transovarienne (**Kocan et al., 1981, Stich et al .,**

1989). Les mammifères infectés latents constituent également un réservoir de l'infection (Stiller et Coan, 1995).

-Le vecteur d'*Anaplasma platys* est la tique *R. sanguineus*. Ce rôle de vecteur n'a jamais pu être démontré expérimentalement (Simpson et al., 1991) mais l'épidémiologie de l'affection, la fréquence des co-infections *A. platys/E. canis* et la mise en évidence d'ADN de *A. platys* dans des extraits de *R. sanguineus* (Inokuma et al., 2000, Sanogo et al., 2003a) sont autant d'éléments en faveur de la transmission de *A. platys* par cette tique.

-*Anaplasma phagocytophilum* est transmise aux mammifères sains par des tiques du genre *Ixodes* notamment, *Ixodes scapularis* et *Ixodes pacificus* aux U.S.A. et *Ixodes ricinus* en Europe. Chez les tiques, il n'existe pas de transmission transovarienne. L'infection des tiques nécessite un repas sanguin qui doit durer au minimum 24 heures. *A. phagocytophilum* se multiplie chez les tiques contaminées, notamment au moment de la mue larvaire, et lors de l'engorgement de la tique aux stades larvaire, nymphal et adulte. Chez les tiques infectées, *A. phagocytophilum* est localisé principalement dans les glandes salivaires (Euzéby, 2005). Aux Etats-Unis, le réservoir supposé d'*A. phagocytophilum* (biovar HGE) est constitué des petits mammifères sylvoles, en particulier la souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*). Le cerf est également suspecté. En Europe, en revanche, le réservoir est inconnu (Parola et Raoult, 2001). Les rongeurs sont peu infectés (Liz et al., 2000). Il semble que le chevreuil pourrait intervenir en France (Joncour et Collin, communication orale, 2003), ce que confirme une étude, à la fois sérologiques et moléculaires, menée en Suisse qui montre des taux d'infection élevés chez ce dernier (Liz et al., 2002).

⇒ Répartition géographique

Les *Anaplasma* ont une répartition mondiale avec des zones d'endémie spécifique d'espèces (Voir Annexe III).

c)-Importance et Manifestations cliniques :

Historiquement, les *Anaplasma sp.* sont les agents étiologiques de maladies infectieuses des ruminants uniquement. L'élargissement du genre en fait maintenant les agents de maladies touchants, en plus de nombreuses classes de mammifères : humains, carnivores, équidés et rongeurs. Les manifestations cliniques rencontrées pour les différentes classes de mammifères sont résumées dans le tableau 09.

Chez l'Homme, *Anaplasma phagocytophilum* a été récemment décrit comme l'agent responsable d'une affection décrite essentiellement dans l'hémisphère Nord et appelée EGH pour Ehrlichiose Granulocytaire Humaine (**Blanco et Oteo, 2002**).

Parasites : *Babesia sp.*

a)-Éléments de Bactériologie :

Les *Babesia* sont des protozoaires appartenant à l'embranchement des *Apicomplexa*, à la classe des *sporozoea*, à l'ordre des *Haemosporida* et à la famille des *Piroplasmidae* (ou *Babesiidae*).

La *Babesia sp.* a un diamètre inférieur au rayon de l'hématie. Chez le bovin on peut l'observer sur un étalement sanguin coloré au May-Grunewald Giemsa (**Bourdoiseau et L'hostis, 1995 ; Euzéby, 1980**). On observe alors de petits éléments bleu foncé généralement à la périphérie de l'hématie, contre la membrane plasmique.

Ils contiennent un noyau rouge sombre peu visible et une vacuole centrale. Sur ces étalements *Babesia sp.* prends plusieurs formes représentées sur la Figure 17 :

- Forme annulaire (circulaire ou ovoïde) de 1µm de diamètre, uni ou binucléé ; c'est la forme la plus fréquente.
- Forme bourgeonnante (en division).
- Forme en paire de 1 à 2 µm de long. Les éléments piriformes peuvent être uniques ou géminés, uni ou binucléées, selon leur stade évolutif. Lorsqu'ils sont géminés ils forment un angle obtus donnant son nom.

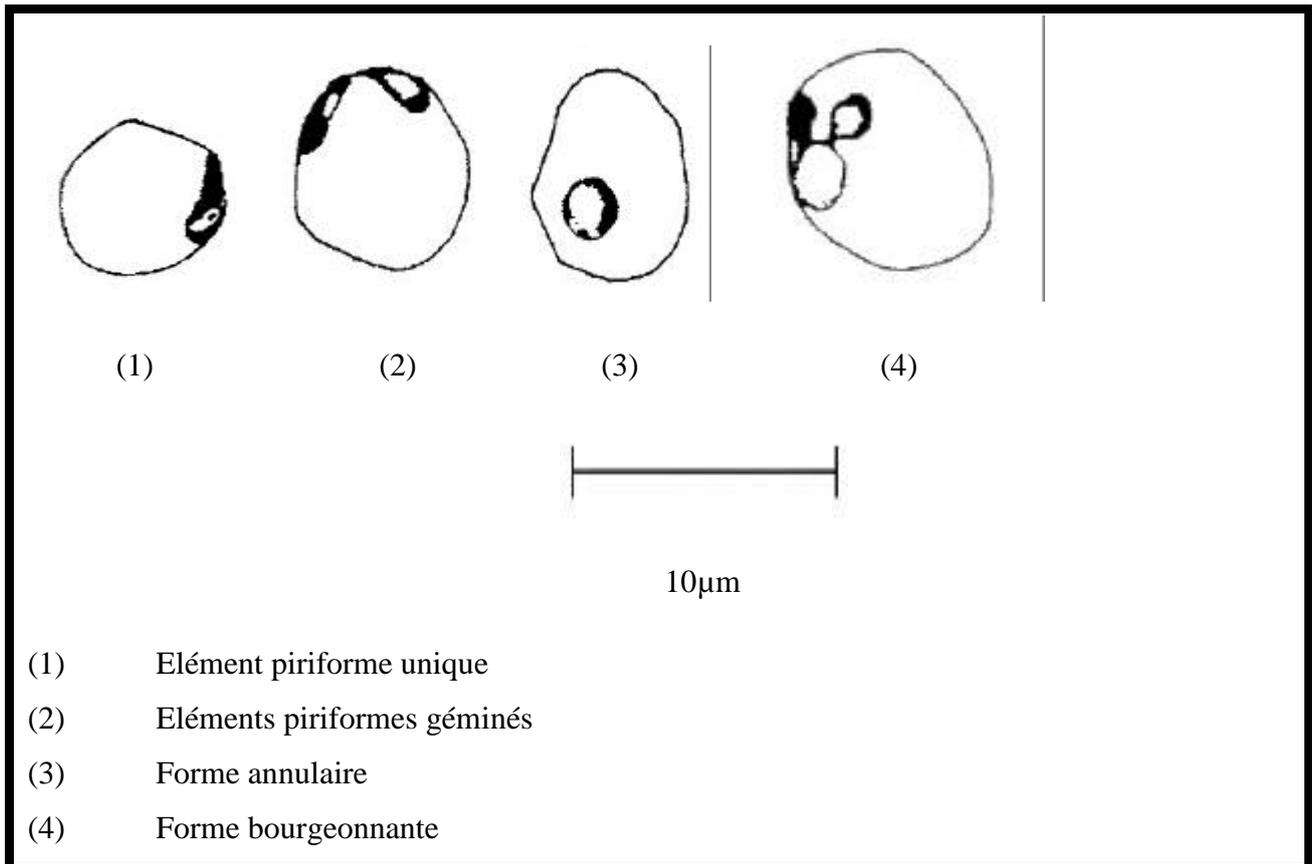


Figure 17 : Les différentes formes morphologiques de *Babesia divergens* à l'intérieur des hématies des bovins (Bourdoiseau et L'hostis, 1995).

b)-Éléments d'épidémiologie :

⇒ Vecteurs et réservoirs :

Le cycle de *Babesia sp.* est un cycle dixéne c'est-à-dire qu'il fait intervenir deux hôtes.

-Un hôte définitif : la tique chez qui a lieu la reproduction sexuée (gamogonie) et une multiplication sexuée (sporogonie).

-Un hôte intermédiaire qui sera un bovin où aura lieu la multiplication asexuée (mérogonie).

c)-Importance :

Le premier cas humain mortel de Babésiose a été décrit en 1957 en Yougoslavie, chez un fermier d'une trentaine d'année ayant subi une splénectomie onze ans plus-tôt. La maladie a été attribuée à *B.divergens* (Frédric, 2005).

Entre 1968 et 1993, plus de quatre cent cinquante cas ont été confirmés aux États-Unis. Ces infections ont été rapportées dans de nombreux états mais les zones les plus endémiques sont les îles du Massachussets (Nantucket avec 160 cas entre 1969 et 1998) et New York avec 136 cas entre 1970 et 1991 (**Rhodes Island**) (**Homer et al ., 2000 ; Mylonakis, 2001**). D'autres foyers d'endémie ont été identifiés dans les Etats du Connecticut, du Wisconsin et du Minnesota.

Dans ces zones, les infections humaines asymptomatiques semblent être courantes. Aux Etats-Unis l'agent le plus courant de Babésiose humaine est *B.microti* (appelée aussi Babesia murine).

Le premier cas a été décrit sur l'île de Nantucket donnant ainsi son nom à infection « Nantucket Fever » (**Vannier et Kraus, 2009**). Cependant, en Amérique du nord, la Babésiose humaine est considéré comme une zoonose émergente avec une mortalité avoisinante les 5% (**Zintl et al., 2003**).

Ces dernières années, des cas humains d'infection par des parasites très proches morphologiquement et génétiquement de *Babesia divergens* dits (*Babesia divergens like*) ont été décrits.

Quelques cas ont été également décrits en Chine, Taiwan, Egypte, Afrique du Sud et Mexico.

⇒ **Manifestations cliniques :**

Les manifestations de la Babésiose humaine sont dues à l'étape de reproduction asexuée du parasite dans les globules rouges de l'hôte.

La sévérité de la Babésiose humaine varie en fonction de l'état immunitaire de l'hôte et de l'espèce de *Babesia sp* incriminée (**Homer et al ., 2000**).

L'apparition des symptômes se fait en générale entre une et trois semaines après la morsure infectante par la tique. Pendant cette période d'incubation, les malades se plaignent d'une faiblesse et d'un états de malaise générale (**Homer et al ., 2000 ; Zintl et al ., 2003**).

La maladie aiguë apparait brutalement avec une hémoglobinurie avec émission d'urines foncées puis une jaunisse due à une hémolyse sévère (**Homer et al ., 2000 ; Mylonakis ,2001**).

L'anémie qui résulte de cette hémolyse est souvent importante avec une hémoglobine abaissée à 7-8g/100 ml voire jusqu'à 4g /100 ml dans certains cas les plus graves (les normales sont situées entre 13 et 18g/100 ml) (**Zintl et al ., 2003**) .

Les autres symptômes aigus (Tableau n°10) peuvent souvent être décrits comme une infection fulminante de Malaria :

*très forte fièvre ($\geq 40^{\circ}\text{C}$) accompagnée de sueurs et frissons intenses.

*myalgies, douleurs lombaires et abdominales.

*atteintes du système nerveux centrale avec maux de tête, photophobie, baisse de la sensibilité, raideur du cou et du dos.

Des vomissements, nausées et diarrhées peuvent également apparaître. De même, le foie peut grossir et devenir douloureux. (**Homer et al ., 2000 ; Zintl et al ., 2000**).

La similitude entre les symptômes du paludisme et de la Babésiose humaine explique la confusion de diagnostic dans les zones d'endémie palustre.

Tableau 07: signes de présentation et symptômes de Babésiose humaine.

Symptômes de Babésiose humaine
-faiblesse générale
- fièvre
- symptômes gastro-intestinaux (anorexie, nausées, douleurs abdominales, vomissements, diarrhées, etc.)
- maux de tête
- myalgie
- perte de poids
- arthralgie
- symptômes respiratoires (toux, souffle court, etc.)
- urines foncées

La maladie peut ensuite se compliquer avec une insuffisance rénale, ainsi qu'un syndrome de détresse respiratoire dû à l'apparition d'un œdème pulmonaire (**Mylonakis, 2001**).

Par la suite, une insuffisance cardiaque congestive peut se mettre en place. La liste des éventuelles complications est visible dans le Tableau n°11.

Tableau 08: complications de la Babésiose humaine (Mylonakis, 2000)

Complications courantes de la Babésiose humaine
- syndrome de détresse respiratoire aigu
- anémie nécessitant une transfusion
- insuffisance cardiaque congestive
- coagulation intra vasculaire disséminée
- hypotension
- infarctus du myocarde
- insuffisance rénale

Ces graves manifestations cliniques sont dues à l'étape de reproduction asexuée de l'organisme dans les globules rouges de l'hôte et donc de la lyse des cellules qui en résulte. C'est pourquoi, le taux de parasitémie dans le sang influe sur l'état clinique de l'hôte. (Homer et al., 2000).

Ces signes cliniques se manifestent essentiellement dans le cas d'une atteinte par une *Babesia* d'origine bovine, chez des individus splénectomisés. Le pronostic de cette maladie, fulminante, est sévère. La mort en résulte la plupart du temps suite aux complications. (Frustin et al., 1994).

II.2.Co-infections par plusieurs agents pathogènes chez les tiques et leurs hôtes :

Certaines espèces de tiques, notamment celles du genre *Ixodes sp.* sont les vecteurs de plusieurs bactéries pathogènes. Par exemple, *Ixodes scapularis* est, aux Etats-Unis, à la fois le vecteur de *B.burgdorferi sensu lato* et d'*Anaplasma phagocytophilum* et peut également transmettre *Babesia microti*. En Europe, *Ixodes ricinus* peut transmettre également *B.burgdorferi s.l* et *A.phagocytophilum* mais aussi certaines espèces de *Rickettsia* du groupe boutonneux ainsi que *Babesia microti* et *Babesia divergens* (Bussieras et Chermette, 1991 ; Belongia, 2002 ; Levin et Fich, 2000).

Une tique peut être infectée par plusieurs agents pathogènes en même temps (Schwarz et al., 1997a, Leutenegger et al., 1999, Levin et Fich ;2000, Belongia ;2002, Skotarczak

et al., 2002, Adelson et al., 2004). *B.burgdorferi s.s* et *Anaplasma phagocytophilum* ont ainsi été détectés simultanément dans 2% d'une cohorte de tiques collectées en Suisse (**Leutenegger et al ., 1999**) et 5,5% des nymphes d'*I.scapularis* collectées aux Etats-Unis dans la région de New York (**Schwarz et al ., 1997a**). Une étude récente menée sur des tiques *Ixodes scapularis* collectées dans le New Jersey a montré que 14% des tiques étaient porteuses d'ADN de plusieurs agents pathogènes dont *Bartonella sp.*, *Borrelia burgdorferi s.s*, *Anaplasma phagocytophilum*, et *Babesia microti* (**Adelson et al ., 2004**). La fréquence des co-infections est variable et les infections simples sont plus fréquentes que les infections multiples, mais les connaissances actuelles sur ces co-infections restent limitées (**Belongia, 2002**).

Des études expérimentales de co-infections de tiques *Ixodes scapularis* par *B.burgdorferi* et *A.phagocytophilum* ont montré que l'acquisition d'un des deux agents pathogènes par une tique est indépendante de son statut d'infection initial. Les tiques co-infectées transmettent chacun des deux agents pathogènes de manière aussi efficace que les tiques mono-infectées. Ils ne sont donc pas y avoir de relation d'exclusion ou de favoritisme entre les bactéries. Selon les auteurs, le fait que les tiques adultes sont beaucoup plus co-infectées que les nymphes suggère qu'une co-infection chez une tique provient d'avantage d'une acquisition successive des agents pathogènes au cours de repas sanguins différents plus qu'une acquisition simultanée sur un hôte co-infecté (**Levin et Fish, 2000**).

Chez l'hôte, des manifestations cliniques ou sérologiques de co-infections par plusieurs agents pathogènes transmis par les tiques sont fréquemment décrites (**Magnarelli et al., 1995 ; Mitchell et al., 1996 ; Hofmeister et al., 1998 ; Kordick et al., 1999 ; Eskow et al., 2001 ; Belongia, 2002**). Chez les patients présentant une maladie à tiques avérée, les taux de co-infection atteignent 39% aux Etats-Unis (**Belongia, 2002**). Les études cliniques montrent que les patients infectés par plusieurs agents pathogènes présentent souvent des symptômes plus sévères et moins spécifiques (**Eskow et al., 2001 ; Belongia, 2002**).

Une co-infection clinique peut résulter de deux modes de transmission distincts. Elle peut être acquise soit au cours de la morsure d'une seule tique co-infectée soit au cours de morsures concomitantes de plusieurs tiques infectées par des bactéries pathogènes différentes. La distinction est rarement faite entre ces différentes voies de transmission et l'on connaît mal les relations existant entre les différentes bactéries infectant la tique (**Belongia, 2002**).

III. Présentation de la région d'étude

III.1. Situation géographique de la région de Chréa :

Le parc national du Chréa se situe à mi-distance entre le chef-lieu des wilayas de Blida et de Médéa, selon le découpage territorial datant de 1984 par le décret n° 91- 306 du 24/08/91. En effet, le parc s'étale sur une cinquantaine de kilomètres sur le massif de l'Atlas Blidéen. Comprises entre les latitudes Nord $36^{\circ}19' / 36^{\circ}30'$, et les longitudes Est $2^{\circ}38' / 3^{\circ}02'$. Il est limité au nord par la wilaya de Blida, au sud par Médéa et à l'ouest par Ain Défla. La vue s'étale sur les talwegs des oueds Mektaa et Meurdja, l'anticlinal de Takitount allant jusqu'aux confins de l'Atlas Blidéen. Plusieurs communes sont représentées dans le parc, à commencer par celle de : Chréa, Hamdania, Ima-Hlima, Bouinan, Soumaa (**Attal, 1995**).

III.2. Situation administrative :

Le P.N.C chevauche sur le territoire de 3 wilayas: Blida au Nord Est sur une superficie de 17 857 ha soit 67,7% de la surface totale du parc, suivi par Médéa au Sud sur 8 650 ha soit 32,6 % de la surface totale et Aïn Defla à l'Ouest sur 80 ha soit 0,30 %. Constituant le deuxième plus grand parc naturel d'Algérie après celui d'El Kala dans la région d'El Taref. Seul le Parc de Chréa est entièrement intégrée dans son territoire.

III.3. Le relief

L'Atlas Blidéen est une région montagneuse de plissements Alpin dont le point Culminant atteint 1629m. Il se présente comme une barrière rocheuse à topographie très tourmentée, accentuée par un ravinement profond faisant apparaître une multitude de Talwegs dont les principaux sont ceux des oued-Chiffa, oued-Kebir, oued-Messaoud et oued- Mektaa. L'allure générale du relief de l'Atlas Blidéen forme une limite entre les influences Maritimes du nord et les influences continentales du sud (**Chekchak, 1985**).

III.4. Facteurs écologiques :

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

III.4.1. Facteurs abiotiques :

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

III.4.1.1. Caractérisation pédologique du P.N.C :

La nature du sol et l'épaisseur des horizons sont étroitement liés à la nature de la végétation et au type de roche mère. Les sols du massif de Chréa sont toujours décalcifiés même si la roche mère est calcaire. Ces sols ont une texture à tendance siliceuse, pauvre en calcaires et en matière organique due au phénomène d'érosion et à lenteur de la minéralisation de la matière organique due aux basses températures. Les pentes érodées et les sommets présentent des sols minéraux bruts ou des sols peu évolués constitués des schistes feuilletés qui se délitent en formant une fine pellicule d'argile. Ces sols sont d'autant plus squelettiques que la pente et l'action anthropique sont fortes.

III.4.1.2. Cadre climatique

Le but recherché en étudiant les conditions climatiques est de faire apparaître les influences et les relations des différents facteurs abiotiques, ainsi de caractériser le climat de la région de Chréa. Nous avons pris en considération les données climatiques de la décennie allant de 2004 à 2013, afin de voir et de déterminer les fluctuations des précipitations et des Températures durant cette période.

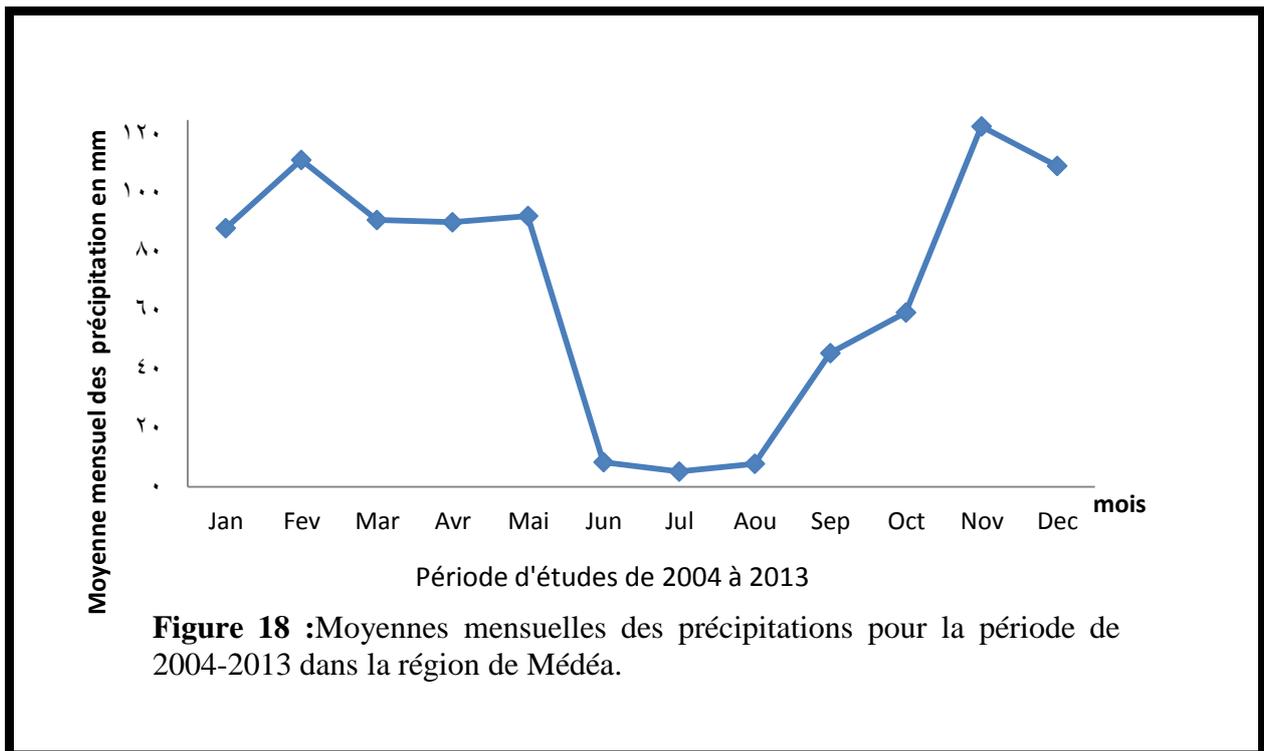
III.4.1.2.1. Les précipitations

En l'absence de station météorologique au niveau du parc national de Chréa, nous nous sommes référés aux données fournies par l'O.N.M, de la région la plus proche à savoir : Médéa, située à 1030m d'altitude. Les précipitations constituent un facteur écologique d'importance fondamentale. Le volume annuel des précipitations conditionne en grande partie les biomes continentaux (**Ramade, 1984**).

La pluviométrie a une influence directe sur la biologie des espèces animales. En effet, elle agit sur la vitesse de développement des animaux, sur leur longévité et leur fécondité (**Mutin, 1977**). La pluviométrie augmente de 40 mm pour 100 m d'altitude (**Seltzer, 1946**). Les précipitations annuelles et moyennes mensuelles de la période allant de 2004 à 2013 sont représentées dans le tableau 07 et la Figure (18).

Tableau 07 : Moyennes mensuelles des précipitations de la région de Médéa de la pour la période allant de 2004-2013.

année/ mois	Janv	fev	mars	Avri	mai	jui	juill	aout	sep	Oct	Nov	dec
2004	41,11	40,25	66	69,22	106,82	0,28	3,47	4,05	31,85	43,15	123,33	170,83
2005	106,85	101,34	60,23	20,55	1,44	2,31	0	0	39,06	117,84	14,76	127,69
2006	113,22	146,82	48,92	20,85	247,01	5,22	5,78	5,49	63,7	6,94	21,2	143,39
2007	26,93	85,42	134,05	187,04	37,06	4,34	19,4	11,87	75,28	78,19	219,18	81,63
2008	50,94	16,48	87,73	27,49	62,82	15,92	6,95	0	63,99	98,16	137,23	147,67
2009	207,04	27,79	85,7	150,55	51,83	0,58	7,82	7,52	94,67	23,46	83,68	118,44
2010	83,8	146,9	97,57	39,94	64,86	11,01	0	22,86	26,35	91,78	164,49	10 3,66
2011	75,7	166,2	98,15	100,77	141,89	28,07	3,77	2,61	9,25	64,86	174,3	74 ,41
2012	52,42	245,53	139,27	192,56	29,83	3,46	3,47	0	15,62	58,21	134,06	23,46
2013	123,08	136,67	90,91	92,36	178,94	12,74	1,19	24,04	35,61	11,29	155,53	101,93
moyenne 10 ans	88,109	111,34	90,853	90,133	92,25	8,393	5,185	7,844	45,538	59,388	122,77	109,31



III.4.1.2.2. Température:

Le facteur thermique dans la zone méditerranéenne est moins important que le facteur eau (**Halimi, 1980**). Cependant, ce paramètre climatique agit directement sur la répartition géographique des espèces (**Dajoz, 1982**). Il convient de noter que, très souvent, ce sont les températures extrêmes plutôt que les moyennes qui jouent un rôle décisif. Le Tableau (11) présente les températures maximales, minimales et moyennes.

Les données des températures de Médéa sont prises en considération comme base. Elles sont corrigées selon la méthode de **Seltzer (1946)** pour obtenir des valeurs thermiques pour Chréa. Ces corrections consistent en la diminution de 0,4 °C pour les températures minimales et de 0,7 °C pour les températures maximales pour chaque tranche de 100 m d'élévation.

Les données des températures de la région de Chréa après correction sont rassemblées dans le Tableau 08 et la Figure 19.

Tableau 08 : Températures mensuelles moyennes corrigées (M C°) à Chréa (la période 2004 -2013)

année/mois	janv	fev	mars	avri	mai	jun	jul	aou	sep	oct	nov	Dec
2004	6,3	8,8	10,5	11,4	12,1	23,5	27,9	28,9	23,7	19,8	9,5	5
2005	5,4	2,1	10,1	13,1	21,3	25,3	29,4	26,8	21,6	18	16	4,6
2006	3,2	4,7	11,1	16,3	20,8	25,2	29	26,7	22,1	21,1	13,5	6
2007	9,3	7,7	7,4	8,1	17,6	24	28,9	27,3	23	15,5	9,2	5,8
2008	7,7	8,9	9,1	14	16,7	22,6	29,2	28,9	22,2	15,9	7,8	4,3
2009	3,8	6	10,2	9,6	19,3	26	30,6	27,5	20	17,4	12,5	8,7
2010	5,5	7,4	10	13,7	15,6	22,7	30	28,4	22,9	16,4	8,4	8
2011	6,9	5,6	9,7	16,3	17,4	22,7	27,8	30	24,4	17,4	10,3	6,8
2012	6,7	2,3	9,5	11,1	19,8	27,9	29,5	31,8	24	18,4	11,1	7,2
2013	5,7	4,2	8,7	13,2	14,5	21,4	27,5	27,6	22,6	22,4	8	7

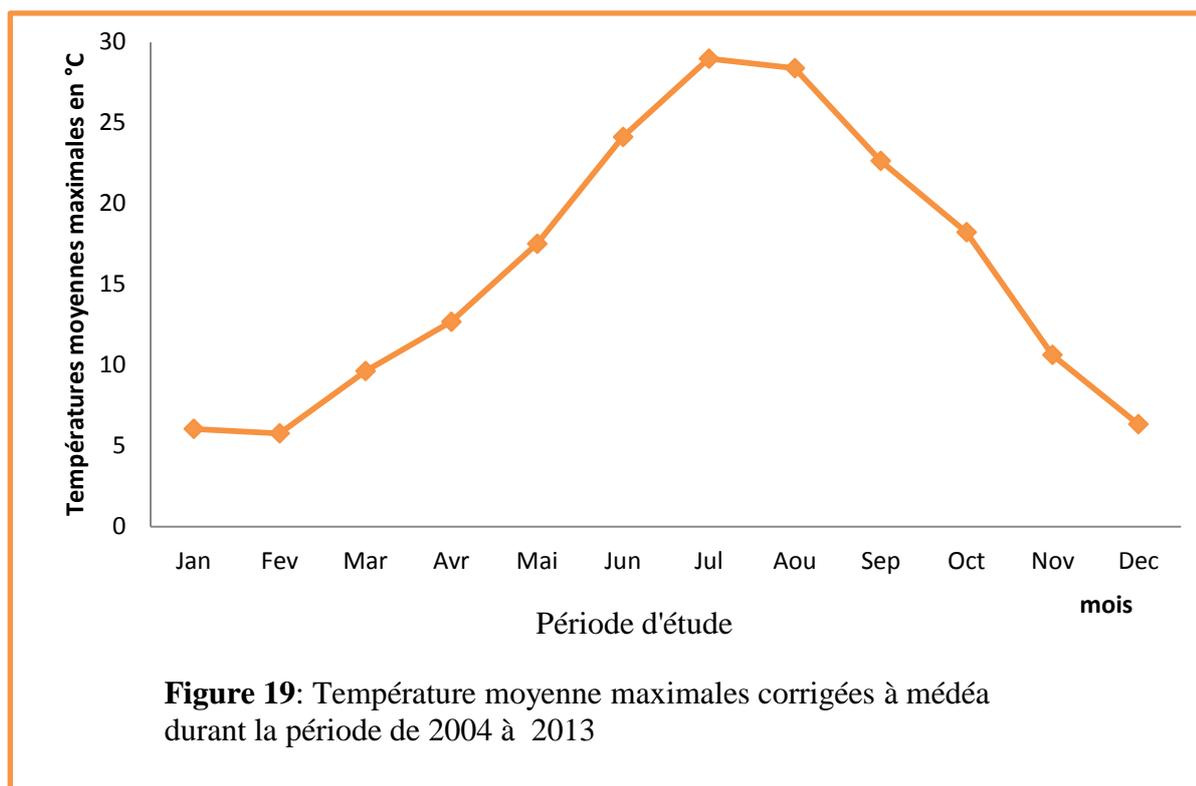


Tableau 09 : Température mensuelles moyennes, moyenne sur dix ans et précipitation corrigées à Chréa des 10 dernières années pour la période de 2004 – 2013

	janv	fev	mars	avri	mai	jui	juill	aout	sep	oct	nov	dec
m (°C) 10ans	2,64	2,2	4,93	7,43	11,57	16,09	20,29	19,81	15,73	12,31	6,85	3,36
M (°C) 10ans	6,05	5,77	9,63	12,68	17,51	24,13	28,98	28,39	22,65	18,23	10,63	6,34
M+m/2(°C) 10ans	4,345	3,985	7,28	10,055	14,54	20,11	59,145	24,1	19,19	15,27	8,74	4,85
2T (°C) 10ans	8,69	7,97	14,56	20,11	29,08	40,22	118,29	48,2	38,38	30,54	17,48	9,7
P (mm) 10ans	88,11	111,34	90,85	90,13	92,25	8,39	6,98	7,84	45,53	59,38	122,77	109,31

Tableau 10 : Température mensuelles moyennes enregistrées à Chréa en 2012 et 2013

Année	Températures	Mois											
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
2012	M °C	6,7	2,3	9,5	11,1	19,8	27,9	29,5	31,8	24,0	18,4	11,1	7,2
	m °C	2,1	-1,5	4,7	5,5	12,4	19	20,1	22,7	15,8	11,7	7,6	4
	(M + m)/2	4,4	0,4	7,1	8,3	16,1	23,45	24,8	27,25	19,9	15,05	9,35	5,6
2013	M °C	5,7	4,2	8,7	13,2	14,5	21,4	27,5	27,6	22,6	22,4	8,0	7,0
	m °C	2,2	0,6	4,9	7,3	12,9	12,9	19	18,9	15,2	15	4,5	3
	(M + m)/2	3,95	2,4	5,8	10,25	13,7	17,15	23,25	23,25	18,9	18,7	6,25	5

M : moyenne mensuelle des températures maxima.

m : moyenne mensuelle des températures minima.

(M+m)/2 : Moyenne mensuelle des températures.

En 2012, le mois d'aout est le mois le plus chaud avec une moyenne mensuelle égale à 27,25 °C. Cependant le mois de février avec une température moyenne égale à 0,4°C apparait le plus frais. En 2013, juillet et août sont les plus chauds avec une moyenne mensuelle égale à 23,25 °C. Cependant les mois de février et janvier sont les mois les plus frais avec une moyenne de 2,4 °C, 3,95 °C respectivement (voir Tableau 10).

III.4.1.2.3. Diagramme Ombrothermique :

Ce mode de représentation est introduit par **Bagnouls et Gausson (1953)**. Il consiste à déterminer la période sèche et la période humide d'une région donnée qui met en rapport les Précipitations et les températures moyennes mensuelles. Une période de l'année est considérée comme sèche lorsque l'échelle de la pluviosité exprimée en millimètre, est double de celle de la température exprimée en degré Celsius (**Dajoz, 2000**).

Le trace des diagrammes ombrothermiques de station Chréa montrent deux Périodes ; l'une humide et l'autre sèche.

Pour Chréa à 1550 m d'altitude la période sèche s'étale du mois de juin Jusqu'à à la fin de septembre.

Où : $T = (M + m) / 2$ $P \leq 2T$

T : Température moyennes mensuelle (°C).

M : Température moyenne des maxima du mois le plus chaud (°C).

m : Température moyenne des minima du mois le plus froid (°C).

P : Moyenne annuelle des précipitations (mm).

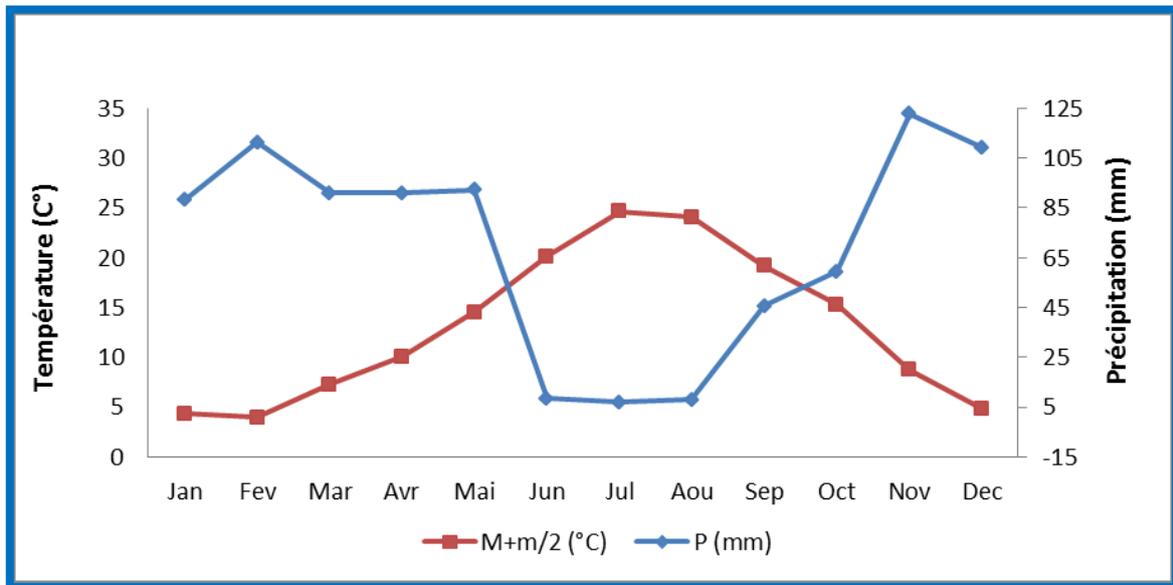


Figure 20: Diagramme Ombrothermique de Chréa (2004- 2013)

III.4.1.2.4. Climagramme pluviothermique d'Emberger :

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

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

Où :

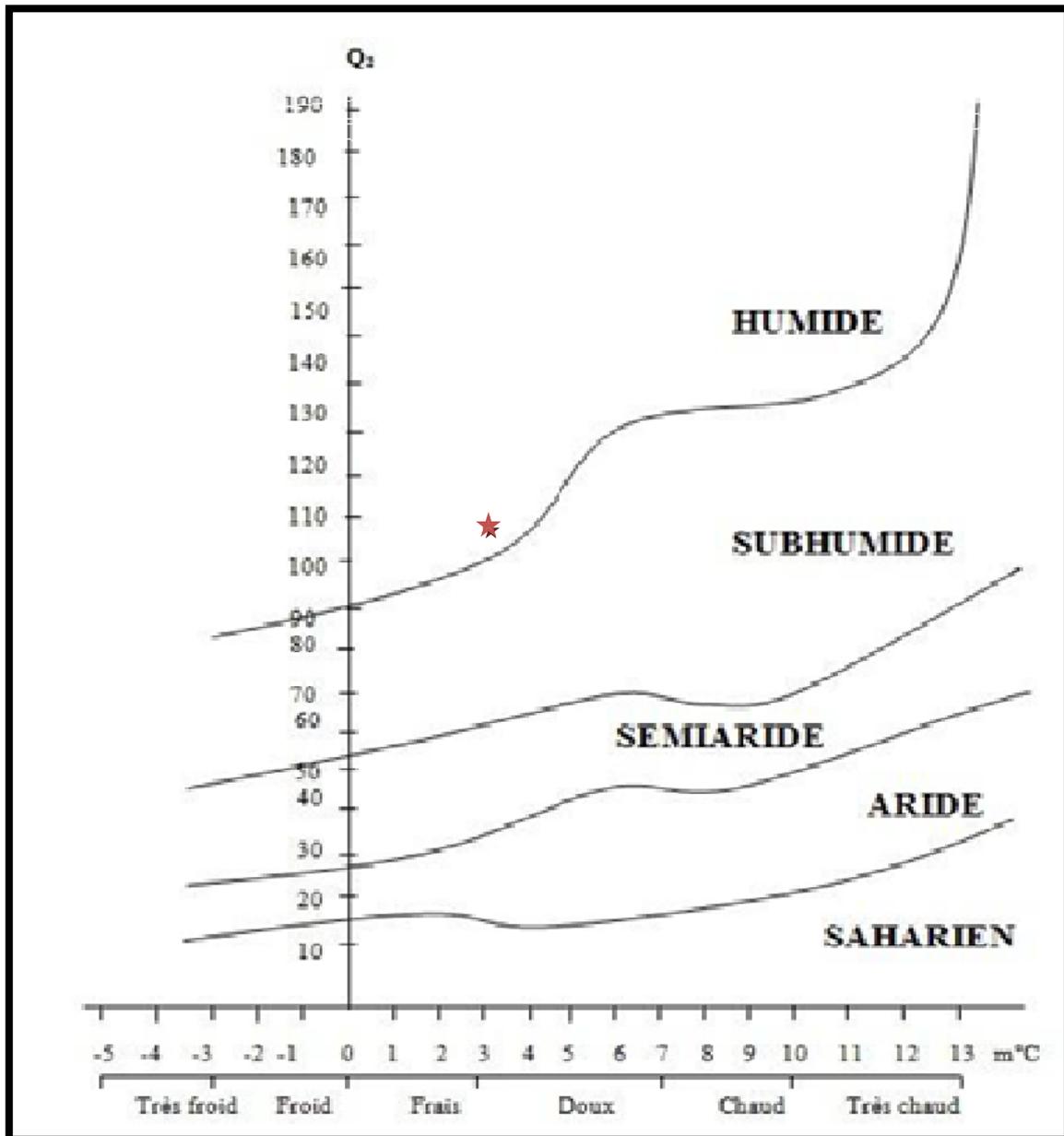
Q₃ : Quotient pluviométrique d'Emberger.

P : Précipitation annuelle moyenne (mm).

M : Moyenne maximale du mois le plus chaud (°C).

m : Moyenne minimale du mois le plus froid (°C).

Le quotient pluviothermique est calculé pour une période de 09 ans (entre 2004 et 2013). Pour la région de Chréa située à 1550 mètre, est égal à 106,75 pour m égale à 2,2 ce qui permet de placer la région d'étude dans l'étage bioclimatique humide à hiver tempéré.



★ : Chrea 1550m

Figure 21 : Climagramme pluviothermique d'Emberger

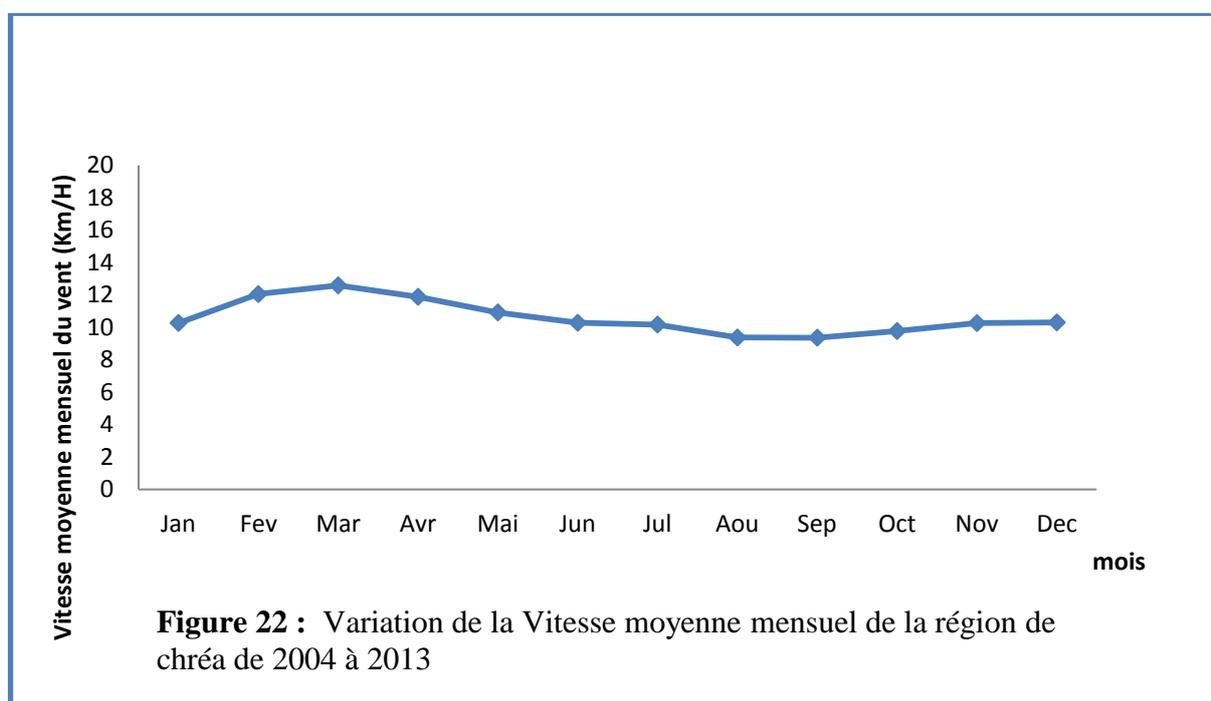
III.4.1.35. Vents :

Le vent est un facteur secondaire. Il a une action indirecte, en activant l'évaporation, il contribue à la sécheresse (Dreux, 1980). Le vent constitue dans certains biotopes un facteur écologique limitant. Sous l'influence des vents, la végétation est limitée dans son action

(Ramade, 1984). A Chréa les vents du Nord-est prédominent toute l'année, le vent chaud du sud représenté par le sirocco se manifeste généralement de 1 à 3 jours par an (Halimi, 1980)

Tableau 11 : Vitesse mensuelle moyenne du vent (km/h) à Chréa corrigées dans la période 2004-2013

année/ mois	janv	fev	mars	Avri	Mai	jui	juill	aout	sep	oct	nov	dec
2004	9,1	11,3	11,1	14,2	12,7	10,8	18,7	7,6	9,1	9,5	7,5	12,9
2005	8	10,3	7,7	10,8	9,3	10,1	8,7	10,1	10,7	8,6	5,8	11,6
2006	10,4	10,7	13,3	11,6	11	14,3	11,2	11,9	10,5	10,7	12,3	10,2
2007	7,4	14,5	14,8	11,3	12	9,8	8,4	10,7	9,5	11,4	8,3	9,3
2008	7,9	10,1	13,3	13,6	10,8	11,8	9	9,4	10,2	11,5	12,4	11
2009	14,8	13,6	12,7	12,5	12,2	10,4	10,3	11,3	9,8	9,4	10,6	14,8
2010	15,4	15,4	12,9	11,1	12,7	11,3	9,9	9	8,6	10,4	14,1	10,9
2011	7,9	11,8	13,1	8,6	8,9	6,9	9	7,4	8,9	8,7	11,9	7,6
2012	7,6	8,5	8,9	14,6	8,2	7,7	7,4	7,7	8,9	11,3	11,1	9,6
2013	14,2	14,3	18,1	10,5	11,4	9,7	9,1	8,6	7,4	6,2	8,6	5,1
moyenne 10ans	10,27	12,05	12,59	11,88	10,92	10,28	10,17	9,37	9,36	9,77	10,26	10,3



III.4.1.2.6. L'hydrologie

Le Parc national de Chréa présente de par sa position géographique, une potentialité hydrique importante. C'est une zone très arrosée avec 1000 mm de précipitations sur les sommets et les zones du versant nord. Cependant pour le reste des stations les ressources hydriques tournent autour de 900 mm pour la majorité des stations.

La composante hydrographique de ce territoire est divisée en deux grandes parties appartenant aux deux bassins versants des oueds El Harrach et Mazafran.

-   l'Est le bassin versant de l'Oued El Harrach s'étendant sur 12.450 ha,

-   l'Ouest le bassin versant de l'Oued Mazafran s'étendant sur 14.137 ha.

Les eaux du parc liées au bassin versant de l'oued El Harrach sont principalement drainées par oued Maktaa (dont les principaux affluents sont oued Kerrach, oued Tamda, oued Edhib, oued Taberbout, oued Issessel, et oued Boussaad), et oued Bouma ne (drainant les eaux situées au sud de cette partie). L'oued Bouma ne constitue la limite sud-est du parc.

Les eaux déversées par l'oued Chiffa dans l'oued Mazafran, forment une plus grande étendue et regroupent plusieurs zones (**Halimi, 1980**).

III.4.2. Facteurs biotiques :

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

III.4.2.1. Données bibliographiques sur la flore de P.N.C. :

La végétation du parc national de Chréa est très diversifiée (**Miri ,1988**). Les formations végétales les plus observées se résument comme suit :

❖ Groupements de pin d'Alep :

A travers tout le parc national de Chréa, c'est le pin d'Alep qui occupe la plus grande superficie soit 3345 hectares. Gr ce à sa rusticité et à sa plasticité, il est considéré comme une essence colonisatrice prenant la place des espèces plus originelles qui ont recule par l'action de l'Homme (**Halimi, 1980**).

❖ Groupements de chêne vert :

Il caractérise les forêts sempervirentes et se présente sous forme de maquis dégradés, constituant dans certains endroits à fortes pentes ; des formations très denses permettant ainsi la fixation du sol. La formation de chêne vert est accompagné par un cort ge floristique

composé essentiellement des plantes suivantes : *Cytisustri florus*; *Callycotom espinosa*; *Bupleurum fruticosum*; *Rhamnus alaternus*; *Prunus avium*; *Genistatri cuspidata*

❖ **Groupements du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) :**

Maire (1926) a distingué au niveau de l'Afrique du nord, 2 types de cédraies : La cédraie mixte, qui se développe sur les sols profonds des montagnes bien arrosées et la cédraie pure, qui se développe sur les sols profonds et qui est bien représentée au niveau des cédraies de Chréa. La cédraie pure est une futaie dense, sous laquelle, se forme une épaisse couche d'humus. La strate frutescente y est très réduite sauf dans les clairières.

La strate herbacée est composée d'espèces d'ombre, principalement : *Bunium alpinum*, *Balensea glaberrina*, *Viola nymbiana*, *Tulip asylvestris*, *Geranium malviflorum*, *Ranunculus rupestris*, *Luzula araecca*, cité par (**Chekchak, 1985**). Ce même auteur note qu'il existe 3 subdivisions au sein de la cédraie pure de Chréa : il s'agit de la cédraie pure très dense, la cédraie pure dense et la cédraie pure claire.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du Laboratoire d'Eco-Epidémiologie Parasitaire et Génétique des populations à l'Institut Pasteur d'Algérie Dely-Ibrahim.

1. Choix et description de la station d'étude :

Nous avons choisi la région de Chréa d'une part pour sa richesse en matériel biologique (vecteur et hôte) et d'autre part pour exploiter le milieu de cette région vierge (voir Figure 23).

L'échantillonnage a été réalisé durant la période de Mai 2015 jusqu'au mois d'Aout 2015 en deux sorties.



Figure 23 : Présentation du site d'études (Original, 2015).

2. Matériel :

2.1. Matériel biologique :

Le matériel biologique est représenté par des tiques Ixodidés collectées.

La collecte a été réalisée sur :

-Des bovins représentés par trois vaches en stabulation libre (voir Figure 24).



Figure 24 : Les bovins rencontrés dans la zone d'étude (Originale, 2015).

-La végétation présente au niveau du site d'étude ou chaque plante présente a été récoltée et identifiée et placée (voir Figure 25).



Figure 25 : La Végétation (*Pistacia lentiscus*) (Originale, 2015).

Concernant la végétation de cette zone d'étude nous avons effectué un herbier qui sera représenté dans la partie Résultats et Discussion.

2.2. Matériel non biologique

Voir Annexe V.

3. Méthodes de travail :

3.1. Collecte des tiques :

*sur Bovins :

La collecte des tiques sur l'hôte a été réalisée à l'aide d'une pince. Après examen de l'animal (bovin) au niveau des parties sensibles pouvant être parasités tels que : la région anal et les oreilles. Les individus sont prélevés et placés dans des tubes contenant de l'alcool 70°. Les tubes sont étiquetés et portent les mentions : le type d'animal (bovin), le lieu de collecte (Chrèa) et la date de collecte (voir Figure 26).



Figure 26 : Collecte des tiques au niveau de la région anale chez les bovins (**Originale, 2015**).

*sur Végétation :

La deuxième méthode de collecte des tiques c'est sur végétation est par la méthode de drapeau :

Le « drapeau » est constitué d'une pièce de tissu claire, généralement de 1 m², dans laquelle est passée une tringle munie d'une corde. Le drapeau est tiré par un préleveur marchant d'un

pas régulier sur la surface d'expérimentation à échantillonner. Les tiques, leurrées par le drapeau et « croyant » au passage d'un hôte, viennent s'accrocher sur le tissu. A intervalles de temps ou de distance réguliers, définissant les « sous échantillons » (de surface ou de temps auxquelles on associe un nombre de tiques prélevées), le drapeau est inspecté par le préleveur et les tiques présentes sur le drapeau prélevées et comptées (**Daniels *et al.*, 2000 ; Tälleklint-Eisen et Lane, 2000**) (voir Figure 27).



Figure 27 : Tissu utilisé dans la méthode de Drapeau (**Original, 2015**).

3.2. Méthodes utilisées au laboratoire :

3.2.1. L'identification :

L'identification a été faite sur la base des caractéristiques morphologiques (voir Figure 28) et une clé d'identification des tiques de (**WALKER *et al.*, 2003**).

L'identification a été réalisée à l'aide d'une loupe binoculaire. La manipulation des tiques s'est faite dans des boîtes de Pétri, en utilisant des pinces fines. Après identification, les tiques ont été remises dans l'alcool à 70° pour empêcher leur dessiccation et conservées à 4°C. Les résultats obtenus ont été enregistrés en fonction du site (zone exacte) de prélèvement, numéro de l'échantillon, nombre total des tiques prélevés, quantité et nom des espèces des spécimens, et nombre de males et de femelles.

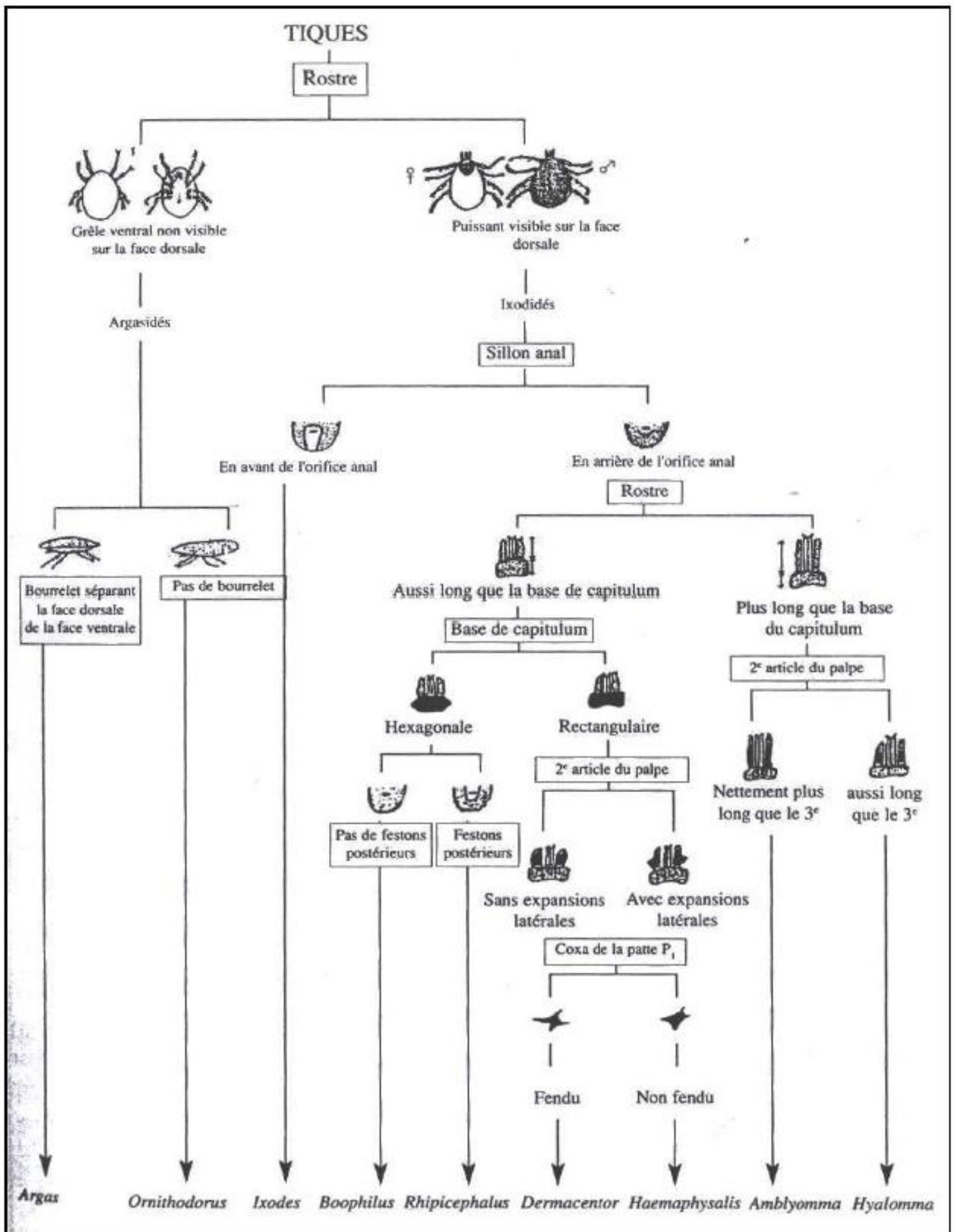


Figure 28 : Clé d'identification des tiques (Moulinier, 2003).

3.2.2. Détection moléculaire :

3.2.2.1. Extraction d'ADN :

L'extraction d'ADN à partir de tiques est considérée comme difficile (**Hubbard et al., 1995 ; Mauel et al., 1999 ; Sparagano et al., 1999 ; Hill et al., 2003**). Les difficultés rencontrées lors de l'extraction à partir des tiques sont dues à la présence d'une cuticule rigide qui rend difficile l'accès aux tissus internes colonisés par les agents pathogènes mais aussi à la présence d'inhibiteurs de Polymerase Chain Reaction dans les tissus de la tique (**Hubbard et al., 1995 ; Sparagano et al., 1999**). Cette étape consiste en l'extraction des acides nucléiques (ADN) sur des tissus, à l'aide d'un Kit spécial QIA amp (Kit QIAGEN®, Hilden, Germany) réalisée sous une hotte à flux laminaire. Ce Kit est un système générique utilisant la technologie QIA amp pour extraire et purifier l'ADN génomique (voir Figure 29).

Kit QIA amp

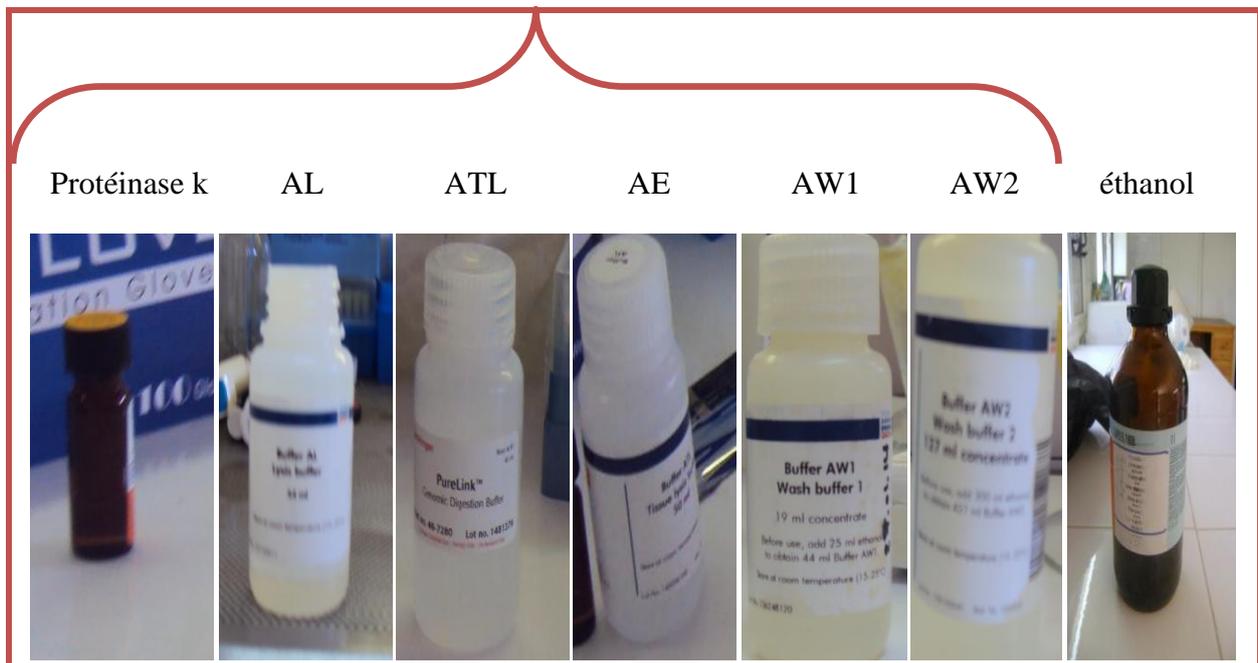


Figure 29: Les réactifs de Kit QIAamp utilisé pour l'extraction d'ADN (**Originale, 2015**).

➤ **Le principe d'extraction d'ADN :**

Le principe d'extraction de ce kit repose sur les interactions ioniques : l'ADN est adsorbé sur une membrane de silice en présence de sels chaotropiques qui déshydrate les molécules d'acides nucléiques. Les protéines, les lipides et les polysaccharides ne sont pas retenus par la membrane. Après lavage de la membrane, les acides nucléiques sont ensuite élués avec de l'eau ou avec le tampon d'éluion fourni dans le kit.

a- Les principales étapes de préparation des échantillons avant l'ajout des réactifs d'extraction :

a₁- Fragmentation des échantillons en petits morceaux (coupe longitudinale), à l'aide d'une pince (voir Figure 30).

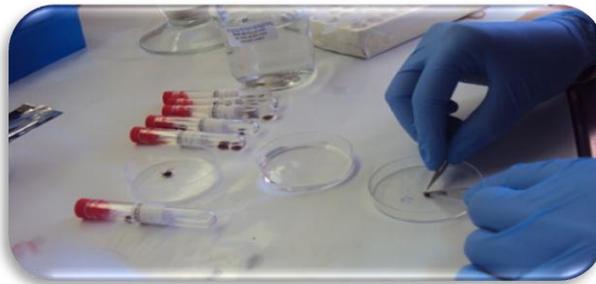


Figure 30 : Réalisation des coupes en petits morceaux (**Originale, 2015**).

a₂- Dépôt d'un petit morceau de tique (environ $\frac{1}{4}$) dans des tubes Eppendorf(voir Figure 31).

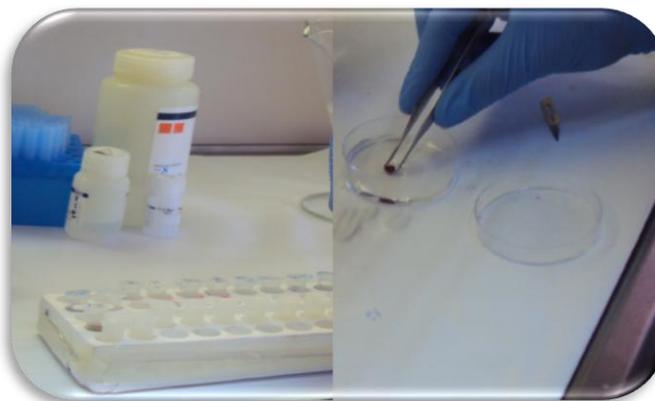


Figure 31 : Placer les dans un Eppendorf (**Originale, 2015**).

b)-L'extraction d'ADN :

L'extraction d'ADN se réalise par 3 étapes :

b₁-La lyse : il existe 3 phases :

b_{1.1}. Chimique :

Ajouter 180µl de Buffer ATL (tissue lysis buffer)(voir Figure 32). Il sert à macérer les tissus.



Figure 32 : L'ajout de l'ATL (Originale, 2015).

Ajouter 25 µl de protéinase K (voir Figure 33), pour dénaturer les protéines et les nucléases, puis agiter rapidement à l'aide de vortex.

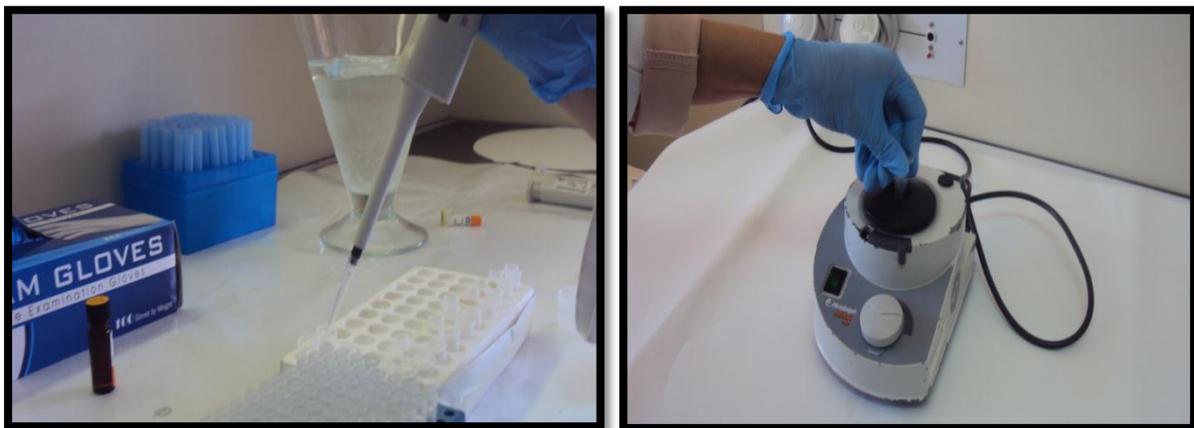


Figure 33 : L'ajout de protéinase K (Originale, 2015).

b₁₋₂. Mécanique : la phase mécanique comprend le broyage des échantillons.

Mettre les échantillons dans un bain à sec à 37°C pendant une nuit (voir Figure 34).



Figure 34 : L'incubation au bain à sec (Originale, 2015).

Ajouter 180µl d'AL (pour compléter la lyse), agiter au vortex (voir Figure 35).

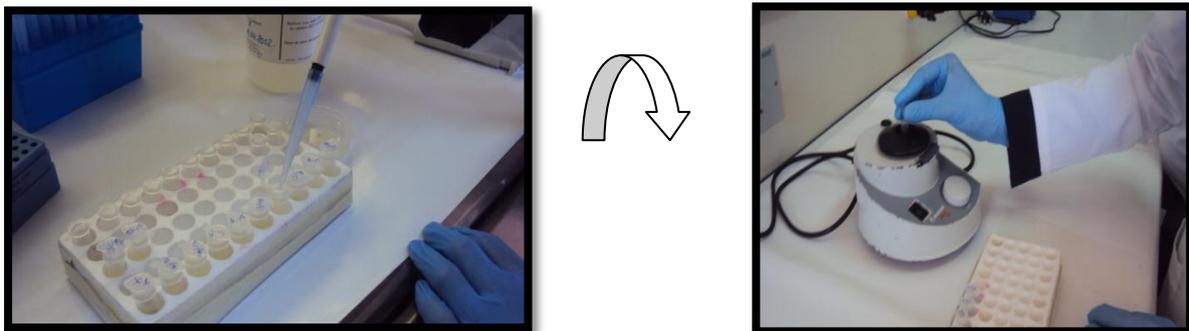


Figure 35 : L'ajout de buffer AL (Originale, 2015).

Incubation au bain à sec à 70°C pendant 10 minutes (inhibition de la protéinase K c'est la 1^{ère} étape pour arrêter la lyse)(voir Figure 36).

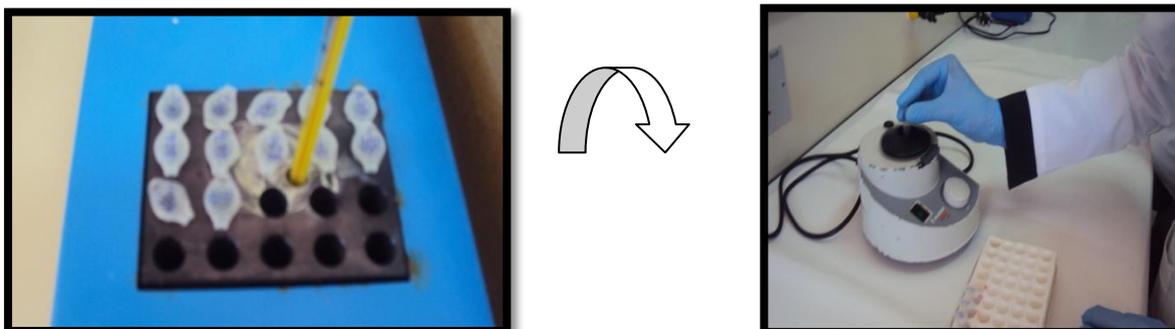


Figure 36 : La deuxième incubation au bain a sec (Originale, 2015).

b_{1.3}. Précipitation :

Ajouter 200 µl d'éthanol absolu, (il interfère avec l'ATL et le AL pour former des complexes inactifs en vue d'inhiber la lyse), agiter au vortex pendant 10 à 15 secondes (voir Figure 37).

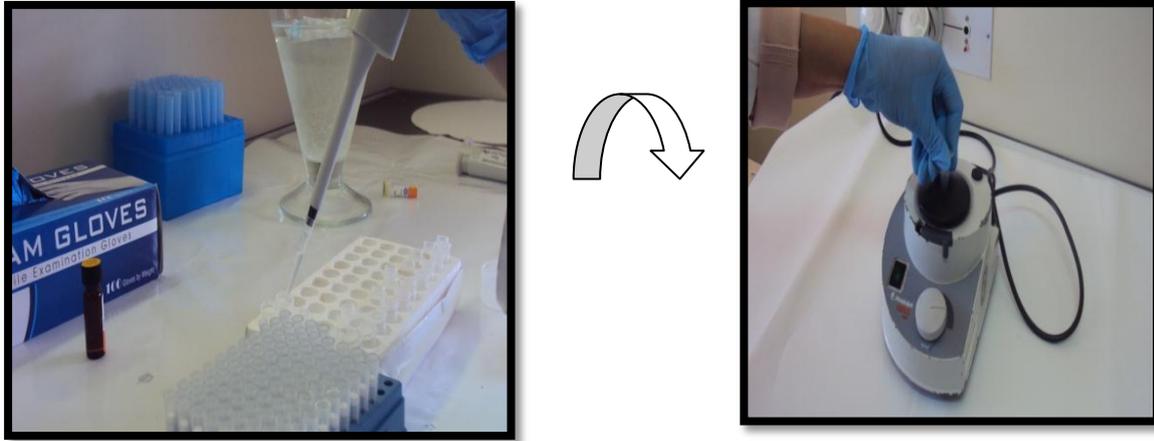


Figure 37 : L'ajout de l'éthanol (Originale, 2015).

Après la destruction des enzymes hydrolytiques et la précipitation de l'ADN, verser le mix dans les tubes collecteurs à filtre pour réaliser la purification.

Centrifuger 8000 tours/1min, pour permettre le passage de tous les débris à travers le filtre sauf l'ADN qui reste dans le filtre. Il faut bien équilibrer les tubes de façon qu'ils soient parallèles)

Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur (voir Figure 38).



Figure 38 : Versement dans des tubes collecteurs et centrifugation rapide (Originale, 2015).

b.2. purification d'ADN :

Cette étape se réalise en faisant deux lavages :

Première purification de l'ADN des débris cellulaire : Faire un 1^{er} lavage dans 500 µl de AW1 (voir Figure 39).

Centrifuger 8000 tours pendant 1 minute.

Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.



Figure 39 : L'ajout de AW1 (Originale, 2015).

Faire un deuxième lavage dans 500 µl d'AW2 (voir Figure 40).

Centrifuger 10000 tours pendant 1 min.



Figure 40 : L'ajout de AW2 (Originale, 2015).

Jeter l'éluat et placer le filtre dans un nouveau tube Eppendorf numéroté

Centrifuger une nouvelle fois 10000 tours/1min (voir Figure 41).



Figure 41 : dépôt de filtre dans un nouveau tube Eppendorf (Originale, 2015).

b₃- Elution : Récupération d'ADN :

Placer les tubes dans un tube Eppendorf et ajouter 180 µl de tampon AE.

Incuber 5 minutes à une température ambiante (pour augmenter le rendement d'ADN).

Centrifuger une dernière fois 8000 tours pendant 1min (voir Figure 42).

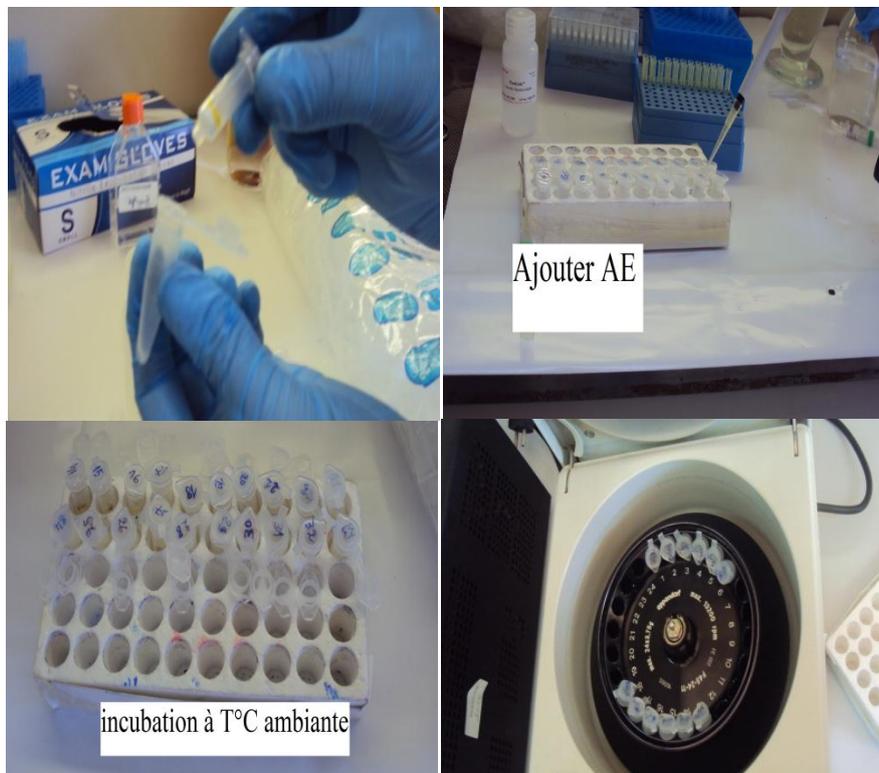


Figure 42 : L'ajout de AE (Originale, 2015).

Récupérer l'éluât qui contient l'échantillon d'ADN (voir Figure 43).

Conserver l'échantillon à 4°C.



Figure 43 : Récupération d'ADN (Originale, 2015).

3.2.2.2 Amplification par PCR en temps réel :

Le principe de la PCR en temps réel repose sur la possibilité de suivre la quantité d'ADN présente dans la réaction à tout instant et non à la fin de la PCR, des sondes fluorescentes se fixent: - Soit sur ADN double brin (technologie Cyber)

- Soit sur une séquence d'ADN précise (Taqman et Beacon)

Ces sondes ne fluorescent qu'une fois fixées à l'ADN. La mesure de la fluorescence permet de déterminer en temps réel si le fragment recherché (amplicon) est effectivement présent et donc amplifié sans avoir besoin de faire une électrophorèse de plus la fluorescence émise est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons est corrélée à la quantité initiale d'ADN de la matrice originale ce qui permet pour d'autres applications de doser la matrice originale.

Cette opération se déroule dans une pièce isolée et sous une hotte pour éviter toute contamination du mix (voir Figure 44).

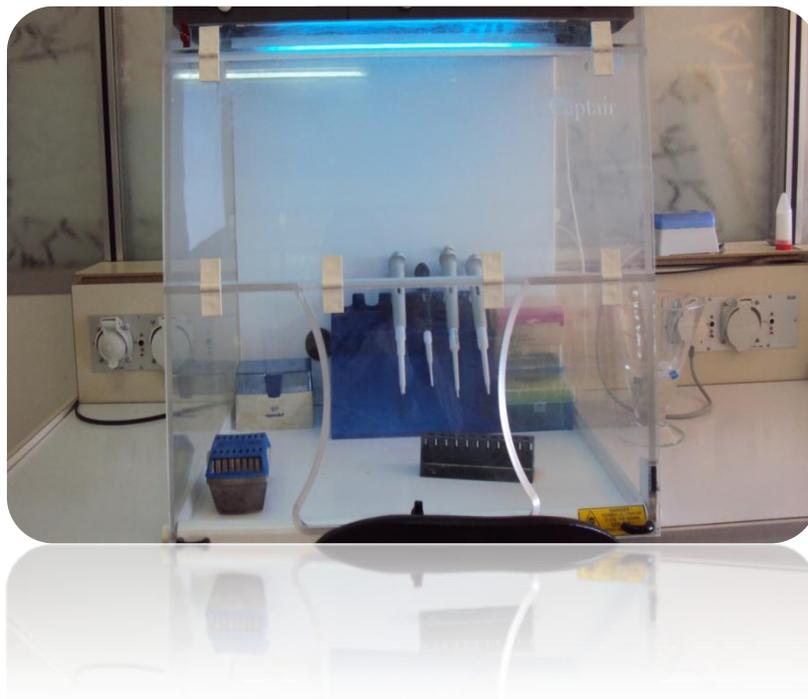


Figure 44 : Stérilisation de matériel (Originale, 2015).

***Préparation de mix :**

Le mix est un ensemble de réactifs servant à la réaction PCR in vitro. La quantité et la concentration des réactifs utilisés dans le mix, doivent être respectées car peut être considéré comme point critique pour la réussite d'une PCR.

La préparation doit être effectuée dans des conditions aseptiques, sous une hotte bio cap, avec le port des gants pour éviter toute contamination (voir Figure 45).

Tableau 12 : Les produits du mix et leur concentration nécessaire pour un seul échantillon.

Réactif	Volume pour un seul échantillon	Rôle
L'eau distillée	2 μ l	Pour l'équilibre
Master mix	10 μ l	Remplace le Kit
Sonde	2 μ l	Détection pathogène
Primer 1	0.5 μ l	Amorce F forward
Primer 2	0.5 μ l	Amorce R reverse
Total mix	15 μ l	---

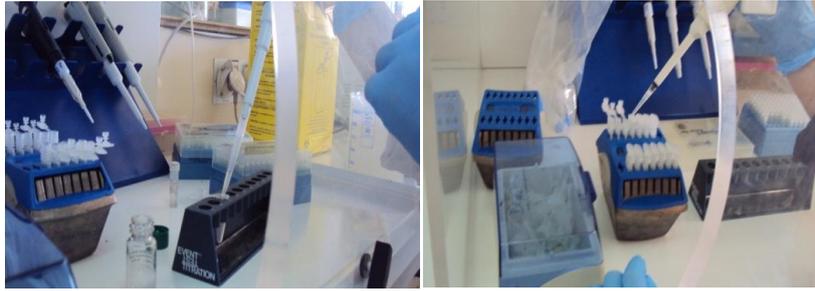
Chaque constituant de ce mix est multiplié par le nombre d'échantillons étudiés (32 échantillons), 15µl de ce mix sont distribués dans chaque tube smart PCR stériles (voir Annexe IV).

Tableau 13 : Répartition du mix ainsi que la quantité d'ADN ajoutée.

Tube	Volume
T-	5µl d'ADN négatif + 15µl de mix
T+	5µl d'ADN positif + 15µl de mix
Echantillons	5µl d'ADN extrait +15µl du mix
Volume total	20µl par échantillon

Une centrifugation de quelques secondes, à l'aide de centrifugeuse adaptée au format des tubes de type « Smart Cyclers » a été effectuée, ces derniers seront placés dans le Smart Cyclers (voir Figure 45).

1-Préparation de mix :



2-L'ajout de l'ADN :



3-Centrifugation dans des mini-centrifugeuses :



4- Lecture des résultats :



Figure 45 : Protocole expérimentale de la PCR en temps réel (Originale, 2015).

***Amplification par Smart Cycler :**

La PCR en temps réel utilisée est basée sur la technologie TaqMan mise en œuvre sur des prélèvements biologiques, elle utilise les sondes et amorces :

Anaplasma :

La sonde : FAM-TGA TGA ACG GCT GGT ATC AG TAMRA

Forward : TAA GCG CAG TTG GAA GAT CA

Reverse : CGG CAC ATC CAC ATA AAACA

Rickittsia :

La sonde : FAM-CTA TTA TGC TTG CGG CTG TCG GTT C TAMRA

Forward : GTG AAT GAA AGA TTA CAC TAT TTA T

Reverse : GTA TCT TAG CAA TCA TTC TAA TAG C

Babesia :

La sonde : FAM-CAT CTA AGG AAG GCA GGC GGC GG TAMRA

Forward : GTA GGG AAT TGG CCT ACC G

Reverse : TTC TTG TCA CTA CCT CCC TGT G

Borrelia :

La sonde : FAM-TTT GAT TTC TTT TCC TCA GGG TAMRA

Forward : CGA TAC CAG GGA AGT GAA C

Reverse : ACA ACC CYM TAA ATG CAA CG



Figure 46 : Smart Cycler (Originale, 2015).

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

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

3.3. Méthodes d'exploitation des résultats :

Les résultats obtenus sont traités par la richesse totale et moyenne, l'abondance relative, les indices parasitaires et une analyse de la variance.

1. Richesse spécifique (ou totale) :

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

2. Richesse moyenne :

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

3. Fréquence centésimale ou abondance relative :

La fréquence F est le pourcentage des individus d'une espèce N_i par rapport au nombre total des individus N (**Dajoz, 1975**).

$$F(\%) = \frac{N_i}{N * 100}$$

N_i = nombre des individus de l'espèce prise en considération.

N = nombre total des individus de toutes les espèces.

4. Exploitation des données par les indices parasitaires :

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

La prévalence (P) :

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

$$P(\%) = \frac{N}{H * 100}$$

L'abondance (A) :

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

$$A = \frac{n}{H}$$

Intensité parasitaire (I) :

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

$$I = \frac{n}{N}$$

I. Résultats :

1. Description du site d'étude :

La zone de collecte des tiques pour notre étude, couvre une grande partie de la région de Chréa qui est située dans la wilaya de Blida. Elle présente un territoire à caractère montagneux difficile à présenter tant il est morcelé et compartimenté, le climat est humide, caractérisé par une saison sèche en été et humide en hiver. Ici la végétation est formée en altitude par des forêts de cèdres et des chênes verts, aux altitudes inférieures à 1500-1600m la végétation est représentée par des cultures fruitières, l'olivier, le figuier, etc. Les collines sont occupées par des cultures céréalières alors que dans les plaines on trouve des arbres et des arbustes.

Les animaux rencontrés dans cette zone dont la surface est d'environ 100 km² sont des bovins.

2. Identification des principales espèces d'Ixodidae récoltés dans la station de Chréa :

2.1. Résultats :

- Pour l'identification des adultes non gorgés nous avons utilisé les critères de **Walker et al., 2004**.
- Pour l'identification des sexes nous avons utilisés les clés de **Moulinier, 2003**.

a- L'identification du genre est basée généralement sur les caractères morphologiques de certaines parties de corps à savoir :

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

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

- * La ponctuation de l'écusson.
- * La couleur des pattes et la présence des marbrures (anneaux).

- * La forme des stigmates (en virgule ou rondes).
- * Les caractères des sillons.
- * Les festons et le forme des yeux.
- * Les aires poreuses (forme, dimensions et distance les séparant).
- * Le nombre des plaques adanales et leurs formes.

c- La détermination du sexe est basée sur l'observation de la face dorsale et la présence ou l'absence des plaques adanales :

- **Pour le male :** le scutum est complet, recouvre toute la face dorsale avec la présence évident des plaques adanales au dessus le l'anus.
- **Pour la femelle :** le scutum est non entier, recouvre la moitié de la face dorsale. Et l'absence totale des plaques adanales.

D'après les deux clés utilisées nous avons identifié : 3 espèces dont 2 espèces appartenant au genre *Rhipicephalus* et une seule espèce du genre *Hyalomma*.

2.1.1 – Les principaux critères utilisés dans l'identification des espèces échantillonnées :**a- *Rhipicephalus bursa* :****a₁-Femelle adulte :****a_{1.1} Vue dorsale : (voir figure 47)**

- Rostre de longueur égale à la largeur de capitulum.
- Grandes aires poreuses ovales ou avec une queue antéro-externe, leur écartement est inférieure au plus grand diamètre.
- Scutum brun, ovale, plus large que long avec de nombreuses ponctuations, recouvre la moitié de la face dorsale.
- Sillons cervicaux très profonds en avant et plus superficiels aux deux tiers postérieurs.
- Présence des festons postérieurs.

a_{1.2} Vue ventrale :

- Hanches identiques à celle du males.
- Base de capitulum est hexagonale.



Figure 47 : *Rhipicephalus bursa* femelle (Vue dorsale) (Originale, 2015).

a₂- Le Male adulte :

a_{2.1} Vue dorsale :

- Corps entièrement recouvert du scutum unicolore, brun sombre, non orné, mais avec de nombreuses ponctuations.
- Sillons cervicaux courts
- Présence d'un sillon marginale en arrière des yeux, limitant le feston extrême.
- Présence des festons.

a_{2.2}-Vue ventrale : (voir Figure 48)

- Hanche I bifide du fait d'une longue épine externe.
- Base de capitulum est hexagonale.



Figure 48 : *Rhipicephalus bursa* (Vue ventrale) (Originale, 2015).

b- *Rhipicephalus turanicus* :**b₁-Femelle :****b_{1.1} Vue dorsale : (voir Figure 49)**

- Le scutum non entier (recouvre la moitié).
- Présence des festons.
- La couleur de Scutum est sombre.

b_{1.2}.Vue ventrale :

- les palpes sont courts.
- Le sillon anal est en arrière de l'orifice anal.
- La base du rostre hexagonale.
- Les yeux sont aplatis.



Figure 49 : *Rhipicephalus turanicus* femelle (Vue dorsale) (Originale, 2015).

b₂. Mâle :**b_{2.1}. Vue dorsale :**

- Les plaques accessoires des plaques adanales sont grandes.
- Scutum entier recouvre toute la face dorsale.
- Présence des festons.

b_{2.2} Vue ventrale : (voir Figure 50)

- Les Yeux sont aplatis.
- La base du rostre hexagonale.
- Le rostre aussi long que le capitulum.



Figure 50 : *Rhipicephalus turanicus* male (Vue ventrale) (Originale, 2015).

c- *Hyalomma detritum* :

c₁.Femelle :

- Scutum est de couleur foncée, sinueux.
- les plaques stigmatiques ont des queues avec une courbe étroite vers la face dorsale.
- Les pattes longues et de couleur jaune à orange.



Figure 51 : *Hyalomma detritum detritum* femelle (Vue ventrale) (Originale, 2015).

c₂.Male :

- La présence des plaques adanales et subanales.



Figure 52 : *Hyalomma detritum detritum* male (Vue dorsale) (Originale, 2015).

3. Nombre d'individus des Ixodidae récoltés dans la station d'étude :

3.1 – Résultats

Le tableau 14 regroupe les différentes espèces recensées et identifiées lors de notre échantillonnage le 25 Mai et le 07 Juillet 2015

Tableau 14 : Liste des espèces collectées chez les bovins et sur végétation dans la région de Chréa :

Espèce	Sexe	Hôte (bovin)	Total	AR %	
<i>Rhipicephalus bursa</i>	Male	Bovin	05	38.88%	101 tiques sur des bovins
			35		
	Femelle		06		
			3		
<i>Rhipicephalus turanicus</i>	Male	Bovin	2	10.31%	
			2		
	Femelle		3		
			6		
<i>Hyalomma detritum detritum</i>	Male	Bovin	7	11.11%	
			/		
	Femelle		7		
			/		
<i>Rhipicephalus sp.</i>	Nymphe	Bovin	1	0.8%	
Non identifiée	Femelles gorgées	Bovin	15	19.04%	
			9		
Non identifiée	/	Végétation	10	19.84%	25 sur végétation
			15		

***Interprétation :**

La collecte effectuée dans la région de Chréa au cours de deux sorties a révélé l'existence de 03 espèces dans un total de 126 tiques. Les 126 individus font tous partie de l'ordre des Ixodida et de la famille des Ixodidae. 101 sur bovins (80.16%), et 25 sur végétation (19.84%).

4. Exploitation des résultats obtenus dans la région d'étude :

Les résultats concernant les tiques échantillonnées dans la région de Chréa sont exploités à l'aide des indices écologiques : La richesse totale et moyenne, l'abondance relative et le sexe-ratio d'une part et les indices parasitaires d'une autre part.

4.1. La richesse totale et moyenne :

4.1.1. Résultats

Les valeurs des richesses totales (**S**) et la moyenne (**Sm**) des espèces de tiques échantillonnées durant 04 mois sont mentionnées dans le tableau 15 :

Tableau 15 : Richesse totale et moyenne des espèces des tiques capturées durant 2015 dans la région de Chréa :

	25-05-2015	27-07-2015
Richesse totale (S)	03 espèces	03 espèces
Richesse moyenne (Sm)	0,75 espèces	0,75 espèces

4.1.2. Interprétation :

La richesse totale des espèces de tiques collectées dans la région de Chréa durant le mois de Mai 2015 est égale à celle de mois d'Aout 2015. Elle est de 03 espèces avec une richesse moyenne de 0.75 espèces (voir Tableau 15).

4.2. Fréquences centésimales de différentes espèces de tiques récoltées dans la région de Chréa :

4.2.1. Résultats

La répartition des espèces capturées, dans la région de Chréa en fonction des espèces est regroupées dans le Tableau 18 et représentée sous forme de graphe (voir Figure 53). L'abondance de chaque espèce de tiques a été calculée par rapport au nombre total de tiques récoltées pendant la période d'étude.

L'espèce	Effectifs	L'abondance relative (AR)
<i>Rhipicephalus bursa</i>	49	75.38%
<i>Rhipicephalus turanicus</i>	13	20%
<i>Hyalomma detritum</i> <i>detritum</i>	03	4.61%

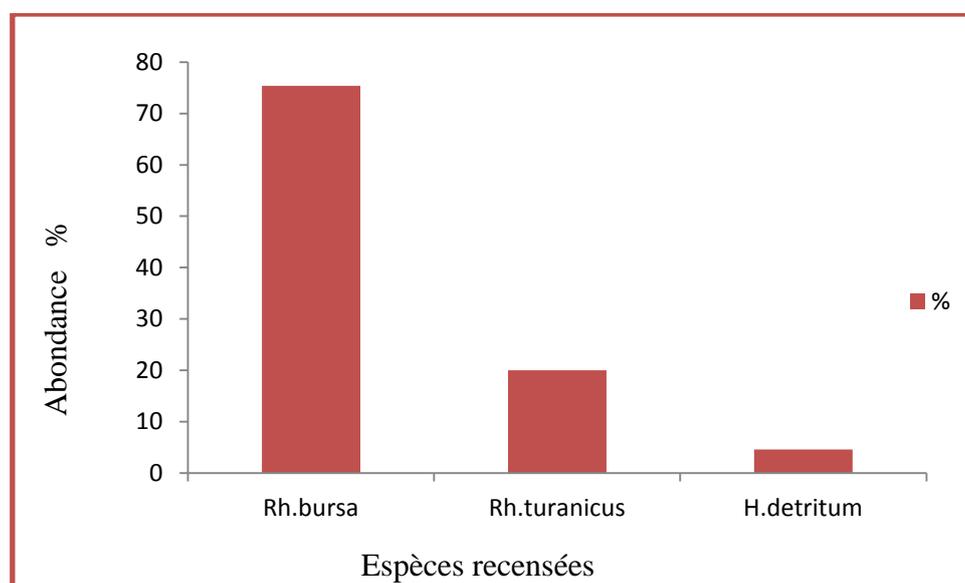


Figure 53 : Abondance des espèces de tiques collectées.

4.2.2. Interprétation :

Nous remarquons que l'espèce *Rhipicephalus bursa* est la plus abondamment présente avec un total de 49 tiques, soit une moyenne de 75.38%. *Rhipicephalus turanicus* et *Hyalomma detritum* ont été très rares.

4.3. La Sex-ratio des espèces récoltées dans la région de Chréa durant l'année 2015 :

4.3.1. Résultats :

La sex-ratio est le rapport numérique des sexes à la ponte.

Tableau 16 : Résultats de sex-ratio des différents échantillons récoltés durant 04 mois d'étude 2015 dans la région de Chréa

Males	Femelles
51	49

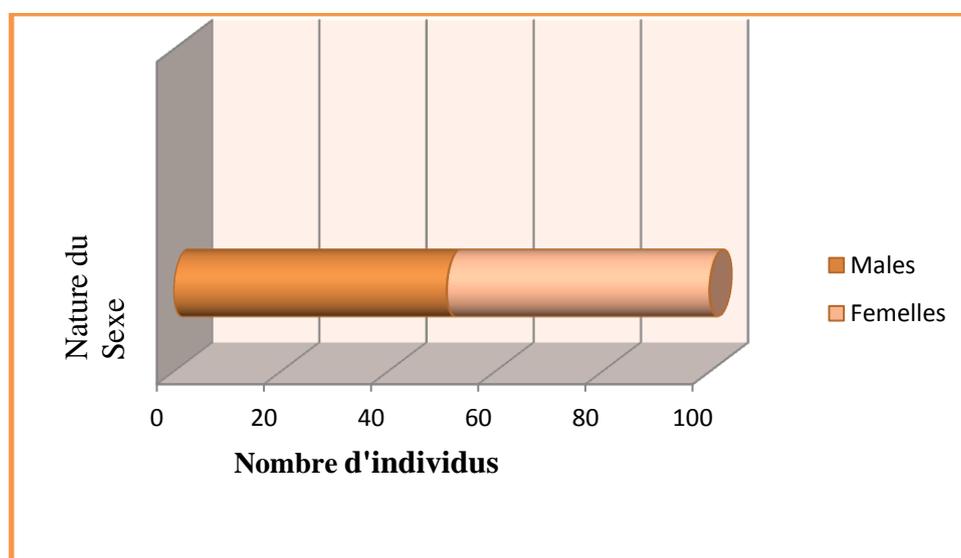


Figure 54 : La répartition des tiques en fonction de leurs sexes.

4.3.2. Interprétation :

D'après le calcul de sex-ratio de nos échantillons qui est de valeur 1.04 nous avons noté que pour 100 éclosions de femelles, nous avons eu 104 éclosions de male.

5. Identifications des agents pathogènes portés par les tiques par la méthode de PCR en temps réel :

5.1 Résultats

La recherche des agents pathogènes par PCR a porté sur un total de 49 prélèvements. Nous avons divisé notre travail en deux sessions selon la date de collecte des tiques, à chaque session nous avons effectué une série des PCR pour détecter les agents pathogènes (Bactéries et Parasites). Chaque échantillon porte un numéro et un code afin de le distinguer en post PCR.

Le résultat de la PCR en temps réel est représenté graphiquement sous forme de courbes sigmoïdes. Chaque courbe correspond à un seul échantillon. Elle représente la mesure de la fluorescence de cet échantillon pour chaque cycle. Le signal seuil est calculé automatiquement et matérialisé sur le graphe par une ligne horizontale.

L'intensité de la fluorescence est exprimée en fonction du nombre de cycles. Elle est proportionnelle à la concentration d'amplicons, le cycle seuil (Ct) représente le nombre de cycles requis où le signal d'émission de fluorescence est statiquement et significativement plus élevé que la ligne de base.

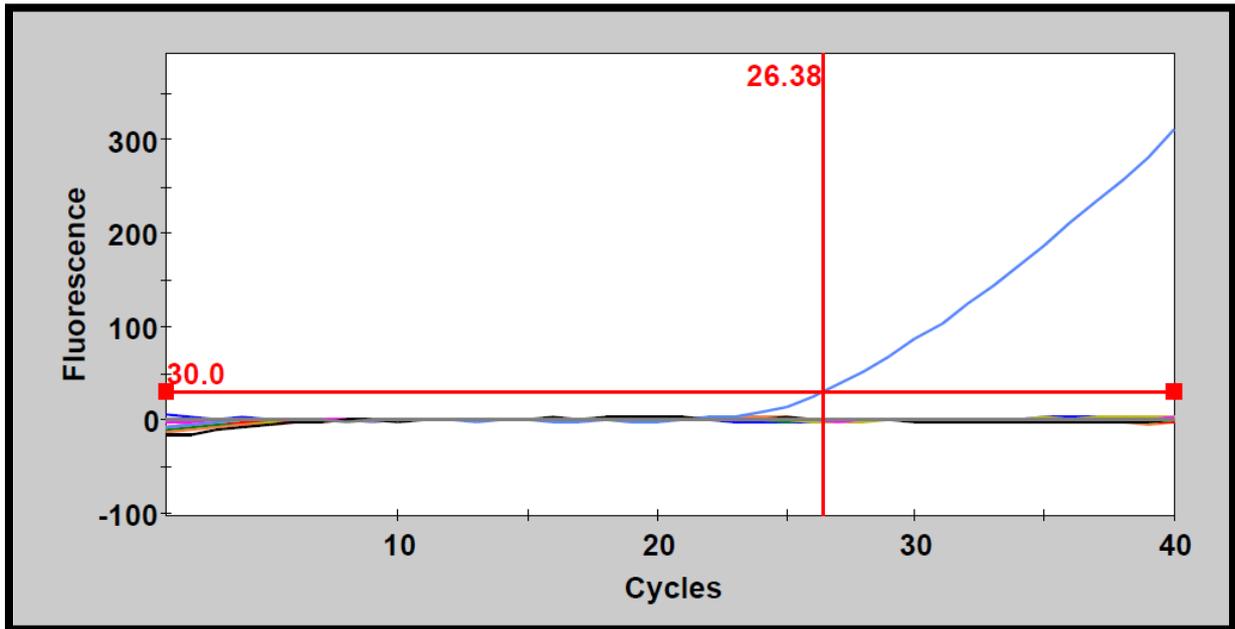
5.1.1. Résultats de détection de *Rickettsia sp.* :

Figure 55 : Tracé de *Rickettsia sp.* par PCR en temps réel.

* **Interprétation :**

L'analyse de PCR révèle 1 positif à *Rickettsia sp.* soit 8.33% (1/12). Ce résultat positif correspond à la présence d'ADN amplifié du genre *Rickettsia* (voir Figure 55). Le résultat positif correspond à une tique femelle de l'espèce *Rhipicephalus turanicus*.

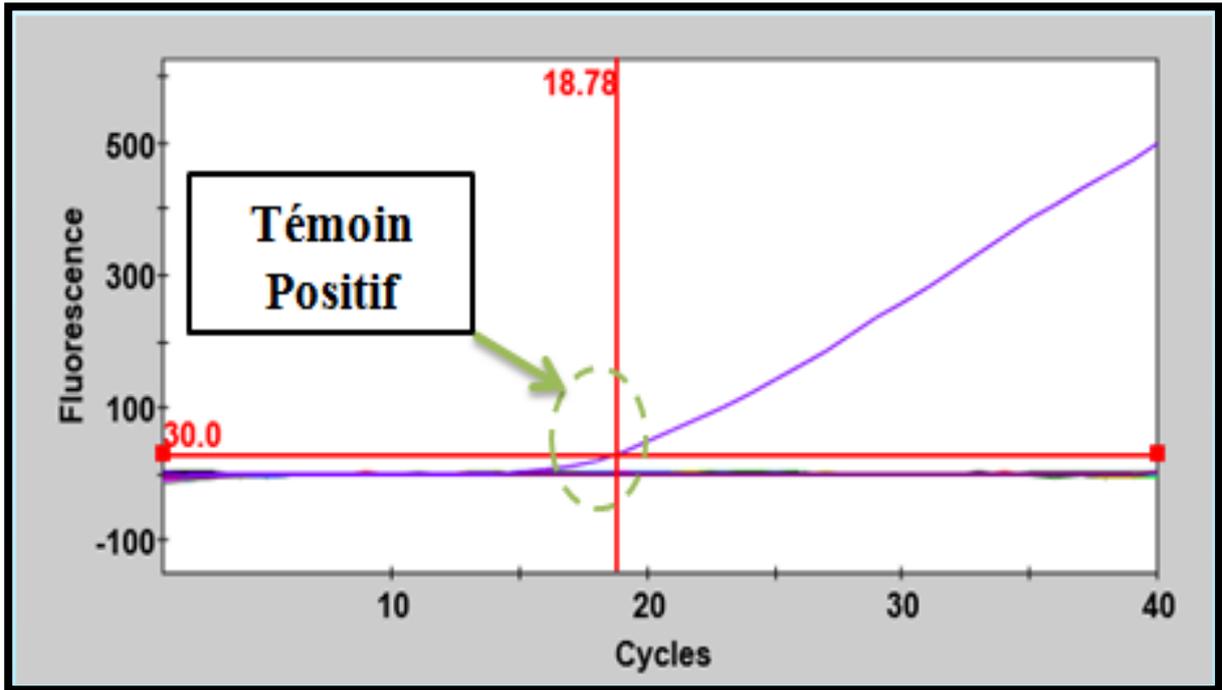
5.1.2. Résultats de détection de *Borrelia sp.* :

Figure 56 : Tracé de *Borrelia sp.* par PCR en temps réel.

* **Interprétation :**

Les analyses menées sur nos échantillons sont avérées toutes négatives, et aucun positif à *Borrelia sp.* sur les 13 échantillons testés n'a été détecté (voir Figure 56).

5.1.3. Résultats de détection de *Babesia sp.* :

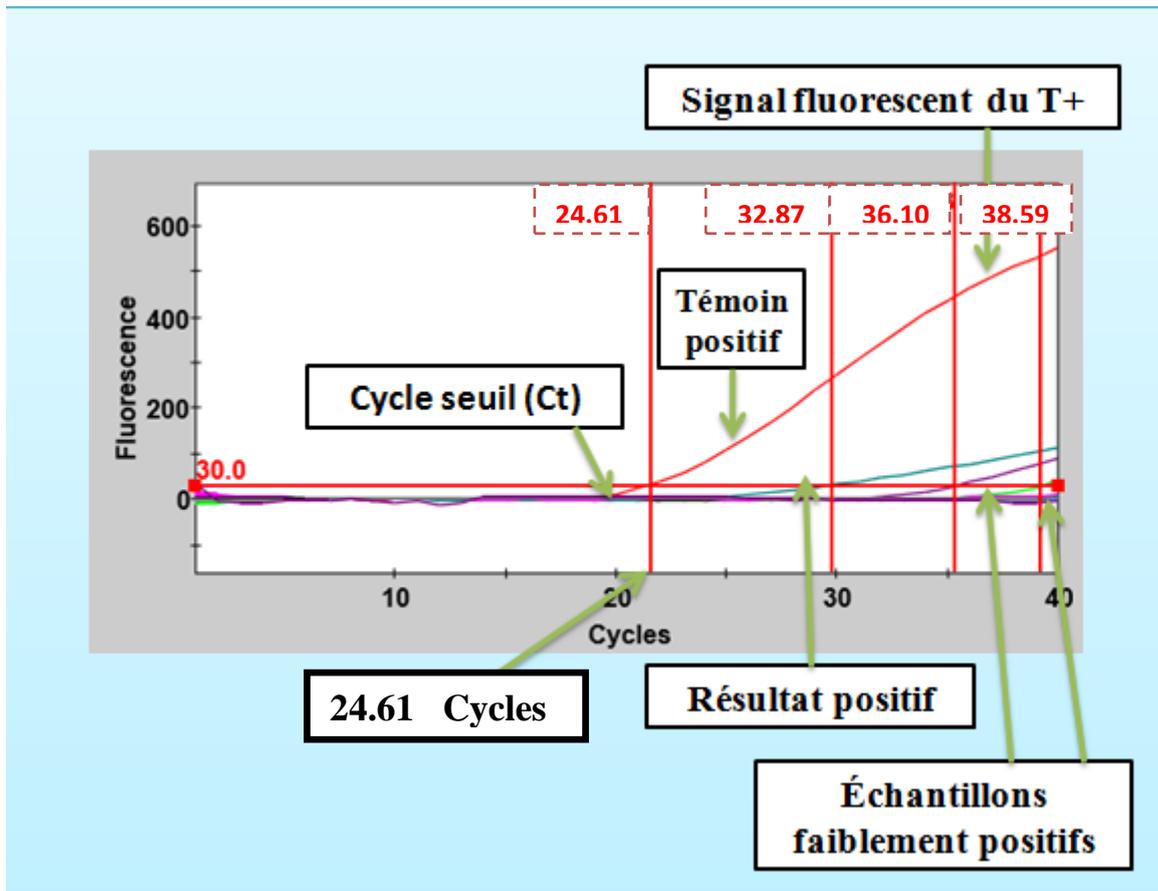


Figure 57 : Tracé de *Babesia sp.* par PCR en temps réel.

* **Interprétation :**

Babesia sp. a été détectée chez 4 tiques dont les espèces sont *Rhipicephalus bursa* et *Rhipicephalus turanicus* les résultats ont été tous positives 100% (4/4).

5.1.4. Résultats de détection d'*Anaplasma phagocytophilum* :

Les résultats ont été tous négatifs.

II .Discussion :

L'étude des espèces de tiques collectées dans la région de Chréa en 2015, nous a permis de mettre la lumière sur les principaux tiques inféodé à la région et de connaître quelques indices écologiques représentés par la richesse totale et moyenne ; l'abondance relative ainsi que le sex-ratio des populations. Les résultats de la PCR en temps réel nous éclairent également sur les différents pathogènes présents au niveau des populations échantillonnées.

II.1. Discussion de l'identification des tiques dans la région de Chréa en 2015 :

La collecte effectuée dans la région d'étude a révélé l'existence de trois espèces de tiques réparties en famille des Ixodidae (*Rhipicephalus bursa* , *Rhipicephalus turanicus* , *Hyalomma detritum detritum*).

Il existe, au cours les deux sorties, des espèces communes, mais aussi des espèces présentes dans la première sortie mais absentes dans la deuxième sortie.

Les résultats de notre étude concordent avec les résultats de **Kernif et al., (2009)** sur une étude faite en Algérie de 2001 à 2009. Nos résultats concordent aussi avec les résultats de **Abdul Hussain et al.,(2004)** qui ont travaillé sur la plaine de Mitidja. Cependant, les travaux de **Boulkaboul, (2003)** sur les bovins à Tiaret et **Benchikh-Elfegoun et al., (2007)** sur les bovins à Jijel, ont pu identifier d'autres espèces tels que : *Dermacentor marginatus* et *Haemaphysalis punctata*.

II.2. Discussion sur la Richesse totale des espèces de tiques collectées à la région de Chréa en 2015 :

Hautier et al., (2003) définissent la richesse comme le nombre d'unités systématiques présentes dans un écosystème donné. L'évaluation de cette dernière montre qu'elle est différente. La richesse totale des espèces des tiques collectées s'élève à 3 espèces. Une valeur proche signalée par **Abdul Hussain et al.,(2004)** dans la plaine de Mitidja dans ses étude sur les bovins, les chiens, les tortues et sur végétation avec une richesse totale de 4 espèces.

Une richesse totale de 9 espèces est signalée par **Laamri et al., (2012)** durant leur étude sur l'identification et la biogéographie des tiques parasites des bovins dans la région du Gharb-Chrarda-Beni Hssen (Maroc). **Benchikh-Elfegoun et al., (2007)** ont signalé une valeur de richesse totale de seulement 5 espèces.

II.3. Richesse moyenne des espèces de tiques collectées à Chréa sur des bovins :

La richesse moyenne des espèces des tiques collectées dans la région de Chréa est 0.75 espèce durant les 04 mois. Une valeur de richesse basse est signalée par **Benchikh-Elfegoun et al., (2007)** dans la région de Jijel qui égale à 0.21 espèce, une richesse moyenne égale à 0.67 espèce a été retrouvé dans une étude faite par **Boulkaboul (2003)**, sur le parasitisme des tiques (Ixodidae) des bovins à Tiaret.

II.4. Fréquences centésimales de différentes espèces des tiques collectées à Chréa :

Les fréquences centésimales des différentes espèces des tiques collectées dans la région de Chréa varient entre 4.61% et 75.38%. Ce sont les *Rhipicephalus bursa* qui dominent en abondance relative, avec un pourcentage de 75.38%, elles sont suivies par les *Rhipicephalus turanicus*, avec 20%, puis l'espèce *Hyalomma detritum* avec 4.61%. Nos résultats concordent avec une étude réalisée par **Abdul Hussain et al., (2004)** qui ont réalisées un inventaire des différentes espèces des tiques Ixodidae dans la plaine de la Mitidja montrait des abondances variant entre 0.82% et 96.13%, *Rhipicephalus sp.* étaient les espèces dominantes en abondance relative avec un pourcentage de 96.13%, suivis par l'espèce *Hyalomma sp.* avec un pourcentage de 1.55%. L'abondance la plus faible enregistré est chez l'espèce *Ixodes sp.* avec un pourcentage de 0.82%. Par ailleurs **Benchikh-Elfegoun et al., (2007)**, dans une recherche sur l'identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de Taher (Jijel), ont trouvé des abondances relatives varient entre 80% et 2.5%, *Boophilus annulatus* était l'espèce la plus abondant avec un pourcentage de 80%, suivis par l'espèce *Rh.bursa* avec un pourcentage de 10% et *H.lusitanicum* avec un pourcentage de 5%, enfin l'espèce *Rh.turanicus* et *H.detritum detritum* avec un pourcentage de 2.5% chacun.

Conclusion et Perspectives

Au cours de ce travail nous avons mis au point des techniques simples, adaptées à l'étude du portage d'ADN d'agents pathogènes par les tiques. Ceci nous a permis d'étudier le portage de plusieurs bactéries et parasites par les tiques Ixodidés en milieu naturel et d'évaluer différents facteurs de risque de transmission de ces agents ainsi que des caractères biologiques déterminant leur cycle naturel. Ainsi nous avons montré la réalité du risque de transmission de *Babesia sp.*, et Spotted Fever Group *Rickettsia sp.*, aussi bien dans les bois que dans les pâtures, à la région de Chréa.

Nous avons montré que le portage de ces agents était dépendant de facteurs comme l'habitat des tiques. Enfin nous avons développé de nouvelles stratégies d'étude du portage de bactéries pathogènes par les tiques en adaptant des techniques de biologie moléculaire innovantes comme la PCR en temps réel. Nous avons montré que cette technique offre des perspectives prometteuses dans ce cadre.

L'étude et la connaissance des phénomènes qui gouvernent la relation tiques-agents pathogènes sont essentielles à la veille dynamique et à l'évaluation du risque représenté par les maladies vectorisées. Le portage de l'ADN des agents pathogènes par les tiques est un bon indicateur épidémiologique. Des études complémentaires sont nécessaires pour appréhender le problème complexe posé par les maladies à tiques.

Des études expérimentales de transmission, permettront de reproduire ce que nous avons cru percevoir dans les cycles naturels et affineront les connaissances en confirmant ou infirmant les hypothèses posées. La mise en place d'un protocole expérimental de transmission des bactéries par les tiques permettra de définir le cycle biologique de cette bactérie. En parallèle, des études de co-transmission avec d'autres agents pathogènes vectorisés permettront de répondre à la question de l'existence de complexes de transmission.

Ces études permettront de définir des indicateurs utiles et souvent manquants, comme la compétence vectorielle des vecteurs pour les différents agents pathogènes.

La connaissance précise du statut médical de la population humaine et animale dans les zones étudiées par rapport aux agents ciblés est également fondamentale et des études doivent être menées en parallèle à toute investigation de portage chez les vecteurs.

Si des études de séroprévalence humaine existent, nous ne disposons pas du même recul en ce qui concerne les animaux domestiques et surtout sauvages. Or, la plupart des maladies infectieuses vectorisées sont des zoonoses possédant un réservoir sauvage. Certaines, comme l'Anaplasmose granulocytaire à *Anaplasma phagocytophilum*, sévissent dans les populations animales domestiques, ont un potentiel infectieux chez l'homme, et pourraient donc émerger à la faveur d'une modification infime de l'environnement. L'étude de telles affections, intimement liées à l'environnement et impliquant de nombreuses espèces animales vertébrées et invertébrées, nécessite une collaboration étroite entre de nombreux corps de métiers, chercheurs, médecins, vétérinaires mais aussi spécialistes de la faune sauvage.

D'autres disciplines comme la géographie, l'écologie et la sociologie doivent également être prises en compte. Il est nécessaire de traiter le maximum d'informations aussi bien formelles qu'informelles et d'évaluer leur degré de pertinence.

Etudes expérimentales et épidémiologiques doivent se nourrir les unes des autres et seule la combinaison de l'ensemble de leurs résultats permettra de comprendre les mécanismes intimes qui régissent la transmission d'agents pathogènes par les tiques et, peut être, un jour, de relever le défi qu'est la prédiction de l'émergence d'une maladie.

Références bibliographie

(A)

1. **Adelson ME, Rao RV, Tilton RC, Cabets K, Eskow E, Fein L, Occi JL, Mordechai E., 2004-** Prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Bartonella* spp., *Babesia microti*, and *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes scapularis* ticks collected in Northern New Jersey. *J Clin Microbiol.*; 42(6):2799-2801.
2. **Aksoy S., 2003-** Control of tsetse flies and trypanosomes using molecular genetics. *Vet Parasitol.*; 25;115(2):125-145
3. **Alexander B., 1995-** A review of bartonellosis in Ecuador and Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* ; 52(4):354-359.
4. **Attal-Badreddine A, 1995-** Contribution à l'étude des insectes du chêne-vert, *Quercus ilex* L., dans le Parc national de chréa. Thèse de Magister, *Inst. Nat; Agro.*, ElHarrach, 97p.
5. **Azad AF, Beard CB., 1998-** Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. *Emerg Infect Dis.*; 4(2):179-186.

(B)

6. **Bagnouls F. et Gausson H., 1953-** Saison sèche et indice xérothermique. *Bull. soc. Nat. De Toulouse*, P293.
7. **Baneth G, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Pappalardo B, Ryan J., 1998-** A survey of tick-borne bacteria and protozoa in naturally exposed dogs from Israel. *Vet Parasitol.*; 74(2- 4):133-142.
8. **Barbet AF., 1995-** Recent developments in the molecular biology of anaplasmosis. *Vet Parasitol.* ; 57(1-3):43-49.
9. **Bellet-Edimo R., 1997-** Importance de la transmission trans-stadiale et de la transmission transovarienne du spirochète *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales : Spirochaetaceae) chez la tique *Ixodes ricinus* (Acari : Ixodidae) dans l'épidémiologie de la borréliose de Lyme. PhD thesis, University of Neuchatel, Neuchatel, Suisse.; 152p.
10. **Belongia E., 2002-** Epidemiology and impact of coinfections acquired from *Ixodes* ticks. *Vector Borne zoonotic Dis.*; 2(4):265-273.

11. **Benchikh-Elfegoun M.C., Benkahla A., Bentounsi B., Bouattour A., Piarroux R., 2007-** Identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de Taher (Jijel) Algérie. *Ann. Méd. Vét.*, 151 :209-214.
12. **Beninati T, Lo N, Noda H, Esposito F, Rizzoli A, Favia G, Genchi C. 2002-** First detection of spotted fever group Rickettsiae in *Ixodes ricinus* from Italy. *Emerg Infect Dis.* 8(9):983-986.
13. **Beninati T, Lo N, Sacchi L, Genchi C, Noda H, Bandi C. 2004-** A novel alpha-Proteobacterium resides in the mitochondria of ovarian cells of the tick *Ixodes ricinus*. *Appl Environ Microbiol.* 70(5):2596-2602.
14. **Bergey DH, Canale-Parola E., Kelly RT. 1984-** : The spirochetes, *In* : *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Baltimore : Williams and Wilkins, 38-70.
15. **Bergey. 2000** : Manual of systematic bacteriology. 2^{ed} : 5vol.
16. **Bermond D, Boulouis HJ, Heller R, Van LG, Monteil H, Chomel BB, Sander A, Dehio C, Piemont Y. 2002-** *Bartonella bovis*, Bermond et al. sp. nov. and *Bartonella capreoli* sp. nov., isolated from European ruminants. *Int J Syst Evol Microbiol.* 52(2):383-390.
17. **Blanco JR, Oteo JA. 2002.** Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 8(12):763-772.
18. **Boukhaboul, A. 2003-** *Etude des tiques (Ixodidae) hôtes des bovins dans la région de Tiaret (Algérie) : Identification et activité parasitaire.* Thèse pour l'obtention de Diplôme de Magister en Biologie, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, 46p.
19. **Boulouis HJ, Chang CC, Henn JB, Kasten RW, Chomel B. 2005.** Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections. *Vet Res.* 36(3):383-410.

- 20. Boulouis HJ, Chomel B. 1999.** Actualité sur les bartonelloses. *Bull Acad Netle Méd.* 183(7):1399-1412.
- 21. Boulouis HJ, Chomel B. 2004.** Infections émergentes à Bartonella. *Rev Prat.* 54(18):1982-1986.
- 22. Bourdeau P. 1993.** Les tiques d'importance vétérinaire et médicale, première partie : principales caractéristiques morphologiques, *Le Point Vétérinaire*, 25 (151), 13-26.
- 23. Bouman E., Zemek R., Dusbabek Radomir Socha F. 1999.** *Sexual behaviour of the sheep tick, Ixodes ricinus.* Proceedings of the 3rd International Conference on urban pests, 255-260.
- 24. Bourdoiseau G., L'hostis M. 1995** – Les babésioses bovines. *Point Vét.*, 27, 33-39.
- 25. Brouqui P, Bacellar F, Baranton G, Birtles RJ, Bjoersdorff A, Blanco JR, Caruso G, Cinco M, Fournier PE, Francavilla E, Jensenius M, Kazar J, Laferl H, Lakos A, Lotric Furlan S, Maurin M, Oteo JA, Parola P, Perez-Eid C, Peter O, Postic D, Raoult D, Tellez A, Tselentis Y, Wilske B. 2004-** ESCMID Study Group on *Coxiella, Anaplasma, Rickettsia and Bartonella*; European Network for Surveillance of Tick-Borne Diseases. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 10(12):1108-1132.
- 26. Brun I. 2000-** Les maladies transmises par les tiques : d'après l'expérience Auvergnate. Thèse de Doctorat en médecine, Université Clermont-Ferrand I, Clermont-Ferrand, France. 213p.
- 27. Brownstein, J.S., Skelly, D.K., Holford, T.R. et Fish, D. 2005-** Forest fragmentation predicts local scale heterogeneity of Lyme disease risk. *Oecologia* **146**, 469-475. doi: 10.1007/s00442-005-0251-9.

28. Bussieras J, Chermette R. 1991- Entomologie vétérinaire (Abrégé de parasitologie vétérinaire, fascicule IV). Service de Parasitologie de l'E.N.V.A : Maisons-Alfort. 163p.

(C)

29. CAMICAS JL, HERVY J, ADAM F & MOREL PC, 1998- Les tiques du Monde (*Acarida, Ixodidea*) : nomenclature stades décrits, hôtes, répartition. *Orstom Paris*: p. 233 pp.

30. Chang YF, Novosel V, Chang CF, Kim JB, Shin SJ, Lein DH.1998- Detection of human granulocytic ehrlichiosis agent and *Borrelia burgdorferi* in ticks by polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest.* 10(1):56-59.

31. Chanourdie E. 2001. Les tiques : Relation morsure-rôle vecteur, Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes, n°38.

32. Chudzinski-Tavassi AM., De-sa PL., Simons SM., Maria DA., Desouza Ventura J., Batista IF., Faria F., Duraes E., Reis EM., Demasi M. 2010A new tick *Kunitz type inhibitor, Amblyomin-X, induces tumor cell death by modulating genes related to the cell cycle and targeting the ubiquitin proteasome system.* *Toxicon*, 2010, 56, 1145-1154.

33. Collares-Pereira M, Couceiro S, Franca I, Kurtenbach K, Schafer SM, Vitorino L, Goncalves L, Baptista S, Vieira ML, Cunha C.2004. First isolation of *Borrelia lusitaniae* from a human patient. *J Clin Microbiol.* 42(3):1316-1318.

34. Collin E. L'anaplasmose bovine. Recueil du colloque Européen Francophone, "Rickettsioses zoonoses et autres arbo-bactérioses-zoonoses", Ploufragan, France. **2003** ; 123- 125.

35. Combes C. 1995. Interactions durables. Ecologie et évolution du parasitisme, Edit. Masson, France. 524 p.

(D)

36. Dajoz R., 1975- *Précis d'écologie*. Ed. Dunod, Paris, 549 p.

37. Dajoz R., 1979- *Précis d'écologie* Ed. Dunod, Paris, 434 p.

38. Dajoz R., 1982- *Précis d'écologie* Ed. Bordas Paris, 503p.

39. Dajoz R., 2000- *Insects and Forest environment. Paris*, Ed. Lavoisier. 668p

40. Dajoz R., 2006- *Précis d'écologie* Ed. Bordas. Paris. 630p.

41. Dalton MJ, Clarke MJ, Holman RC, Krebs JW, Fishbein DB, Olson JG, Childs JE. 1995. National surveillance for Rocky Mountain spotted fever, 1981-1992: epidemiologic summary and evaluation of risk factors for fatal outcome. *Am J Trop Med Hyg.* 52(5):405-413.

42. Daniels, T.J., Falco, R.C. et Fish, D. (2000). Estimating population size and drag sampling efficiency for the blacklegged tick (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* 37(3), 357-363.

43. Davoust B. 2003- Ehrlichioses canines et félines autres que celles à *Anaplasma phagocytophilum*. Recueil du colloque Européen Francophone "Rickettsioses-zoonoses et autres arbobactérioses- zoonoses", Ploufragan, France. 26- 28.

44. Degeilh, B. (2007)- Données fondamentales à la base des mesures préventives. *Médecine et maladies infectieuses*, doi: 10.1016/j.medmal.2006.01.031.

45. Derdakova M, Halanova M, Stanko M, Stefancikova A, Cislakova L, Pet'ko B. 2003- Molecular evidence for *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in *Ixodes ricinus* ticks from eastern Slovakia. *Ann Agric Environ Med.* 10(2):269-271.

46. Des Vignes F, Fish D. 1997- Transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis by host-seeking *Ixodes scapularis* (Acari:Ixodidae) in southern New York state. *J Med Entomol.* 34(4):379-382.

- 47. Dib, L., Azouz, Z. et Bensouilah, M. 2002-** Les tiques des bovins dans l'Est Algérien. Approche taxonomique et distribution spatio-temporelle. *Renc. Rech. Ruminant*, 9 :46.
- 48. Diza E, Papa A, Vezyri E, Tsounis S, Milonas I, Antoniadis A. 2004-** *Borrelia valaisiana* in cerebrospinal fluid. *Emerg Infect Dis.*10(9):1692-1693.
- 49. Don A. 1961-** *Ticks and Disease*. Pergamon, London, 445 p.
- 50. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, Rikihisa Y, Rurangirwa FR. 2001-** Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales : unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *Int J Syst Evol Microbiol.* 51(6):2145-2165.

(E)

- 51. Eichler S, Schaub GA. 2002-** Development of symbionts in triatomine bugs and the effects of infections with trypanosomatids. *Exp Parasitol.* 100(1):17-27.
- 52. Eskow E, Rao RV, Mordechai E. 2001-** Concurrent infection of the central nervous system by *Borrelia burgdorferi* and *Bartonella henselae*: evidence for a novel tick-borne disease complex. *Arch Neurol.* 58(9):1357-1363.
- 53. Estrada-Peña A, Bouattour A, Camicas JL, Walker AR. 2004-** Ticks of domestic animals in the Mediterranean region: a guide to identification of species. University of Zaragoza, ITG Library, Zaragoza, Espagne. 131 pp.
- 54. Euzeby J. 1980-** Babésioses des bovins. In : Protozoologie médicale comparée. Coll. Fondation Rhône Mérieux (Ed.), Lyon, vol. III, Fasc. II, 1-52.

55. Euzéby JP. 1989- *Borrelia burgdorferi* et la maladie de Lyme chez les animaux : revue générale. *Revue Méd Vét.* 140(5):371-388.

(F)

56. Faurie C., Ferra C., Medori P., Devaux J., Hemptinne JL, 2003- *Ecologie approche scientifique et pratique.* Ed. Lavoisier. Paris, 407p.

57. Fialho RF, Stevens L. Male-killing Wolbachia in a flour beetle. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 2000; 267(1451):1469-1473.

58. Fournier PE, Gunnenberger F, Jaulhac B, Gastinger G, Raoult D. 2000a - Evidence of *Rickettsia helvetica* infection in humans, Eastern France. *Emerg Infect Dis.* 6(4):389-392

59. Fournier PE, Tissot-Dupont H, Gallais H, Raoult D. 2000b- *Rickettsia mongolotimonae*: a rare pathogen in France. *Emerg Infect Dis.* 6(3):290-292.

60. Francischetti, Sa-Nunes S A., Mans B., Santos I., Ribeiro J. 2010. *The role of saliva in tick feeding.* *Frontiers in Bioscience*, 14, 2051-2088.

61. Frederic E. 2005. Babésiose bovine à *Babesia divergens*, étude d'un cas d'émergence en Corrèze. Thèse de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. 115p. 5-27.

(G)

62. Gasser AM, Birkenheuer AJ, Breitschwerdt EB. 2001- Canine Rocky Mountain Spotted fever: a retrospective study of 30 cases. *J Am Anim Hosp Assoc.* 37(1):41-48.

63. Goodman, J.L., Dennis, D.T. et Sonenshine, D.E. 2005- *Tick-borne disease of Humans*, Washington DC: ASM Press, 401 p.

64. Gray, J.S. 1985. A carbon dioxide trap for prolonged sampling of *Ixodes ricinus* L. populations. *Experimental and Applied Acarology* **1**(1), 35-44. doi: 10.1007/BF01262198.

(H)

65. Halos L, 2005 - Détection de bactéries pathogènes dans leur vecteur, les tiques dures (Acarien : Ixodidae). Paris-Grignon, L'Institut National Agronomique, 175p.

66. Hart, T. et Shears, P. 1997- *Atlas de poche en microbiologie*. Ed Médecine Science- Flammarion, Paris, pp : 284-286.

67. Hartelt K, Oehme R, Frank H, Brockmann SO, Hassler D, Kimmig P. 2004- Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia* sp.), *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp., and *Babesia* sp. in Southern Germany. *Int J Med Microbiol.* 293(37):86-92.

68. Harvey WT, Salvato P. 2003- Lyme disease: ancient engine of an unrecognised borreliosis pandemic? *Med Hypoth.* 60:742-759.

69. Haydon, D.T., Cleaveland, S., Taylor, L.H. et Laurenson, M.K. 2002- Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases* 8, 1468-1473.

70. Hill CA, Gutierrez JA. 2003- A method for extraction and analysis of high quality genomic DNA from ixodid ticks. *Med Vet Entomol.* 17(2):224-227.

71. Holden K, Boothby JT, Anand S, Massung RF. 2003. Detection of *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in ticks (Acari: Ixodidae) from a coastal region of California. *J Med Entomol.* 40(4):534-539.

72. Hubalek Z, Halouzka J. 1997- Distribution of *Borrelia burgdorferi sensu lato* genomic groups in Europe, a review. *Eur J Epidemiol.* 13(8):951-957.

73. Hubbard MJ, Cann KJ, Wright DJ. 1995- Validation and rapid extraction of nucleic acids from alcohol-preserved ticks. *Exp Appl Acarol.* 19(8):473-478.

74. Huber K. 2010- *Tiques et maladies transmises.* Document INRA, 104 p.

(I)

75. Inokuma H, Raoult D, Brouqui P. 2000- Detection of *Ehrlichia platys* DNA in brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa Island, Japan. *J Clin Microbiol.* 38(11):4219- 4221.

(J)

76. Joncourt G. et Collin E. 2003. L'ehrlichiose bovine dans l'Ouest de la France, de 1999 à 2003. restitution des résultats. Recueil du colloque Européen Francophone "Rickettsioses-zoonoses et autres arbo-bactérioses-zoonoses", Ploufragan, France. 58-111.

(K)

77. Keirans, J.E. 1992- Systematics of the Ixodida (Argasidae, Ixodidae, Nuttalliellidae) : an overview and some problems. *Tick Vector Biology.* p. 1-21.

78. Kernif T., Doumandji S., Bitam I., 2009- La dynamique des tiques (Acari-Ixodidae) en Algérie (2001-2009). XIII^{ème} journée nationale de parasitologie, mycologie, le 19 Novembre 2009 à l'Institut Pasteur d'Algérie, organisée par SAPMM.

79. Kernif, T., Beneldjouzi, A., Yssouf. A., Doumandji, S-E., Parola, P., Raoult, D. et Bitam, I. 2013- La dynamique des tiques (acari-ixodidae) en Algérie et les nouveaux outils d'identification. XVII^{ème} journée nationale de Parasitologie-Mycologie, le 09 Mai 2013 à l'Institut Pasteur d'Algérie, organisée par SAPMM.

- 80. Klompen JSH, Black WC, Keirans JE, Oliver JH. 1996-** Evolution of ticks. *Annu Rev Entomol.* 41:141-161.
- 81. Kocan KM, Hair JA, Ewing SA, Stratton LG. 1981-** Transmission of *Anaplasma marginale* (Theiler) by *Dermacentor andersoni* (Stiles) and *Dermacentor variabilis* (Say). *Am J Vet Res.* 42(1):15-18.
- 82. Kopecky J, Konik P, Slavikova V, Salat J, Reznickova J, Dvoroznakova E, Kyckova K, Chmelar J. 2005-** Immunomodulatory molecules in *Ixodes ricinus* saliva and transmission of *Borrelia burgdorferi*. In proceedings of the Fifth International Conference on Ticks and Tick- Borne Pathogens, Neuchâtel, Suisse 29 08- 02 09 p 69.
- 83. Kordick SK, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Southwick KL, Colitz CM, Hancock SI, Bradley JM, Rumbough R, Mcpherson JT, MacCormack JN. 1999-** Coinfection with multiple tick-borne pathogens in a Walker Hound kennel in North Carolina. *J Clin Microbiol.* (37):2631-2638.
- 84. Kramer VL, Randolph MP, Hui LT, Irwin WE, Gutierrez AG, Vugia DJ. 1999-** Detection of the agents of human ehrlichioses in ixodid ticks from California. *Am J Trop Med Hyg.* 60(1):62-65.
- 85. Kurtti TJ, Munderloh UG, Andreadis TG, Magnarelli LA, Mather TN. 1996-** Tick cell culture isolation of an intracellular prokaryote from the tick *Ixodes scapularis*. *J Invertebr Pathol.* 67(3):318-21.

(L)

- 86. Lakos A. 2002-** Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA). *Wien Klin Wochenschr.* 114(13-14):648-654.

- 87. Lane RS, Steinlein DB, Mun J. 2004-** Human behaviors elevating exposure to *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) nymphs and their associated bacterial zoonotic agents in a hardwood forest. *J Med Entomol.* 41(2):239-248.
- 88. Last, J.M. 1988-** *A dictionary of epidemiology*, 2^{de} edn. New York: Oxford University Press. 141 p.
- 89. Leutenegger CM, Pusterla N, Mislin CN, Weber R, Lutz H. 1999-** Molecular evidence of coinfection of ticks with *Borrelia burgdorferi* sensu lato and the human granulocytic ehrlichiosis agent in Switzerland. *J Clin Microbiol.* 37:3390-3391.
- 90. Levin ML, Fish D. 2000-** Acquisition of coinfection and simultaneous transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* ticks. *Infect Immun.* 68(4):2183-2186.
- 91. Liz JS, Anderes L, Sumner JW, Massung RF, Gern L, Rutti B, Brossard M. 2000-** PCR detection of granulocytic Ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland. *J Clin Microbiol.* 38(3):1002-1007
- 92. Liz JS, Sumner JW, Pfister K, Brossard M. 2002-** PCR detection and serological evidence of granulocytic ehrlichial infection in roe deer (*Capreolus capreolus*) and chamois (*Rupicapra rupicapra*). *J Clin Microbiol.* 40(3):892-897.
- 93. L'hostis M. 1997-** La babésiose bovine à *Babesia divergens* : étude épidémiologique, conséquences et perspectives, *Le Point Vétérinaire*, 28, 35-45.
- 94. Lucey D, Dolan MJ, Moss CW, Garcia M, Hollis DG, Wegner S, Morgan G, Almeida R, Leong D, Greisen KS, et al. 1992-** Relapsing illness due to *Rochalimaea henselae* in immunocompetent hosts: implication for therapy and new epidemiological associations. *Clin Infect Dis.* 14(3):683-688.

(M)

- 95. Magnarelli LA, Dumier JS, Anderson JF. 1995-** Coexistence of antibodies to tick-borne pathogens of babesiosis, ehrlichiosis and Lyme borreliosis in human sera. *J Clin Microbiol.* 33:3054-3057.
- 96. Matthewman L, Kelly P, Hayter D, Downie S, Wray K, Bryson N, Rycroft A, Raoult D. 1997-** Domestic cats as indicators of the presence of spotted fever and typhus group Rickettsiae. *Eur J Epidemiol.* 13(1):109-111.
- 97. Mauel MJ, Carlton SJ, Mather TN. 1999-** Polymerase chain reaction detection efficiency of the human granulocytic ehrlichiosis agent (*Rickettsiaceae: Ehrlichiae*) in ticks (Acari: Ixodidae) is dependent on the DNA extraction method. *J Med Entomol.* 36(6):649-652.
- 98. Meddour- Boudarba, K et Meddour, A. 2006-** Clé d'identification des Ixodina (Acarina) d'Algérie. *Science et Technologie*, 24 :32-42.
- 99. Mitchell PD, Reed KD, Hofkes JM. 1996-** Immunoserologic evidence of co-infection with *Borrelia burdorferi*, *Babesia microti* and human granulocytic Ehrlichia species in residents of Wisconsin and Minnesota. *J Clin Microbiol.*; 34:724-727.
- 100. Mittermayer T, Brezina R, Urvolgyi J. 1980-** First report of an infection with *Rickettsia slovaca*. *Folia Parasitol.*; 27(4):373-376.
- 101. Moulinier C. 2002-** *Parasitologie et mycologie médicale, éléments de morphologie et de biologie.* Editions médicales internationales, Europe Media Duplication, Lassay-les-Chateaux, 796 p.
- 102. Mutin G., 1997-** *La Mitidja, décolonisation et aspect géographique.* Ed. Office presse Universitaire, Alger. 60p.
- (N)
- 103. Needham GR, Teel PD. 1991-** Off-host physiological ecology of ixodid ticks. *Annu Rev Entomol.* 36:659-681.

- 104. Neveu-Lemaire M. 1938-** Traité d'entomologie médicale et vétérinaire, Vigot frères, 349-400.
- 105. Niebylski ML, Peacock MG, Fischer ER, Porcella SF, Schwan TG. 1997-** Characterization of an endosymbiont infecting wood ticks, *Dermacentor andersoni*, as a member of the genus Francisella. *Appl Environ Microbiol.*; 63(10):3933-3940.
- 106. Niebylski ML, Peacock MG, Schwan TG. 1999-** Lethal effect of *Rickettsia rickettsii* on its tick vector (*Dermacentor andersoni*). *Appl Environ Microbiol.*; 65:773-778.
- 107. Nielsen H, Fournier PE, Pedersen IS, Krarup H, Ejlersten T, Raoult D. 2004-** Serological and molecular evidence of *Rickettsia helvetica* in Denmark. *Scand J Infect Dis.*; 36(8):559-
- 108. Nilsson K, Lindquist O, Liu AJ, Jaenson TG, Friman G, Pahlson C. 1999a** - *Rickettsia helvetica* in *Ixodes ricinus* ticks in Sweden. *J Clin Microbiol.* 1999; 37(2):400-403.
- 109. Nilsson K, Lindquist O, Pahlson C. 1999b-** Association of *Rickettsia helvetica* with chronic perimyocarditis in sudden cardiac death. *Lancet.* 1999; 354(9185):1169-1173.
- 110. Noda H, Munderloh UG, Kurtti TJ.1997-** Endosymbionts of ticks and their relationship to Wolbachia spp. and tick-borne pathogens of humans and animals. *Appl Environ Microbiol.*; 63(10):3926-3932.

(P)

- 111. Parola P, Beati L, Cambon M, Brouqui P, Raoult D. 1998a-** Ehrlichial DNA amplified from *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in France. *J Med Entomol.*; 35:180-183.
- 112. Parola P, Beati L, Cambon M, Raoult D. 1998b-** First isolation of *Rickettsia helvetica* from *Ixodes ricinus* ticks in France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*; 17:95-100.
- 113. Parola P, Vestris G, Martinez D, Brochier B, Roux V, Raoult D. 1999-** Tick-borne rickettsiosis in Guadeloupe, The French West Indies: isolation of *Rickettsia africae* from *Amblyomma variegatum* ticks and serosurvey in humans, cattle, and goats. *Am J Trop Med Hyg.*; 60:883-887.
- 114. Parola P, Raoult D. 2001-** Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis.*; 32:897-928.
- 115. Parola P. 2004-** Tick-borne rickettsial diseases: emerging risks in Europe. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.*; 27(5):297-304.
- 116. Perez-Eid C, Gilot B. 1998-** Les tiques : cycles, habitats, hôtes, rôle pathogène, lutte, *Médecine et Maladie Infectieuse*, 1998, 28, 335-343.
- 117. Perez-Eid C. 2007-** Les tiques : Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire, Ed. Lavoisier, Paris, 7-35
- 118. Piesman J, Maupin GO, Campos EG, Happ CM. 1991-** Duration of adult female *Ixodes dammini* attachment and transmission of *Borrelia burgdorferi*, with description of a needle aspiration isolation method. *J Infect Dis.*; 163:895-897.

119. Piesman J, Zeidner NS, Schneider BS. 2003- Dynamic changes in *Borrelia burgdorferi* populations in *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) during transmission: studies at the mRNA level. *Vector Borne Zoonotic Dis.*; 3(3):125-132.

120. Petit Larousse.

(R)

121. Randolph SE, Gern L, Nuttall PA. 1996- Co-feeding ticks: Epidemiological significance for tickborne pathogen transmission. *Parasitol Today.*; 12(12):472-479.

122. Raoult D, Lakos A, Fenollar F, Beytout J, Brouqui P, Fournier PE. 2002- Spotless rickettsiosis caused by *Rickettsia slovaca* and associated with *Dermacentor* ticks. *Clin Infect Dis.*; 34(10):1331-1336.

123. Raoult D, Roux V. 1997- Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clin Microbiol Rev.*; 10:694-719.

124. Raoult D, Renvoisé A., 2009- An update on rickettsiosis. *Medecine et maladies infectieuses*, **39**: p. 71-81.

125. Richter D, Schlee DB, Allgower R, Matuschka FR. 2004- Relationships of a novel Lyme disease spirochete, *Borrelia spielmani* sp. nov., with its hosts in Central Europe. *Appl Environ Microbiol.*;70(11):6414-6419.

126. Rodhain F., Perez C. 1985- Précis d'entomologie médicale et vétérinaire, éd Maloine, Paris, **15** : 342-366

(S)

- 127. Sangioni LA, Horta MC, Vianna MC, Gennari SM, Soares RM, Galvao MA, Schumaker TT, Ferreira F, Vidotto O, Labruna MB. 2005-** Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. *Emerg Infect Dis.*; 11(2):265-270.
- 128. Sanogo YO, Davoust B, Inokuma H, Camicas JL, Parola P, Brouqui P. 2003-** First evidence of *Anaplasma platys* in *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodida) collected from dogs in Africa. *Onderstepoort J Vet Res.*; 70(3):205-212.
- 129. Schouls LM, Van De Pol I, Rijpkema SG, Schot CS. 1999-** Detection and identification of Ehrlichia, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, and Bartonella species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks. *J Clin Microbiol.*; 37(7):2215-2222.
- 130. Schwan TG, Piesman J. 2002-** Vector interactions and molecular adaptations of lyme disease and relapsing fever spirochetes associated with transmission by ticks. *Emerg Infect Dis.*; 8(2):115-21.
- 131. Schwartz I, Fish D, Daniels TJ. 1997-** Prevalence of the rickettsial agent of human granulocytic ehrlichiosis in ticks from a hyperendemic focus of Lyme disease. *N Engl J Med.*; 337:49-50.
- 132. Shaw SE, Birtles RJ, Day MJ. 2001-** Arthropod-transmitted infectious diseases of cats. *J Feline Med Surg.*; 3(4):193-209.
- 133. Simpson RM, Gaunt SD, Hair JA, Kocan KM, Henk WG, Casey HW. 1991-** Evaluation of *Rhipicephalus sanguineus* as a potential biologic vector of *Ehrlichia platys*. *Am J Vet Res.* 1991; 52(9):1537-1541.

- 134. Simser JA, Palmer AT, Munderloh UG, Kurtti TJ. 2001-** Isolation of a spotted fever group Rickettsia, *Rickettsia peacockii*, in a Rocky Mountain wood tick, *Dermacentor andersoni*, cell line. *Appl Environ Microbiol.*; 67(2):546-552.
- 135. Skotarczak B, Wodecka B, Cichocka A. 2002-** Coexistence DNA of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Babesia microti* in *Ixodes ricinus* ticks from north-western Poland. *Ann Agric Environ Med.*; 9:25-28.
- 136. Smith M, Gray J, Granström M et coll. EUCALB 1997-2004.** European Union Concerted Action on Lyme Borreliosis.
- 137. Socolovshi C, Doudier B, Pages F & Parola P. 2008-** Tiques et maladies transmises à l'homme en Afrique. *Med Trop*; 68(2): p. 119-133.
- 138. Sonenshine D.E. 1991-** *Biology of Ticks*. Oxford University Press, New York,, 1991, 447 p.
- 139. Sparagano O. 2002-** *Nouvelle approche dans la vaccination contre les maladies liées aux tiques: le vaccin contre les tiques utilisant des antigènes internes*. *Epidémiologie et santé animale*, 42, 95-98
- 140. Sparagano OA, Allsopp MT, Mank RA, Rijpkema SG, Figueroa JV, Jongejan F. 1999-** Molecular detection of pathogen DNA in ticks (Acari: Ixodidae): a review. *Exp Appl Acarol.*; 23(12):929-960.
- 141. Stanczak J, Gabre RM, Kruminis-Lozowska W, Racewicz M, Kubica-Biernat B. 2004-** *Ixodes ricinus* as a vector of *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in urban and suburban forests. *Ann Agric Environ Med.*;11(1):109- 114.
- 142. Stanek G, Steere F. 2003-** Lyme borreliosis. *Lancet.*; 362 (9396):1639-1647.

- 143. Steen N.A., Barker S.C., Alewood P.F. 2006-** Proteins in the saliva of the *Ixodida* (ticks): Pharmacological features and biological significance. *Toxicon*, **47** :2006 ; 1-20
- 144. Stich RW, Kocan KM, Palmer GH, Ewing SA, Hair JA, Barron SJ.1989-** Transstadial and attempted transovarial transmission of *Anaplasma marginale* by *Dermacentor variabilis*. *Am J Vet Res.*; 50(8):1377-1380.
- 145. Stiller D, Coan ME. 1995-** Recent developments in elucidating tick vector relationships for anaplasmosis and equine piroplasmiasis. *Vet Parasitol.*; 57(1-3):97-108.
- 146. Suksawat J, Xuejie Y, Hancock SI, Hegarty BC, Nilkumhang P, Breitschwerdt EB. 2001-** Serologic and molecular evidence of coinfection with multiple vector-borne pathogens in dogs from Thailand. *J Vet Intern Med.*; 15(5):453-462.

(T)

- 147. Toma, B., Bénet, J.-J., Dufour, B., Eloit, M., Moutou, F. et Sanaa, M. 1991-** *Glossaire d'épidémiologie animale*, Maisons-Alfort, France: Editions du Point Vétérinaire, 365 p.

(V)

- 148. Valenzuela J.G. 2004-** Exploring tick saliva : from biochemistry to 'sialomes' and functional genomics. *Parasitology*,; 129 : 83-94.

(w)

- 149. Welburn SC, Maudlin I. 1999-** Tse-tse trypanosome Interactions : Rites of Passage. *Parasitology Today.*; 15(10):399-403.

- 150. Welch DF, Carroll KC, Hofmeister EK, Persing DH, Robison DA, Steigerwalt AG, Brenner DJ. 1999-** Isolation of a new subspecies, *Bartonella vinsonii subsp. arupensis*, from a cattle rancher: identity with isolates found in conjunction with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* among naturally infected mice. *J Clin Microbiol.*; 37(8):2598-2601.
- 151. Weller SJ, Baldrige GD, Munderloh UG, Noda H, Simser J, Kurtti TJ. 1998-** Phylogenetic placement of Rickettsiae from the ticks *Amblyomma americanum* and *Ixodes scapularis*. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(5):1305-1317.

ANNEXE IV: Matériels non biologique utilisés :

✓ Appareillages



Hotte à flux laminaire



Bain à sec



vortex



Hotte Biocap



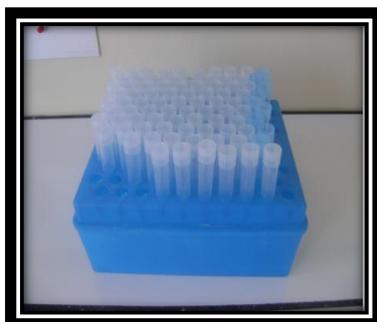
mini centrifugeuse



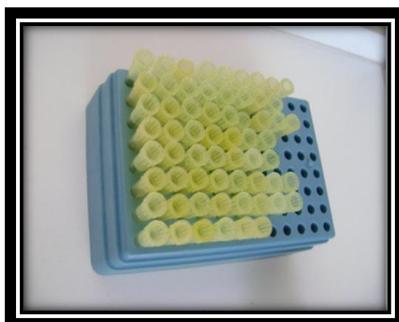
Loupe binoculaire



Tubes Eppendorf



Embouts bleu



Embouts jaune



Tubes Smart Cycler



Micropipettes



Smart Cycler

✓ Réactifs :



Kit pour PCR



Sonde fluorescente

ANNEXE I :

Taxonomie des Spirochètes (**Bergey et al., 1984, Euzeby, 1989**).

ORDRE DES SPIROCHAETALES

Protistes unicellulaires de morphologie hélicoïdale, mobiles, de 0,1-3 µm de diamètre et 5-500 µm de longueur.

La structure externe est constituée d'une enveloppe élastique souple, homologue de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, délimitant le cylindre protoplasmique constitué de l'extérieur vers l'intérieur du feuillet de peptidoglycane associé à la membrane cytoplasmique, du cytoplasme et du matériel nucléaire.

L'appareil locomoteur est constitué de 2 à plus de 100 flagelles péripasmiques compris entre l'enveloppe et le feuillet de peptidoglycane, inséré sur un corpuscule basal à chaque extrémité du cylindre protoplasmique, et cheminant librement en direction de l'autre extrémité. Cela confère aux Spirochètes une motilité dans des milieux liquides de viscosité élevée, ou au contraire sans aucun appui sur le milieu environnant. Les mouvements permis sont de 3 sortes : rotation, translation et flexion.

Enfin, ce sont des Bactéries à Gram négatif, chimio-organotrophes, et qui peuvent être anaérobies, aéro-anaérobies facultatives, micro-aérophiles ou aérobies.

Leur GC% est compris entre 25 et 65%

Famille des *Spirochaetaceae*

Bactéries de 0,1-3 µm de diamètre, aux extrémités non recourbées en crochets ; anaérobies, aéro-anaérobies facultatives, micro-aérophiles ; l'acide aminé présent dans le peptidoglycane est l'ornithine. Les principaux genres sont les suivants :

Genre *Spirochaeta* : Spirochètes libres des boues, pouvant être très longs (500µm), dont l'organe locomoteur s'enroule dans un pas de vis de sens contraire à celui du cylindre protoplasmique.

Genre *Cristispira* : Spirochètes géants de la tige cristalline ou du fluide digestif des mollusques bivalves, possédant un volumineux organe locomoteur constitué de nombreux flagelles.

Genre *Treponema* : Spirochètes saprophytes ou parasites de la bouche, du tractus digestif ou génital de l'Homme et des animaux, d'un diamètre allant de 0,12 à 0,25 µm. L'appareil locomoteur est constitué de plus de deux flagelles enroulés autour du cylindre protoplasmique dans un pas de vis inversé, et se chevauchant d'une extrémité à l'autre voire pouvant même dépasser l'extrémité de la cellule. *T.pallidum* est l'agent de la syphilis chez

l'Homme.

Genre *Serpulina* : Spirochètes apparentés aux Tréponèmes, comprenant l'agent de la dysenterie hémorragique du porc.

Genre *Borrelia* : Spirochètes parasites transmises par des arthropodes vecteurs aux Mammifères et aux Oiseaux, 0,2-0,5 µm de diamètre et 3-20 µm de longueur, elles présentent de 7 à 30 flagelles. Elles comprennent les agents des fièvres récurrentes à tiques et de la maladie de Lyme.

Famille des *Leptospiraceae*

Bactéries de 0,1 µm de diamètre, aux extrémités recourbées en crochets, aérobies, dont l'acide aminé présent dans le peptidoglycane est l'acide diaminopimélique.

Genre *Leptospira* : ne comprend que deux espèces mais subdivisées en de nombreux sérotypes, *L. biflexa* saprophyte des sols humides ou des eaux et *L. interrogans* pathogène pour l'Homme et les animaux. Ce sont de petits Spirochètes difficilement visibles et colorables. Le pas de vis est serré, et l'organe locomoteur est constitué de deux fibrilles rigides rectilignes ou curvilignes dénommées axostyles. L'enveloppe et la paroi sont fragiles et se lysent très rapidement.

Genre *Leptonema* : pas d'agents pathogènes reconnus.

ANNEXE II :

Répartition, vecteurs, hôtes mammifères et pouvoir pathogène des différentes espèces de
Borrelia burgdorferi s.l (Euzéby, 2005 ; Parola et Raoult, 2001).

Bactérie	Hôte	Vecteur	Pathologie	Répartition géographique
<i>B.afzelii</i>	Réservoir principal : Rongeurs	<i>I.persulcatus</i> en Asie, <i>I.ricinus</i> en Europe	Borréliose de lyme : Lésions cutanées tardives de l'acrodermatite chronique atrophiante	Europe Asie
<i>B.andersonii</i>		<i>I.dentatus</i>	Non pathogène	Amérique du Nord
<i>B.bissetii</i>		<i>I.pacificus</i> <i>I.scapularis</i> <i>I.spinipalpis</i>	Non pathogène	Amérique du Nord
<i>B.burgdorferi sensu stricto</i>		<i>I.pacificus</i> et <i>I.scapularis</i> au U.S.A <i>I.ricinus</i> en Europe <i>I.luriae</i> au Suède	Borréliose de Lyme : Arthrites	Europe Amérique du Nord
<i>B.garinii</i>	Réservoir principal :Oiseaux	<i>I.ricinus</i> en Europe <i>I.persulcatus</i> en Asie	Borréliose de Lyme : manifestations neurologiques	Europe (espèce la plus fréquente) Asie
<i>B.japonica</i>		<i>I.ovatus</i>		Japon
<i>B.lusitaniae</i>		<i>I.ricinus</i>	Récemment identifiée chez un patient présentant des symptômes de neuroborréliose (Diza et al., 2004)	Europe Amérique du Nord
<i>B.spielmani</i>	Muscardin	<i>I.ricinus</i>	Borréliose de Lyme (Richter et al., 2004)	Europe
<i>B.tanukii</i>		<i>I.tanuki</i>	Non pathogène	Japon
<i>B.turdi</i>		<i>I.turdi</i>	Non pathogène	Japon
<i>B.valaisiana</i>		<i>I.columnae</i> en Asie <i>I.nipponensis</i> en Asie <i>I.ricinus</i> en Europe	Identifiée chez un patient présentant des lésions cutanées (Collares- Pereira et al., 2004)	Europe Chine, Corée, Taiwan, Japon
<i>Candidatus B.texasensis</i>	??????	<i>D.variabilis</i>	Non pathogène	Amérique du Nord

ANNEXE III :

Bactérie	Ancienne dénomination	Tropisme cellulaire	Hôte mammifère	Vecteur	Pathologie	Répartition géographique
<i>A.marginale</i>	Appartiennent depuis toujours au genre <i>Anaplasma</i>	Globules Rouges	Bovins grands ruminants (cervidés, camélidés). ovins, caprins (infection inapparente).	<i>I.ricinus</i> <i>R.sanguineus</i> <i>R.bursa</i> Tabanidés (Transmission mécanique).	maladie sévère des bovins de 1 à 3 ans forte poussée thermique (40-41° C) affaiblissement, amaigrissement rapide, constipation. Anémie, ictère. évolution plus ou moins rapide vers la mort guérison possible mais convalescence longue.	endémique en zone tropicale et subtropicale répartition mondiale
<i>A.ovis</i>			Ovins, caprins		Peu pathogène	
<i>A.centrale</i>			Bovins		Peu pathogène	
<i>A.caudatum</i>			Bovins		Peu pathogène	
<i>A.bovis</i>	« <i>Rickettsia bovis</i> », « <i>Ehrlichia bovis</i> »	Phagocytes mononucléés	Bovins Autres mammifères	H .excavatum, R.appendiculatus A. variegatum A. cajennense H. truncatum	Rickettsiose générale bovine : en générale bénigne mais mort possible en zone tropicale hyperthermie, abattement anorexie, dyspnée, parfois toux sèche et quinteuse, tachycardie et diarrhée	Afrique Amérique du Sud Iran Inde
<i>A .platys</i>	<i>Ehrlichia platys</i>	plaquettes : (jamais retrouvé dans d'autres cellules)	Chien autres mammifères ?	<i>R. sanguineus</i>	thrombopénie infectieuse cyclique du chien : fièvre, adénopathie généralisée, leucopénie et anémie modérée, surtout thrombopénie succède tous les 7	USA, Venezuela, Asie Israël, Australie Europe : notamment Espagne Grèce, France Allemagne Italie.

à 21 jours.

Espèce	Ancienne dénomination	Tropisme cellulaire	Spécificité de biovar	Hôte ou mammifère	vecteur	Pathologie	Répartition géographique
<i>A. phagocytophilum</i>	<i>Ehrlichia Phagocytophilum</i> HEG agent <i>Ehrlichia equi</i>	granulocytes polynucléés	- différences de : - séquences des ARNr 16S des souches de <i>A. phagocytophilum</i> - caractères biologiques (spectre d'hôtes, pouvoir pathogène) - répartition géographique	mammifères domestiques et sauvages les réservoirs identifiés sont des rongeurs et des cervidés sauvages	tiques du genre <i>Ixodes</i>	Voir spécificité des biovars	Voir répartition spécifique des biovars
			<i>A. phagocytophilum</i> biovar <i>Phagocytophilum</i>	Ruminants ovins bovins Cervidés	<i>I. ricinus</i>	*chez les ovins : "fièvre à tiques" *chez les bovins : « fièvre des pâturages ou maladie des gros paturons : fièvre élevée, anorexie, perte de poids et chute de la production lactée. œdème froid du tarsométatarses les moutons infectés porteurs jusqu'à 02 ans portage plus bref chez les bovins	Europe : -Royaume Uni. - Norvège. -Finlande. -Suède. -Irlande. -Pays Bas. -Autriche. -Allemagne. -France. -Espagne. -Suisse. Inde Afrique du Sud

			<p><i>A. phagocytophilum</i> biovar <i>Equi</i></p>	Equidés	<p>I. pacificus</p> <p>I. scapularis</p> <p>I. ricinus</p>	<p>Ehrlichiose granulocytaire équine : fièvre (37,8 à 41,6 °C) anorexie, léthargie, œdèmes des membres, ataxie, ictère, pétéchies, adénopathies, thrombocytopénies leucopénies</p>	<p>USA</p> <p>Canada</p> <p>Brésil</p> <p>Royaume Uni</p> <p>Allemagne,</p> <p>Suisse</p> <p>Suède</p> <p>Israël.</p>
--	--	--	---	---------	--	--	---

ANNEXE V :

Matériel de Laboratoire :

*Pour l'identification des tiques on a utilisées :

- Des gants
- Des pinces
- Des boites de pétri
- Loupe binoculaire
- Clé d'identification
- Alcool
- L'eau de javel

*Matériel pour réaliser la PCR :

- Pincés
- Aiguille
- Boites de pétri
- L'eau distillée
- Des tubes Eppendorff
- Portoir
- Pipette
- Bain a sec
- Agitateur
- Centrifugeuse
- Hotte
- Réfrigérateur

-Les gants et la blouse

Matériel den collecte :

Pour obtenir les tiques on a utilisés :

-Des pinces

-Drapeau blanc

-Des tubes

-Alcool

-Des étiquettes

-Marqueurs

-Sachets plastique

-Désinfectant