



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université SAAD DAHLAB Blida**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie et Physiologie Cellulaire**  
**Laboratoire de Recherche de Biotechnologie Environnement et Santé**

Mémoire de Fin d'études  
En vue de L'obtention du diplôme de Master En Biologie  
Option : Biochimie



---

***ETUDE DES PARAMETRES SERO-  
BIOCHIMIQUES DE LA POPULATION DE  
LA REGION DE MEFTAH AINSI QUE LA  
CIRCULATION DES PHLEBOVIRUS***

---



Présenté Par :  
**Mlle. AMRANI Asma**  
**Mlle. MELLOUT Roufaïda**  
**Mr. HADDOUCHE Aness**

President de jury:	<b>Pr SAIDI. F</b>	<b>Prof</b>	<b>USDB.1</b>
Examinatrice :	<b>Dr TOUAIBIA .M</b>	<b>MCB</b>	<b>USDB.1</b>
Promotrice :	<b>Dr KHALDI. A</b>	<b>MAA</b>	<b>IPA</b>
Co-Promotrice:	<b>Dr ABDUL HUSSEIN. A.S</b>	<b>MCB</b>	<b>USDB.1</b>

2018-2019

# Remerciements

*Le présent travail est le résultat d'un soutien permanent et de nombreux encouragements d'un collectif de personnes que nous tenons à remercier amplement*

*Nos vifs remerciements s'adressent à **Professeur SAIDI Fairouz**, de l'université de Blida 1, qui a accepté de présider le jury de ce mémoire. Nous tenons à la remercier chaleureusement d'avoir bien veillé au bon déroulement de notre formation de post-graduation.*

*Nous exprimons nos profondes gratitudees à **DrTOUAIBIA Meriem** qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail .*

*Plus particulièrement **Dr KHALDI Aldjia** et **Dr ABDULHUSEIN Alia. S** qui ont accepté de nous encadrer, nous les remercions pour leurs encouragements, leurs conseils précieux et le temps qu'elles nous a consacré.*

*Nous tenons a remercier aussi **KHARDINE Faiz, KADJAR fatine et Housseem** pour leurs aides et surtout leurs encouragements.*

*Nous tenons à remercier également **Mme BOUSOIR** chef de paillasse de Microbiologie d'EPH Meftah de nous avoir ouvert les portes de son laboratoire pour la collecte des sérums*

*Merci à toutes personnes malades qui ont bien voulu répondre à nos questions dans le cadre de notre enquête*

*Nous tenons à remercier infiniment nos familles « **AMRANI et MELLOUT et HADDOUCHE** »*

*A la fin, Nous ne pouvions achever nos remerciements sans une pensée particulières à nos chers parents qui ont fait de nous ce que on est aujourd'hui : « On ne vous remerciera jamais assez... »*

# Table de Matières

Remerciement	
Table de matière	
Liste des figures	
Listes des tableaux	
Listes des abréviations	
Résumé	
Introduction .....	1
<b>I. CHAPITRE I : Partie bibliographique</b>	
1. Agent étiologique « Phlébovirus » .....	2
1.1. Historique .....	2
1.2. Classification.....	2
1.3. Morphologie.....	3
1.4 Caractéristiques Antigéniques .....	4
2. Epidémiologie.....	5
2.1. Cycle épidémiologique .....	5
2.2. Réservoir.....	5
2.3. Vecteurs « Les Phlébotomes » .....	6
2.4. Modes de transmission .....	7
2.5. Données Epidémiologiques des infections à Phlébovirus.....	7
• Dans le monde.....	7
• En Algérie.....	9
3. Suivi des paramètres séro-biochimiques des infections à <i>phlébovirus</i> .....	10
3.1. Marqueurs sérologiques.....	10
3.2. Marqueurs biochimiques.....	11
• L'hémogramme .....	11
• Les paramètres biochimiques.....	12
4. Aspects cliniques des infections à <i>Phlébovirus</i> .....	12

4.1.	Forme bénigne.....	12
4.2.	Forme encéphalique.....	12
5.	Identification biologique des infections à <i>Phlébovirus</i> .....	13
5.1.	Identification biologique non spécifique.....	13
5.2.	Identification biologique spécifique .....	13
	• Prélèvement-Transport .....	13
5.2.1.	Identification par détection de l'agent pathogène : Diagnostique directe.....	13
	• Isolement du virus .....	13
	• Détection du virus .....	13
5.2.2.	Identification Sérologique : Diagnostique Indirecte.....	14
	• Principe de la technique ELISA indirect « maison » .....	14

## II. CHAPITRE II :Materiels et methodes

1.	Présentation de l'étude.....	15
1.1.	Cadre et lieu d'étude.....	15
1.2.	Zone d'étude-Points d'enquêtes .....	15
1.3.	Présentation de l'échantillonnage.....	16
1.4.	Questionnaire d'enquête .....	16
1.5	Matériel .....	16
1.6	Méthodes .....	16
1.6.1	La collecte des échantillons.....	16
1.6.2	Epreuve sérologique.....	16
a)	Inactivation des sérums.....	16
b)	Technique ELISA indirecte .....	17
	• Principe.....	17
	Calcul Statistique .....	20

## III. CHAPITRE III : Résultats et Discussion

1.	Distribution de l'échantillon en fonction du sexe .....	22
	• Répartition des patients selon le sexe et l'âge.....	22

2. Distribution de la population en fonction de l'habitat (Rurale ou Urbain), Stagnation d'eau, présence de moustiques.....	23
• Répartition des patients selon l'habitat (Rurale ou Urbain, Présence de stagnation d'eau ou pas) .....	23
• Répartition des patients selon la présence des moustiques ou pas .....	24
3. Distribution de la population en fonction de Présence des Ac anti- <i>Phlébovirus</i> (séropositif, séronégatif).....	25
4. Distribution du statut sérologique en fonction de sexe.....	26
5. Distribution des résultats sérologiques en fonction de l'habitat (Rurale ou Urbain), Stagnation d'eau, présence de moustiques.....	26
• Répartition des résultats sérologiques selon l'habitat (Rurale ou Urbain, Présence de stagnation d'eau ou pas) .....	26
• Répartition des résultats sérologiques selon la présence des moustiques .....	27
6. Distribution des paramètres biologiques chez les patients .....	28
7. Corrélation des paramètres biochimiques et statut immunitaire séropositif. ....	32
IV. Discussion.....	37
1. Aspects généraux .....	37
2. Aspects sérologiques.....	37
3. Aspects Biochimiques.....	41
V. <b>Conclusion</b>	
VI. Références.....	44
VII. Annexe A : Matériel .....	
1. Appareillage.....	
2. Réactifs .....	
3. Préparations des Solutions :.....	
VIII. Annexe B : Les fiches .....	
IX. Annexe C : Les tableaux des études statistiques.....	

# Liste des Figures

Figure 1 : Classification des Phlébovirus (Gaudreault, N et Al, 2018) .....	3
Figure 2 : Morphologie des Phlébovirus (viral zone, 2018).....	4
Figure 3 : Cycle de transmission des Phlébovirus (Originale,2019).....	5
Figure 4 : Morphologie générale d'un phlébotome adulte (Bounamous, 2010) .....	6
Figure 5 : Cycle de reproduction des Phlébotomes (Marchal B et Toucas G,2011).....	6
Figure 6 : Distribution des Phlébovirus portés par les phlébotomes en Europe (A) (Alkan et al.,2013)	8
Figure 7 : Distribution des Phlébovirus portés par les phlébotomes en Nord d'Afrique (Alkan et al.,2013).....	10
Figure 8 : La cinétique sérologique des infections à Phlébovirus (Rodhain ,2001).....	11
Figure 9 : Illustration de la méthode d'ELISA indirecte (Sánchez-Vizcaíno et al., 2005).....	15
Figure 10 : Représentation géographique de la région de Meftah, BLIDA (google maps, 2019).....	15
Figure 11 : Réaction de la révélation substrat/Peroxydase (Originale,2019). .....	19
Figure 12: Pourcentage de patients en fonction du sexe dans la région de Meftah .....	22
Figure 13 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge.....	23
Figure 14 : Répartition des patients selon l'habitat . .....	25
Figure 15 : Répartition des patients selon la présence ou l'absence des moustiques.....	26
Figure 16 : Répartition des patients en fonction de la présence des AC anti-phlébovirus .....	27
Figure 17 : Répartition des patients en fonction du statut sérologique et su sexe. ....	27
Figure 18 : Répartition des résultats sérologiques en fonction de l'habitat. ....	30
Figure 19 : Répartition des résultats sérologiques en fonction de la présence de moustiques .....	31
Figure 20 : Répartition des patients en fonction des activités sériques des enzymes hépatiques.....	31
Figure 21: Répartition des patients selon leurs résultats de l'Hémogramme.....	
Figure 22: Répartition des patients en fonction des activités sériques des paramètres biochimiques....	
Figure 23: Répartition des moyennes de HGB en fonction de statut immunitaire	

Figure 24: Répartition des moyennes de GB en fonction de statut immunitaire

Figure 25: Répartition des moyennes de Lym en fonction de statut immunitaire

Figure 26: Répartition des moyennes de PLT en fonction de statut immunitaire

Figure 27: Répartition des moyennes de ALAT en fonction de statut immunitaire

Figure 28: Répartition des moyennes de ASAT en fonction de statut immunitaire

Figure 29: Répartition des moyennes de Gly en fonction de statut immunitaire

Figure 30: Répartition des moyennes de Urémie en fonction de statut immunitaire

# Liste des Tableaux

Tableau I : Schéma d'une microplaque (96 cupules) .....	18
Tableau II : Distribution des paramètres biologiques chez les patients.....	23
Tableau III: Résultats de test de la Corrélation des paramètres biochimiques et statut immunitaire séropositif.....	25



# Liste des Abréviations

**AG** : Antigène

**ASAT** : Aminotransférase

**ALAT** : Alanine Aminotransférase

**CI** : Contrôle Interne

**CP** : Contrôle Positive

**CN** : Contrôle Négative

**DO** : Densité Optique

**ELISA** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

**EPH** : ETABLISSEMENT PUBLIC HOSPITALIER

**GB** : Globules Blancs

**Gly** : Glycémie

**HGB** : Hémoglobine

**IPA** : Institut pasteur d'Alger

**IgG** : Immunoglobuline G

**IgM** : Immunoglobuline M

**Lym** : Lymphocytes du sang

**Ph** : Phlébovirus

**PBS**: Phosphate-Buffered Saline

**PBST**: Phosphate-Buffered Saline Tween 20.

**PSM** : Poste de sécurité microbiologique

**PLT** : Plaquettes du sang

**PAL** : Phosphates alcalines

**PCR-RT** : Reverse transcriptase polymérase chaîne réaction

**TOSV** : Virus Toscana

**TMB** : Tétraméthyl Bénézidine

**SFNV** : Virus de la fièvre de Naples *Sandfly Fever Naples Phlébovirus*

**SFSV** : Virus de la fièvre de Sicilian *Sandfly Fever Naples Phlébovirus*

**Sur** : Surnageant

## Résumé

---

Les Phlébovirus sont présents dans toutes les régions du globe. Certains Phlébovirus transmis par les phlébotomes provoquent une maladie fébrile et des infections du système nerveux central entre les mois d'Avril et Octobre.

Le présent travail a pour objectif d'évaluer la séroprévalence des Phlébovirus des prélèvements testés, par le biais de la technique ELISA indirecte maison dans la région de Meftah (Wilaya de Blida). De plus, cette étude nous a permis d'établir un éventuel lien entre les paramètres sérologique et biochimique.

Au terme de cette étude expérimentale, les principaux résultats obtenus montrent une séroprévalence positive de 35.77%, la majorité des patients étant alors non immunisées. Or, le contact avec les moustiques est un facteur extrêmement favorisant.

Sur le plan biochimique, le statut séropositif des sérums testés n'a pas mené à un résultat conséquent qui nous permis de déduire la présence d'une éventuelle corrélation entre les deux aspects de diagnostic.

En conclusion, les tests biochimiques malgré leurs importances, elles restent non spécifiques par rapport au sérologique, qui est d'une importance indéniable.

**Mots clés :** *Phlebovirus*, Phlébotomes, Séroprévalence, ELISA indirecte, sérologie, biochimie, Meftah.

تتواجد الفليبو فيروسات في جميع مناطق العالم. والتي تنتقل بواسطة الفليبوتوم (نوع من البعوض)، هذا الفيروس يسبب مرض الحمى والتهابات الجهاز العصبي المركزي بين شهري أبريل وأكتوبر.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الانتشار المصلي للفليبوفيروسات من العينات التي تم اختبارها باستخدام تقنية اليزا الغير مباشرة في منطقة مفتاح (ولاية البليدة). بالإضافة إلى ذلك، سمحت لنا هذه الدراسة بإقامة صلة ممكنة بين المتغيرات المصلية والبيوكيميائية

في نهاية هذه الدراسة التجريبية، أظهرت النتائج الرئيسية التي تم الحصول عليها وجود نسبة مصلية إيجابية بلغت نسبة 35.77 بالمائة وكان اغلبية المرضى غير محصنين. ومع ذلك، فإن الاتصال مع البعوض عامل مدعم للغاية من وجهة نظر بيوكيميائية، لم يؤد التحويل المصلي للعينات التي تم اختبارها إلى نتيجة ثابتة سمحت لنا باستنتاج وجود علاقة محتملة بين جانبي التشخيص

في الختام، بالرغم من أهمية الاختبارات البيوكيميائية، إلا انها تظل غير محددة فيما يتعلق بالاختبارات المصلية التي لا يمكن إنكارها

**الكلمات المفتاحية:** فليبوفيروس - فليبوتوم، الانتشار المصلي، اليزا غير مباشرة، الأمصال، البيو كيمياء، مفتاح

## Abstract

Phleboviruses are present in all regions of the globe. Some phlebotomine-transmitted Phleboviruses cause febrile illness and infections of the central nervous system between the months of April and October.

The aim of this study is to evaluate the seroprevalence of Phleboviruses from the samples tested, using the indirect ELISA technique in the Meftah region (Wilaya de Blida). In addition, this study allowed us to establish a possible link between the serological and biochemical parameters.

At the end of this experimental study, the main results obtained show a positive seroprevalence of 35.77%, most of the patients then being non-immunized. However, contact with mosquitoes is an extremely favorable factor.

From a biochemical point of view, the seroconversion of the sera tested did not lead to a consistent result which allowed us to deduce the presence of a possible correlation between the two aspects of diagnosis.

In conclusion, biochemical tests despite their importance, they remain non-specific in relation to the serological, which is of undeniable importance.

**Key words:** Phlebovirus, Phlebotomine, Seroprevalence, indirect ELISA, serology, biochemistry, Meftah

## ***Introduction***

Les arbovirus (virus transmis par des arthropodes) sont classés parmi les agents infectieux émergents les plus importantes (**Gulber, 2001**). Ils sont transmis à l'homme et aux animaux lors d'un repas sanguin des vecteurs arthropodes hématophages infectés (les moustiques, les phlébotomes, les tiques et les mouches). Récemment dans le monde, il a été découvert qu'un nombre significatif de ces arbovirus sont transmis par les Phlébotomes. Ces virus appartiennent à la famille des *Bunyaviridae*, au genre *Phlébovirus* incluant deux types de séro-complexes connus à savoir *Sandfly Fever Naples* et *Salehabad* ainsi que d'autres séro-complexes tentatifs comme *Sandfly Fever Sicilian* (**Alwasouf, 2015**). Ils définissent ce qui est communément appelé le groupe des « fièvres à phlébotomes » ou encore « fièvres des trois jours » (**Izri et al., 2006**).

Toscana virus qui appartient au séro-complexe *Sandfly Fever Naples* est le plus étudié chez les patients présentant des fièvres neurologiques, son rôle majeur comme étiologie de méningites aseptiques estivales a été démontré non seulement en Italie mais également en Espagne, au Portugal, en France, en Turquie et dans le Maghreb. Il est actuellement l'arbovirus le plus prévalent en Europe et dans le bassin méditerranéen (**Depaquit et al., 2010**) il est classé comme la 3<sup>ème</sup> cause de méningites estivales (**Nicoletti et al., 1991**).

En Algérie, peu de données sont disponibles concernant la circulation de ces virus chez l'homme et le vecteur, dans la région du kabylie (Tizi-Ouzou) le virus Toscana a été isolé à partir de phlébotomes (**Alkan et al., 2015**). D'autres *phlébovirus* ont été détectés tel que le *SFSV-like* détecté chez *Ph. Ariasi* (**Izri et al., 2008**) et *SFNV-like* détecté chez *Ph. Papatasi* mâle (**Moureau et al., 2010**). Ainsi, les derniers rapports de l'Institut Pasteur d'Algérie, montrent une circulation du Toscana virus dans la wilaya de Tizi-ouzou avec un taux de séroprévalence de 40% chez la population étudiée (Année 2017, les régions de Ouadhia et Oucif). Une étude antérieure a été faite dans la région de Meftah (Wilaya de Blida) en 2018 sur la circulation des Phlébotomes, les résultats de cette étude ont montré que sur 28 pools testés un seul pool positif a été détecté qui correspond à une souche de « Punique virus » membre du complexe Naples.

Afin de compléter les résultats déjà obtenus, dans notre travail on s'est intéressé à la circulation des *Phlébovirus* chez la population de Meftah ou un *Phlébovirus* a été déjà détecté, par le biais d'une enquête séro-biochimique qui vise à évaluer la prévalence des *Phlébovirus* dans cette région et en deuxième lieu d'établir un lien entre ces deux paramètres.

## 1. Agent étiologique « *Phlébovirus* »

### 1.1. Historique

Les Phlébovirus peuvent causer un large éventail de symptômes, allant de la maladie fébrile légère à la fièvre hémorragique et à la mort (Boshra et al., 2011).

Le virus Toscana fortement neurotrope (TOSV) a été isolé en Italie la première fois en 1971 à partir du *Phlebotomus perniciosus* essentiellement (Fontenille, 2013).

Ce n'est que 15 ans plus tard que les premiers cas d'infection à TOSV ont été signalés chez des voyageurs de retour qui avaient visité la région où le TOSV avait été initialement décrit (Calisher, 1987).

C'était une première preuve de sa pathogénicité humaine devant une infection neuro-invasive des citoyens suédois et américains après leurs séjours, respectivement, en Portugal et Italie (Calisher, 1987 et Ehrnst, 1985).

C'est la principale cause de méningite ou de méningo-encéphalite durant la saison estivale dans les pays riverains de la mer Méditerranée (Tesh, 1988). Le virus de la fièvre de (SFNV) a été également isolé pour la première fois en 1944 chez les militaires américains lors du débarquement en Italie, ses vecteurs sont *Plebotomus papatasi* et *P. perfiliewi*.

Le Sandfly Fever Sicilian virus (SFSV) ont été isolés pour la première fois des sérums de soldats malades en Egypte en 1943 pendant la Seconde Guerre mondiale par Albert Sabin, Malgré un rétablissement complet après la soi-disant "fièvre de trois jours"

La maladie fébrile provoquée par le SFSV et SFNV peuvent être invalidants en raison de maux de tête, de myalgie et de malaise général (Charrel, et al., 2012).

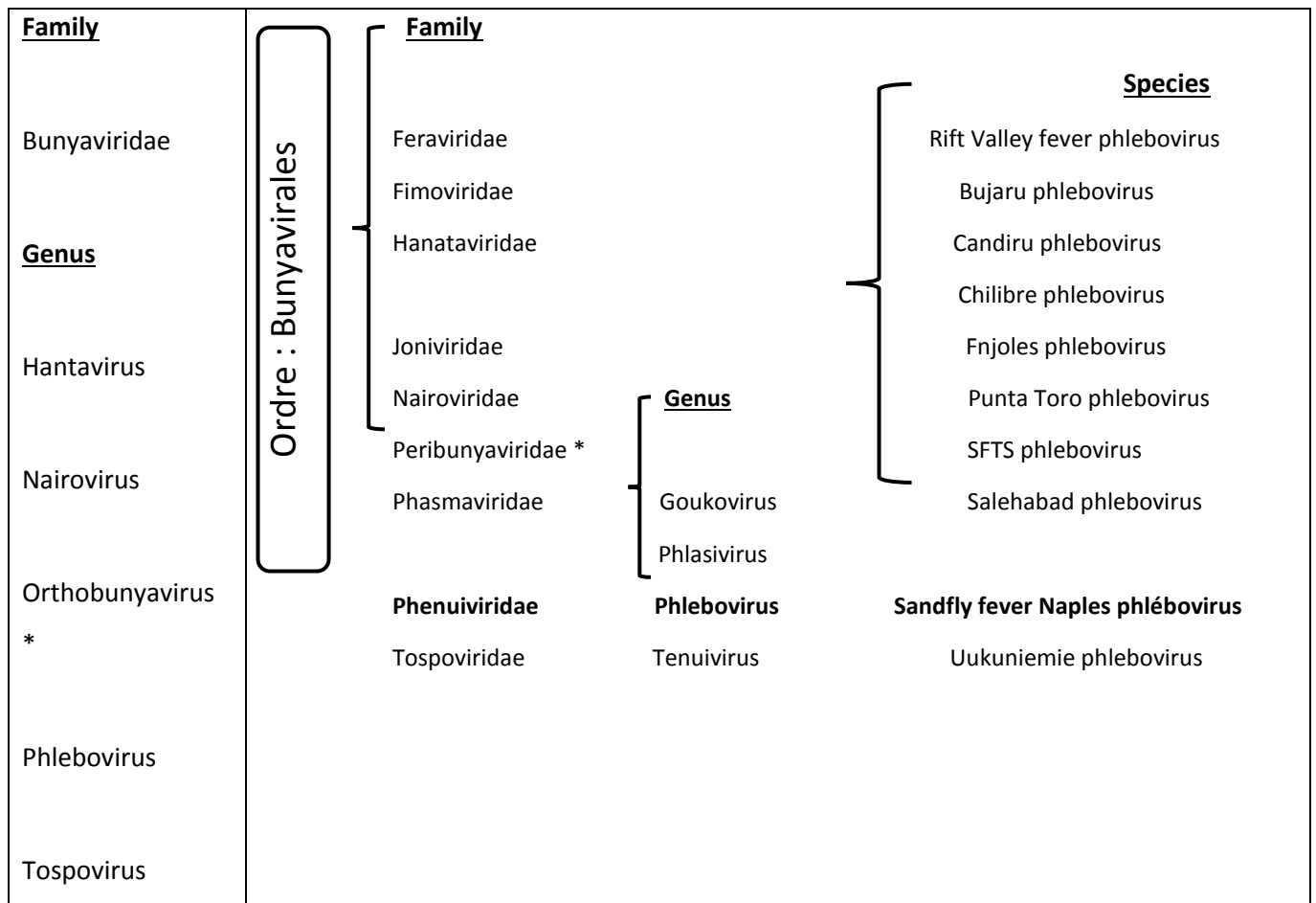
De même au SFSV et au SFNV, plusieurs Phlébovirus ont été isolés chez des soldats ou des patients fébriles, tels que le PTV, le virus de Chagres (CHGV) et le virus Alenquer (ALEV) (Alkan, et al., 2013).

### 1.2. Classification

Selon le Comité international de taxonomie des virus (ICTV), le genre *Phlébovirus* comprend plus de 70 membres acceptés regroupés en dix complexes d'espèces. Les *Phlébovirus* étaient classifiés traditionnellement par des méthodes sérologiques, mais des

efforts importants ont récemment été déployés pour affiner la taxonomie des Phlébovirus par séquençage du génome (Alkan, et al.,2013 ; Alkan, et al.,2015 ; Alkan, et al.,2016 ; Amaro, et al.,2016 ; Bichaud, et al.,2016). En 2016, le Comité international de taxonomie des virus a créé un nouvel ordre, Bunyavirales, qui contient neuf nouvelles familles, et a réorganisé les genres précédents, remplaçant ainsi les Bunyaviridae (Adams et al., 2017).

Le Phlébovirus est actuellement classé dans la famille Phenuiviridae.



**Figure 1 : Classification des Phlébovirus (Gaudreault et Al., 2018)**

### 1.3. Morphologie

C'est une famille de virus à ARN monocaténaire de polarité négative trisegmenté (fragment L, M et S). La capsule virale est sphérique et hélicoïdale d'environ 80 à 120 nanomètres (Raju et Kolakofsky , 1989). L'enveloppe virale est de nature lipidique sur laquelle sont encrées des glycoprotéines de surface sont requises pour l'entrée des cellules (Amroun A, 2017). Les ARN viraux sont conditionnés sous la forme de complexes ribonucléoprotéiques (RNP), dont chacun est associé à la protéine polymérase virale L.

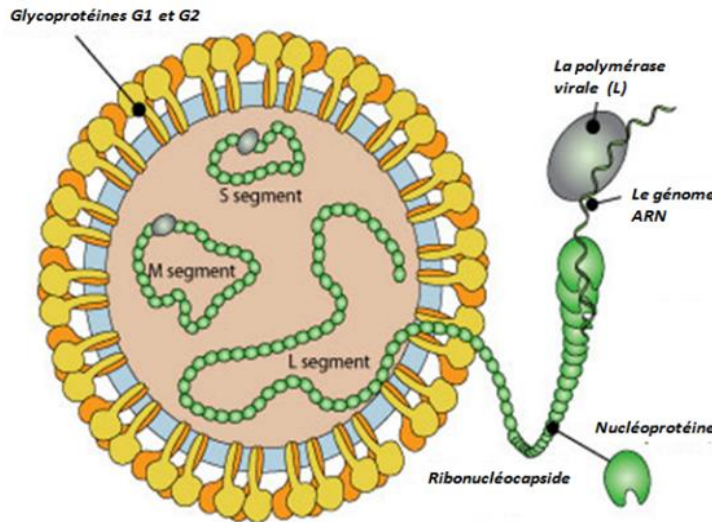


Figure 2 : Morphologie des Phlébovirus (viral zone, 2018)  
[https://viralzone.expasy.org/252?outline=all\\_by\\_species](https://viralzone.expasy.org/252?outline=all_by_species)  
 (Consulté le 20/02/2019 à 00.20)

#### 1.4 Caractéristiques Antigéniques

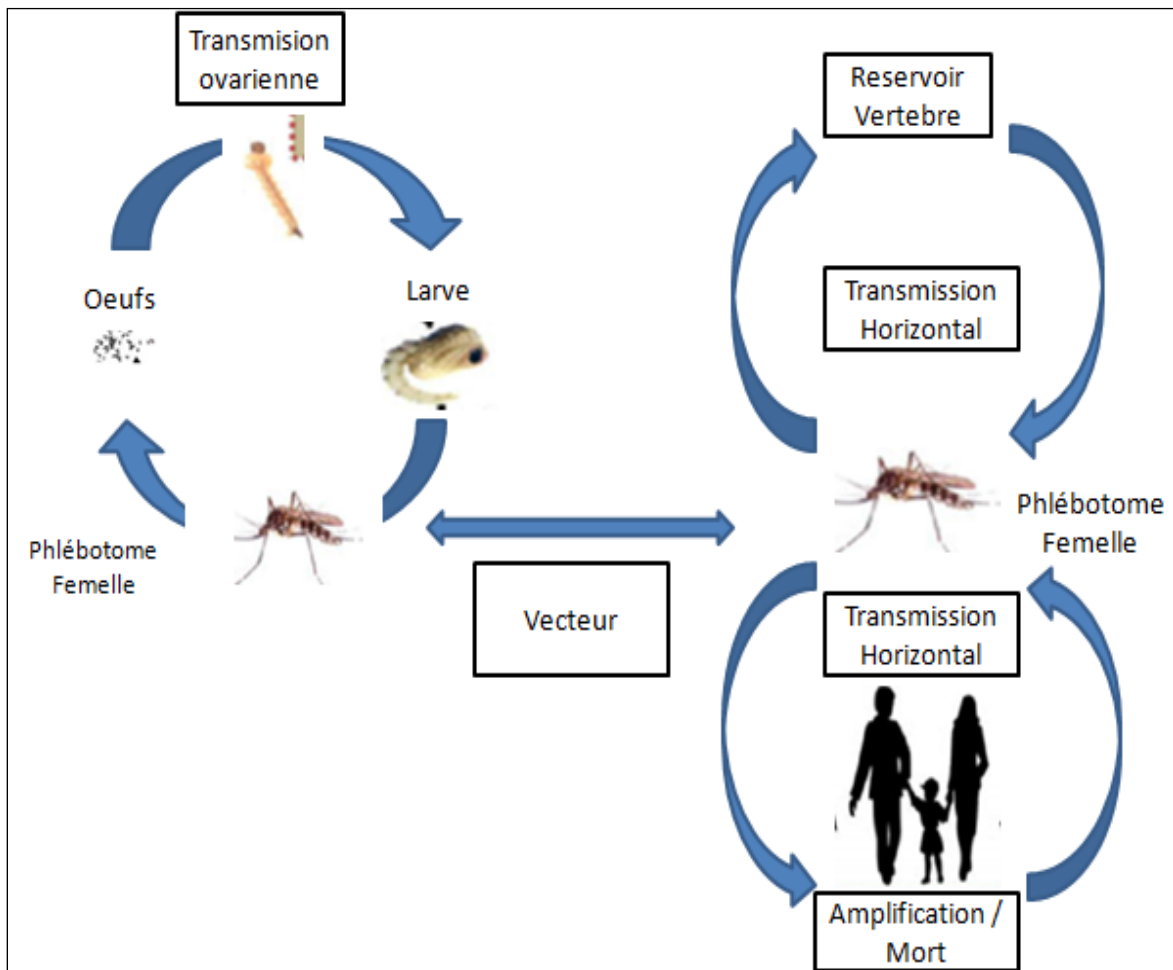
Chez les Bunyaviridae, la variabilité de l'antigène est due à des mutations et réassortiment des segments du génome (Pifat et al., 1988). Les caractéristiques de l'antigène de Bunyaviridae peuvent être analysées par des tests sérologiques. Des tests Inhibition de l'hémoagglutination et neutralisation qui nous permettent de trouver des virus étroitement liés sur la base des glycoprotéines de surface appartenant au même séroroupe.

Les virus appartenant à une espèce ou à des sérotypes différents au sein du même séroroupe peuvent être reconnus en analysant les relations antigéniques entre les protéines de la nucléocapside. La reconnaissance des sous-types facilite l'identification des différences mineures qui peuvent déterminer la présence de sérotypes ou de souches (Magurano et al., 1999).



## 2. Epidémiologie

### 2.1. Cycle épidémiologique



**Figure 3** : Cycle de transmission des Phlébovirus (Originale 2019)

### 2.2. Réservoir

On sait peu de choses sur l'animal hôte réservoir :

- Des tests d'isolement et dosages sérologiques ont suggéré des espèces animales comme candidats, bien qu'il ne soit pas possible de définir leur efficacité rôles de réservoir.
- Il semble que le rôle de l'animal dans la survie du virus est secondaire à l'amplification horizontale du virus, qui est cependant capable de garantir sa transmission transovarienne et vénérienne (Tesh et al .,1988)

On ne sait pas si l'homme peut jouer un rôle dans le cycle du virus en infectant les phlébotomes naïfs (sains), mais on pense généralement que ce mécanisme joue un rôle négligeable (Bensghir ,2018).

### 2.3. Vecteurs « Les Phlébotomes »

Les phlébotomes sont des petits diptères de taille de 1,5 à 3,5 mm de long, à corps grêle et longiforme, de couleur jaune clair couvert d'une vestiture épaisse qui lui permet un vol silencieux et constitué de la tête, le thorax et l'abdomen (Bounamous, 2010).

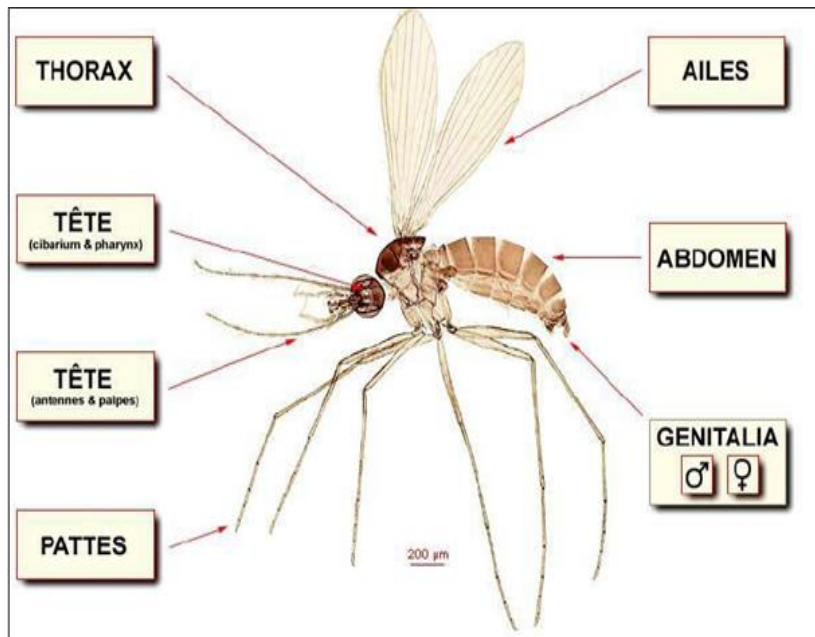


Figure 4 : Morphologie générale d'un phlébotome adulte (Bounamous, 2010)

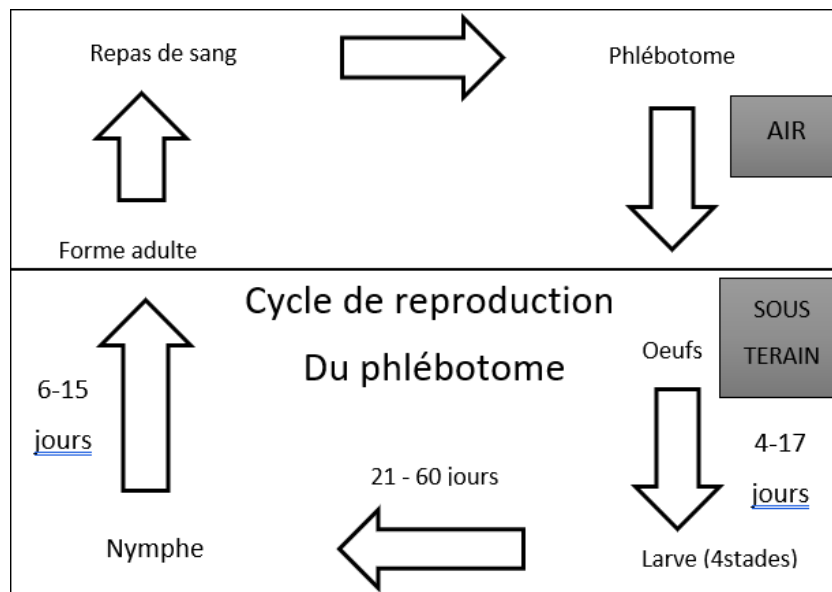


Figure 5 : Cycle de reproduction des Phlébotomes (Marchal et Toucas .,2011)

## 2.4. Modes de transmission

Chez l'homme, la Contamination par piqure des Phlébotomes est le mode principal indirect de transmission.

Il existe d'autres modes de transmission directs qui peuvent se produire par :

- Inhalation de particules virales, qui est le plus fréquent dans les laboratoires.

L'identification et l'isolement des Phlébovirus, non seulement chez les Phlébotomes hématophages, mais aussi chez les mâles, indiquent qu'il existe probablement d'autres modes de transmission entre les phlébotomes. Par exemple, si la transmission transovarienne (verticale) se produit dans des habitats naturels, on ne sait pas encore si ce mécanisme de transmission est significatif ou efficace en termes de survie du virus. Cependant, il a été démontré expérimentalement (Ciufolini et al.,1991).

Une transmission vénérienne (horizontale) entre les mâles infectés et les femelles non infectées par accouplement a été signalée (Ciufolini et al.,1991).

## 2.5. Données Epidémiologiques des infections à *Phlébovirus*

La distribution géographique des infections à TOSV est moins large que celles des Phlébovirus *Sandfly Naples* et *Sicilian* dont le Phlébotome vecteur est plus largement répandu (*Phlebotomus papatasi*).

### • Dans le monde

De nombreuses enquêtes séro-épidémiologiques ont permis de préciser la distribution géographique.

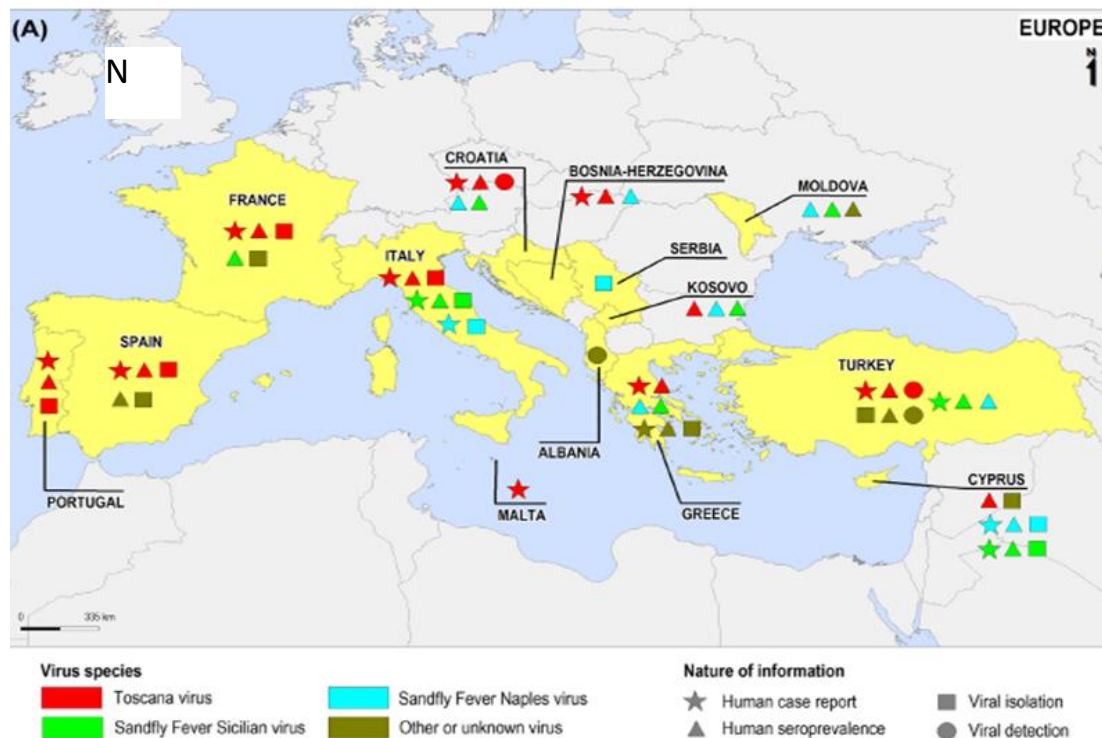
La prévalence des IgG anti-TOSV dans la population générale serait de l'ordre de 16 %. En Espagne, la séroprévalence moyenne serait de 26 %. Une enquête de grande envergure a montré que la séroprévalence augmentait avec l'âge, passant de 9 % chez les sujets de moins de 15 ans à 60 % chez les personnes âgées de plus de 65 ans (Fontenille et al., 2009).

Une enquête en population générale a estimé la séroprévalence à 20 %. Au Portugal, la séroprévalence n'est pas connue, mais 6 % des cas de méningites d'enfants et de jeunes adultes reçues lors de la saison estivale de 2002 à 2005 dans un hôpital du nord du Portugal étaient PCR TOSV positive (Fontenille et al., 2009) Dans ces pays où le TOSV est endémique, celui-ci se manifeste par des épidémies de méningites estivales. Cette recrudescence des infections à TOSV coïncide avec l'accroissement d'activité et de densité des populations de

phlébotomes lors de la saison chaude. Le pic maximum d'incidence de méningites étant observé en août. En France, un premier isolement d'une souche de TOSV à partir du LCR d'un cas autochtone a confirmé la présence de ce virus dans le sud est en 2001 (Fontenille et al., 2009). Par la suite, le séquençage de TOSV isolés chez 3 patients infectés vivant dans la région de Marseille a permis de retrouver les deux géotypes ; « italien » et « espagnol ». Deux pools de *P. perniciosus* prélevés dans les environs de Marseille se sont également révélés positifs.

La diversité des séquences de TOSV analysées dans les vecteurs et les prélèvements cliniques montre que les deux géotypes circulent dans le sud de la France (Fontenille et al., 2009).

La séroprévalence chez 92 donneurs de sang de Marseille a été mesurée à 12 %. (Fontenille et al., 2009) La séroprévalence observée dans sept des quinze préfectures du nord de la Grèce pour la présence des IgG contre le TOSV est parmi les plus élevées de toute la Méditerranée, avec une prévalence respective de était estimé 26,2% en Espagne, de 20% à Chypre 17,8%, et en Ombrie, l'Italie était de 16%. (Charrel RN Dis 2005). (Papa A, Andriotis2010) Récemment, une circulation de TOSV a été signalée en Afrique du Nord (Maroc, Tunisie). En Kabylie, en Algérie, une souche de TOSV a été isolée des phlébotomes. (Alwassouf ,2014)

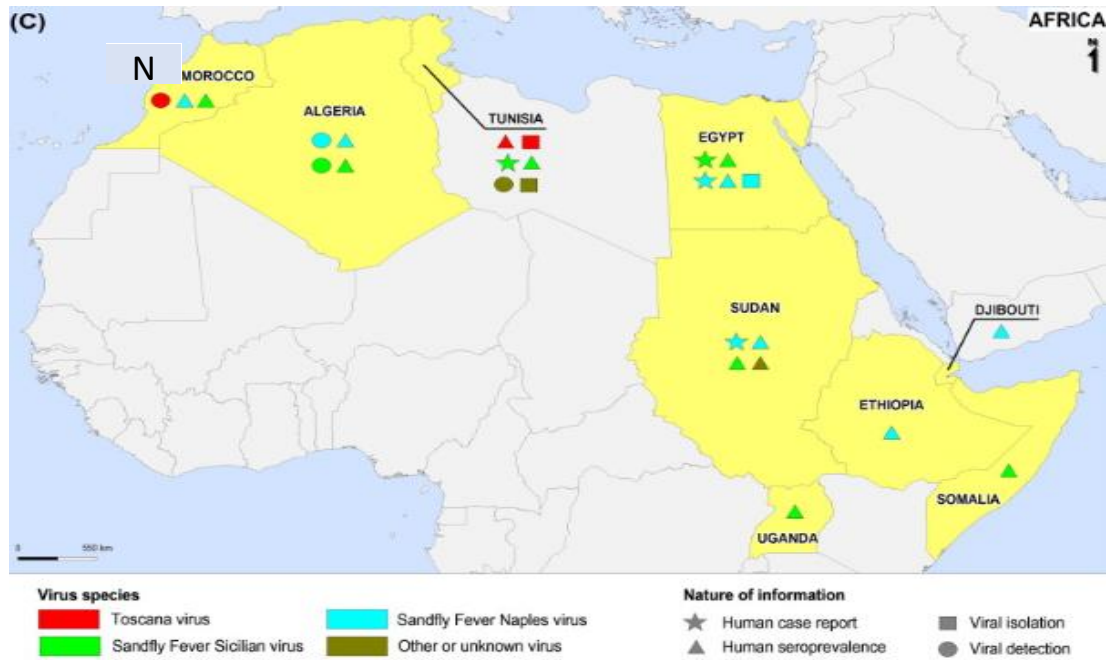


**Figure 6 :** Distribution des Phlébovirus portés par les phlébotomes en Europe (A) (Alkan et al.,2013)

- **En Algérie**

En 2006, l'une des 460 phlébotomes (principalement *P. perniciosus*) contenait du Sicilian comme l'ARN du virus c'était un *P. ariasi*. En 2007, un montant de collecte de phlébotomes organisée dans les régions de Kabylie et d'Alger, a permis d'obtenir deux positifs, l'un pour l'ARN du virus de Naples (*P. longicuspis*) et la seconde était positive pour l'ARN du virus de type Sicilian (*P. papatasi*). La détection de l'ARN du SFSV dans les phlébotomes à tester les anticorps anti-SFSV du sérum humain. Trois (5%) des échantillons contenaient des IgG SFSV (Izri et al., 2008). D'autres études de séroprévalence menées dans le nord de l'Algérie ont apporté que les taux des anticorps dirigés contre les virus Sicilian et Naples sont respectivement 5 % et 10,6 à 21,6 % en utilisant les tests IIF et ELISA (Izri et al., 2008 ; Moureau et al. 2010). Une étude de séroprévalence réalisée sur 370 sérums prélevés chez des personnes résidant dans la même région a montré que près de 50% possédaient des anticorps neutralisants anti-TOSV, un taux beaucoup plus élevé que celui observé dans le sud de l'Europe (Alkan et al., 2015). En Kabylie, une souche de TOSV a été isolée des phlébotomes. (S. Alwassouf, 2014)

Chez les animaux ; en Algérie deux études de séroprévalence basées sur la neutralisation du TOSV chez des chiens ont montré des résultats 5,6% (11/147) des chiens ont été infectés dans une zone où les phlébotomes sont présents à haute densité et où la leishmaniose est endémique. ( Alwassouf, 2014). En revanche aucun virus n'a été reporté des régions du grand sud comme la région de Tamanrasset et Djanet (Tesh et al., 1976).



**Figure 7 :** Distribution des Phlébovirus portés par les phlébotomes en Nord d'Afrique (Alkan et al.,2013)

### 3. Suivi des paramètres séro-biochimiques des infections à *phlébovirus*

#### 3.1. Marqueurs sérologiques

Le graphe ci dessous montre l'apparition des IgM et des IgG au cours d'une infection primaire et secondaire (Figure 08)

Au cours d'une infection primaire les IgM apparaissent au bout du 5<sup>ème</sup> jour après inoculation, le pic est atteint au bout du 10<sup>ème</sup> et elles disparaissent progressivement, signe d'une infection récente, les IgG apparaissent 4 à 5 jours après les IgM et elles persistent avec le temps, signe d'une infection tardive.

L'infection secondaire se caractérise par une réponse efficace et rapide des IgG.

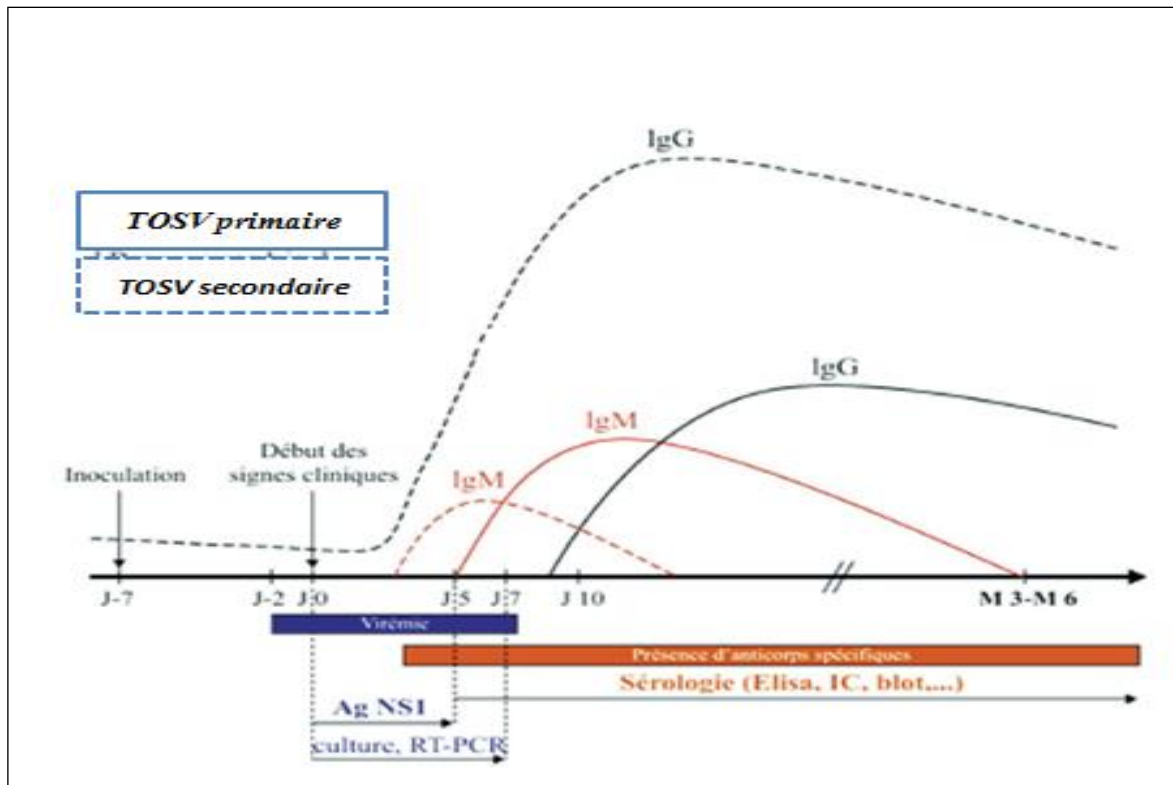


Figure 8 : La cinétique sérologique des infections à Phlébotomus (Rodhain, 2001)

### 3.2. Marqueurs biochimiques

#### • L'hémogramme

L'hémogramme est l'examen biologique le plus prescrit toutes pathologies confondues. Il apporte des informations sur les cellules du sang contribuant au maintien de l'intégrité de l'organisme : oxygénation des tissus, défense de l'organisme contre les agents pathogènes bactériens ou viraux.

**Le taux d'hémoglobine** il est souvent dosé à la recherche d'une anémie arégénérative, microcytaires (hypochromes ou normochromes) liées à un déficit de synthèse de l'Hb.

**Le nombre de globules blancs** il est dosé à la recherche d'une leucopénie : Il s'agit d'une diminution du nombre de GB en dessous des valeurs normales. La leucopénie est essentiellement le fait d'une neutropénie.

**Les polynucléaires neutrophiles** elles sont dosés à la recherche d'une neutropénie qui correspond à un nombre de PNN  $<1700/\mu\text{l}$ . La neutropénie peut être isolée ou associée à des causes bactériennes (typhoïde, brucellose), parasitaires (paludisme...), virales ou encore médicamenteuses.

**Le nombre de plaquettes** : est déterminé à la recherche d'une thrombocytopénie.

- **Les paramètres biochimiques**

Les principaux signes biochimiques traduisant l'atteinte à une infection virale notamment aux Phlébovirus sont ceux qui mettent en évidence la lyse de l'hépatocyte, l'insuffisance hépatique et la réponse immunitaire à l'agression virale.

La lyse de l'hépatocyte provoque la libération de certaines enzymes, notamment les aminotransférases :

**Alanine aminotransférase (ALAT)** ou glutamate pyruvate transaminase (GPT)

**Aspartate aminotransférase (ASAT)** ou glutamate oxaloacétate transaminase (GOT).

Ces deux enzymes sont présentes et peuvent atteindre des concentrations 10 à 30 fois supérieures à la normale (**Eleonore,1995 ; Edith ,2010**)

**La glycémie** pourrait être lié aux infections virales qui installaient une inflammation dans les cellules du pancréas. les conclusions auxquelles les chercheurs de l'université de Tampere (Finlande) sont parvenus au cours d'une étude sur le lien entre les infections virals et le déclenchement du diabète de type 1.

#### **4. Aspects cliniques des infections à *Phlébovirus***

##### **4.1. Forme bénigne**

Il s'agit d'une forme pseudo-grippale non compliquée qui est la plus fréquente : 95 à 98% des cas. Après trois à six jours d'incubation, on observe une hyperthermie biphasique typique suivie de malaises, d'une dépression, de céphalées avec douleurs rétro-orbitaires, de frissons, de myalgies et d'arthralgies (**Peters et Meegan , 1981**).

##### **4.2. Forme encéphalique**

La forme encéphalique entraîne des céphalées intenses, des hallucinations, des convulsions ou au contraire une totale léthargie, mais évolue en général vers la guérison après une longue convalescence.



## 5. Identification biologique des infections à *Phlébovirus*

### 5.1. Identification biologique non spécifique

Un certain nombre d'examen de base à la recherche de signes non spécifiques sont nécessaires à la démarche diagnostique : NFS-plaquettes, bilan hépatiques...

Un examen sanguin lors d'atteinte par les *Phlébovirus* est caractérisé par :

- Une sévère leucopénie, une grande quantité d'enzymes associées aux problèmes hépatiques et de la thrombocytopénie (Gerdes, 2004).
- Le taux d'enzymes hépatiques dans le sang (PAL, ALAT) augmente alors fortement, ainsi que la bilirubine et l'albumine diminue, signe d'une destruction cellulaire (Smith et al., 2010).
- Une baisse de la synthèse des facteurs de la coagulation par le foie, ce qui provoque un trouble de l'hémostase

### 5.2. Identification biologique spécifique

- **Prélèvement-Transport**

La confirmation du diagnostic clinique se fait au laboratoire. Différents types de prélèvements peuvent être utilisés tel que le sang, le LCR, les différents tissus (Gerdes, 2004 ; Pepin et al., 2010). Le diagnostic direct est basé sur la recherche du virus ou l'un de ses constituants tandis que le diagnostic indirect est fondé sur la recherche des anticorps spécifiques du virus dans le sérum.

#### 5.2.1. Identification par détection de l'agent pathogène : Diagnostic directe

- **Isolement du virus**

On procède à l'isolement en utilisant des modèles animal tel que l'inoculation intracérébrale au souriceau nouveau-né, inoculation intra thoracique au moustique parfois, mais surtout par culture sur cellules de vertébrés ou d'invertébrés (moustiques ou tiques), les cultures sont observées quotidiennement au microscope à la recherche d'un effet cytopathique

- **Détection du virus**

#### **Immunomarquage**

La détection du virus, directement dans les liquides biologiques ou les tissus, peut se faire par immunofluorescence sur coupes (immunofluorescence indirecte sur frottis ou coupe de

foie, de rate et de cerveau) ou par la technique ELISA « capture » pour la détection de l'antigène.

### **Réaction d'amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR)**

La technique de RT-PCR est utilisée pour la détection du génome viral offrant ainsi un diagnostic rapide (moins de 24 heures) sensible et spécifique.

Le séquençage de l'ADN amplifié permet de caractériser les souches virales (Garcia et al.,2001 ; Sall et al.,2001 ; Prehaud et Bouloy ,1997).

### **5.2.2. Identification Sérologique : Diagnostic Indirecte**

Le diagnostic indirect cherche à mettre en évidence des anticorps synthétisés au cours d'une réaction à une infection virale. Ces anticorps sont les marqueurs indirects de l'infection, on distingue :

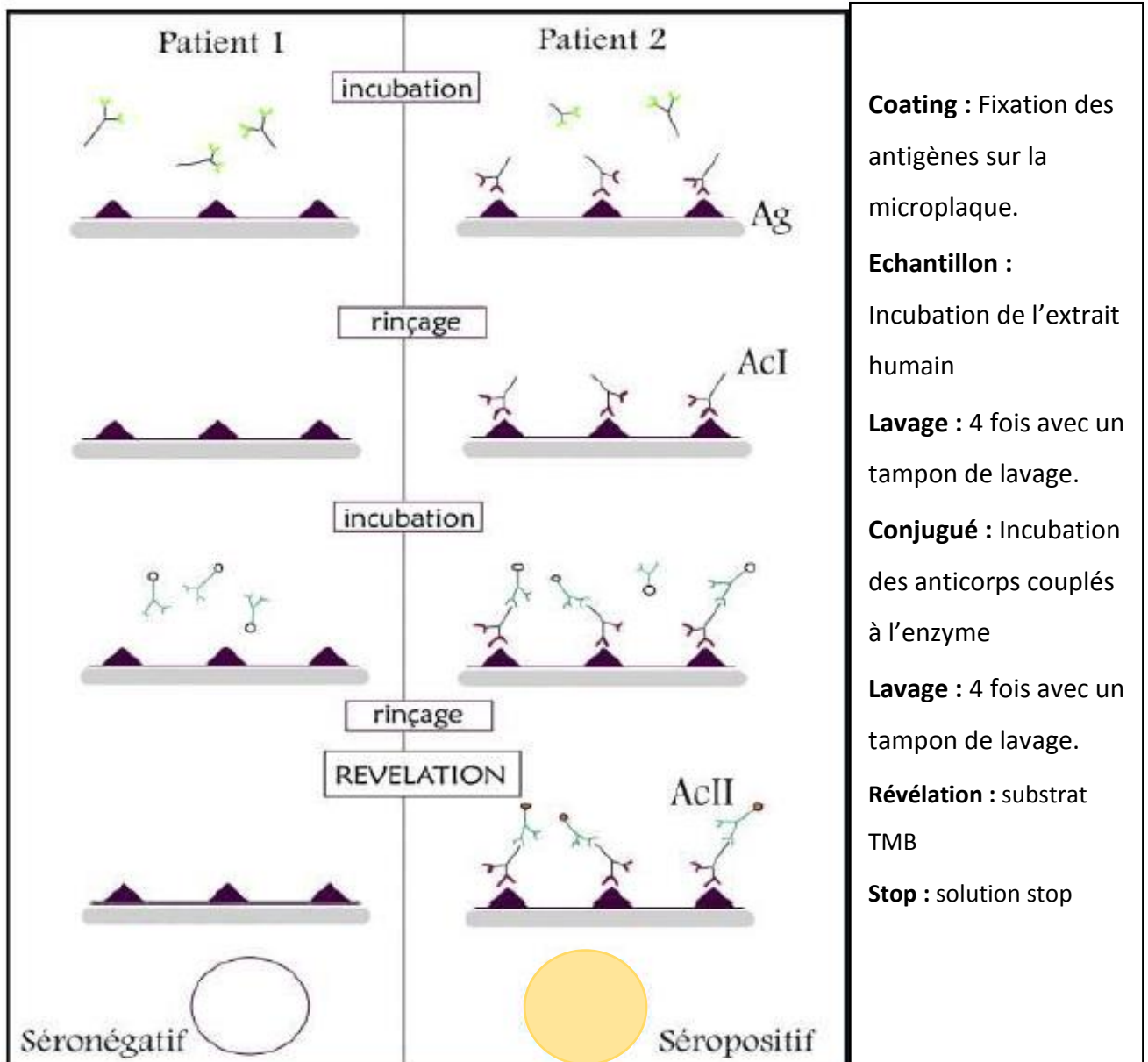
- **Les IgM : marqueurs d'une infection aiguë**
- **Les IgG : marqueurs d'une infection passée**

Les techniques utilisées sont des techniques de sérologies qui s'appliquent le plus souvent sur du sérum mais aussi sur d'autres liquides biologiques tel que le LCR. La principale technique que nous allons développer est la technique ELISA permettant la recherche d'anticorps.

- **Principe de la technique ELISA indirect « maison »**

L'Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) est un test utilisé pour détecter et quantifier des anticorps spécifiques chez les humains et les animaux. Ce test consiste à capturer des anticorps présents dans un échantillon en utilisant une immunoglobuline liée à une enzyme qui entraînera un changement de couleur lorsque qu'un substrat chromogène spécifique sera ajouté (Wright et al., 2005). Ce changement de couleur est détecté et quantifié en mesurant la densité optique. Dans ce type de test ELISA, la surface d'une plaque est recouverte des antigènes correspondants qui sont utilisés pour capturer les anticorps spécifiques présents dans l'échantillon. Pour détecter les anticorps qui se sont fixés aux antigènes présents à la surface de la plaque, des anticorps secondaires, qui sont conjugués à une enzyme telle qu'une peroxydase Après une période d'incubation, les anticorps secondaires qui ne se sont pas liés aux premiers anticorps sont retirés par rinçage.

Lorsqu'ensuite un substrat adéquat est ajouté, les enzymes conjuguées aux anticorps secondaires produisent de la couleur et la couleur ainsi produite est mesurable, et est fonction de la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon analysé figure ci-dessous



**Figure 9 :** Illustration de la méthode d'ELISA indirecte (Sánchez-Vizcaino et al., 2005)

Les principaux avantages des méthodes sérologiques sont leur moindre coût, La très grande sensibilité, l'automatisation des techniques et la fenêtre temporelle de détection plus large permettant la détection d'une proportion de séropositifs dans une population, les rendant particulièrement indiquées pour la démonstration du statut indemne d'une région.

## 1. Présentation de l'étude

### 1.1. Cadre et lieu d'étude

Notre étude a été menée à l'Institut Pasteur d'Algérie au niveau de laboratoire des arbovirus et virus émergents sur une période de quatre mois allant de Mars 2019 à Juin 2019 avec un échantillonnage de 137 prélèvements de patients prélevés au niveau de L'EPH Meftah (Wilaya de Blida).

Notre objectif d'enquête est basé sur la recherche des Ac Anti-*Phlébovirus* chez cette population.

### 1.2. Zone d'étude-Points d'enquêtes

La daïra de Meftah est située à l'est de la wilaya de Blida. Elle compte 76.469 habitants, Meftah se trouve à 27 km d'Alger et 41 km de Blida. Sur cette région, on y cultive les céréales, le maraichage, l'arboriculture . La région développe également l'élevage bovin ainsi que l'ovin et se lance dans l'apiculture. Le climat y est chaud et tempéré. L'hiver à Meftah se caractérise par des précipitations bien plus importantes qu'en été.

Ces changements climatiques peuvent faciliter ou inhiber la capacité de transmission de maladies à l'homme par les insectes vecteurs fait de la stagnation des eaux.



**Figure 10** : Représentation géographique de la région de Meftah, BLIDA (google map, 2019)

### **1.3. Présentation de l'échantillonnage**

Les patients sont choisis de façon aléatoire, volontaires, des deux sexes, de classes sociales diverses et répondant aux conditions d'habitat et d'âge ci-dessous indiquées.

- Habitant à la région de Meftah ou ses environs.
- Patients ayant un âge entre [0 ; 65]

### **1.4. Questionnaire d'enquête**

Une fiche "patient " (cf. Annexe B) a été créée dans le but de collecter les informations nécessaires à notre étude au sein des divers services hospitaliers.

Nos données ont été portées sur des fiches d'enquête individuelles puis saisies sur Excel version 2013.

### **1.5. Matériel**

L'ensemble de matériel utilisé dans ce travail (cf. Annexe A)

### **1.6. Méthodes**

#### **1.6.1. La collecte des échantillons**

Les échantillons utilisés dans cette étude sont des prélèvements de sang total sur tube sec, après centrifugation les sérums sont recueillis au fur et à mesure dans une glacière portative où ils seront conservés à -20 ° au niveau du laboratoire des arbovirus de l'IPA jusqu'à leur analyse.

#### **1.6.2. Epreuve sérologique**

##### **a) Inactivation des sérums**

Pour des mesures de sécurités et de protection du manipulateur il est recommandé d'effectuer une inactivation des sérums avant leur manipulation, et cela par chauffage à 56°C au bain marie pendant 20 minutes. Les sérums sont ensuite stockés à -20° jusqu'à la manipulation.

## b) Technique ELISA indirecte

### • Principe

La technique de dosage d'immuno-absorption par enzyme liée (en anglais Enzyme-Linked Immuno Assay) ou ELISA est principalement utilisée en immunologie afin de détecter et/ou doser la présence de protéines, d'anticorps ou d'antigènes, dans un échantillon.

Le principe de l'ELISA indirecte consiste à détecter la présence d'un anticorps spécifique dans un échantillon. Pour cela nous avons besoin :

- D'un antigène connu spécifique à l'anticorps recherché, ici de l'anti-TOSV
- D'un échantillon à analyser
- D'un anticorps secondaire anti-IgG couplé à une peroxydase (cet anticorps va reconnaître spécifiquement les anticorps IgG)
- Du substrat spécifique à l'enzyme, ici du TMB

Le protocole général du test ELISA indirecte maison suit les étapes suivantes :

#### 1<sup>ère</sup> étape : Coating

- Dilution de l'Antigène TOSV / Surnageant cellulaire au 1/300<sup>ème</sup> dans une solution du PBS (cf. Annexe A)
- Déposer 100 µl de ces dilutions dans les cupules correspondantes. L'antigène et le surnageant cellulaire vont se fixer de manière électrostatique au fond des cupules.
- Mettre la microplaque à +4° pendant 18-22h.
- Le lendemain Effectuer une aspiration du contenu de la microplaque à l'aide d'un laveur automatique.

#### 2<sup>-ème</sup> étape : Saturation

- Déposer 250 µl de la solution PBS+5% lait écrémé (cf. Annexe A) par cupule et incubé 1h à température ambiante.
- Effectuer 4 lavages automatiques avec 1 min de trempage par la solution PBS+0.05%T20 (cf. Annexe A) avec 1 min de trempage avant chaque lavage à l'aide de laveur automatique.

#### 3<sup>-ème</sup> étape : Dépôt des sérums

- Toujours inclure un Positif contrôle, Un négatif contrôle et un contrôle interne qui seront traités de la même façon que les échantillons à tester.

Dilution des échantillons au  $1/100^{\text{ème}}$  dans une solution de PBST+3% du lait écrémé (cf. Annexe A)

- Déposer 100  $\mu$ l de chaque échantillon dans les cupules correspondantes suivant le schéma de la microplaque. Les échantillons à doser (sérum contenant l'anticorps anti-TOSV), ainsi que nos standards (Positif contrôle PC, Négatif contrôle NC et le Contrôle interne CI). Les anticorps spécifiques au Tos vont se fixer aux antigènes.
- Incuber 1h à 37 ° dans l'incubateur.
- Effectuer 4 lavages automatiques avec 1 min de trempage par la solution PBS+0.05%T20 (cf. Annexe A)

**Tableau I : Schéma d'une microplaque (96 cupules)**

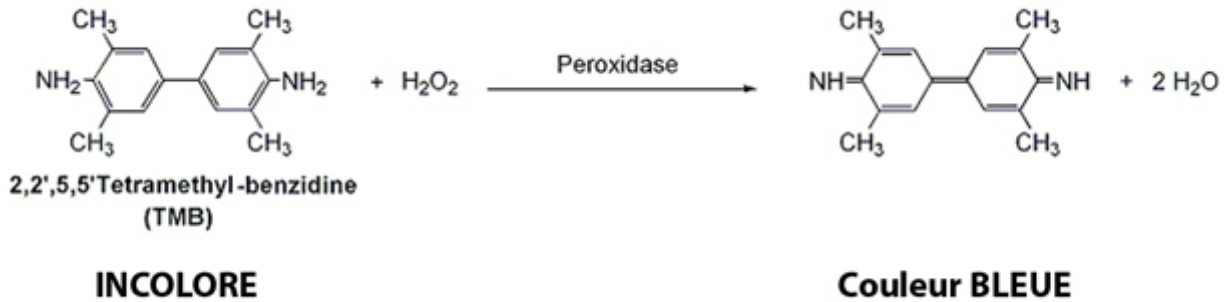
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Sur	Ag	Sur	Ag	Sur	Ag						
<b>PC</b>	<b>PC</b>	Sérum 06	Sérum 06	Sérum 14	Sérum 14						
<b>NC</b>	<b>NC</b>	Sérum 07	Sérum 07	Sérum 15	Sérum 15						
<b>CI</b>	<b>CI</b>	Sérum 08	Sérum 08	Sérum 16	Sérum 16						
Sérum 01	Sérum 01	Sérum 09	Sérum 09	Sérum 17	Sérum 17						
Sérum 02	Sérum 02	Sérum 10	Sérum 10	Sérum 18	Sérum 18						
Sérum 03	Sérum 03	Sérum 11	Sérum 11	Sérum 19	Sérum 19						
Sérum 04	Sérum 04	Sérum 12	Sérum 12	Sérum 20	Sérum 20						
Sérum 05	Sérum 05	Sérum 13	Sérum 13	Sérum 21	Sérum 21						

#### 4<sup>ème</sup> étape : Dépôt de conjugué :

- Dilution de conjugué au  $1/15000^{\text{ème}}$  dans une solution de PBST+3% du lait écrémé (cf. Annexe A)
- Déposer 100  $\mu$ l dans les cupules correspondantes
- Incuber 1h à 37 °, le conjugué couplé à la peroxydase vont reconnaître l'anticorps primaire.
- Effectuer 4 lavages automatiques avec 1 min de trempage par la solution PBS+0.05%T20 (cf. Annexe A)

**5<sup>ème</sup> étape : Révélation**

- Déposer 80 µl de la solution révélatrice du substrat TMB en obscurité. Anti-TOSV), va être transformé et induire une coloration bleue. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps recherchés
- Incuber 5 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière.



*Figure 11 : Réaction de la révélation substrat/Peroxydase(Originale,2019)*

**6<sup>ème</sup> étape : Arrêt la réaction**

- Déposer 80 µl de la solution d'arrêt H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dans chaque cupule afin de stopper la réaction de Substrat TMB te l'enzyme conjugué Peroxydase

**7<sup>ème</sup> étape : Lecture des résultats**

- **Une lecture à l'œil nu** : La surface totale de chaque cupule est observée ; si la cupule ne contient aucune coloration jaune, le résultat est négatif, si une coloration jaune est observée, le résultat est positif ou encore douteux. Les contrôles (témoins) sont lus en premier (**sur une longueur d'onde de 450nm**).
- **Lecture numérique** : Lire immédiatement dans les 30 minutes suivant l'arrêt de la réaction à l'aide d'un un lecteur de microplaques PR400 de marque « Bio-Rad » lié à Pc de marque « acer » installé d'un logiciel de mesure DO « Magellan™ for PR4100 » spectrophotomètre.

**8<sup>ème</sup> étape : Validation du test**

- Les résultats de chaque test ou de chaque plaque sont validés :
  - Si la densité optique obtenue avec le contrôle interne (DO CI) est entre [0.2-0.48]
  - A condition, le surnageant doit être ≤ 0.1

Les différences des DO sont calculées selon la formule suivante :

**Formule de calcul: DO ag – DO surg**



**Exemple :**

Contrôle positif : DO cupule A1 = 0,010	DO cupule A 2 = 0,990	⇒ $\Delta DO$ PC = 0,980
Contrôle négatif : DO cupule B1 = 0,080	DO cupule B2 = 0,090	⇒ $\Delta DO$ NC = 0,010
Contrôle interne : DO cupule C1 = 0,010	DO cupule C2 = 0,310	⇒ $\Delta DO$ NC = 0,300

- Les résultats des témoins de l'épreuve en cours sont comparés aux résultats obtenus lors des épreuves précédentes utilisant le même lot témoin. L'épreuve est validée si les valeurs obtenues pour les 3 témoins de l'épreuve en cours ne sont pas statistiquement différentes de la moyenne de toutes les valeurs obtenues dans les épreuves conduites avec cette technique.

**9<sup>ème</sup> étape : interprétation des résultats**

Échantillon 1 : DO cupule 1 = 0,090	DO cupule 2 = 0,750	⇒ $\Delta DO$ = 0,660
Échantillon 2: DO cupule 1 = 0,050	DO cupule 2 = 0,190	⇒ $\Delta DO$ = 0,140

- Si la DO calculée est  $\geq 0,2$ , l'échantillon est considéré comme séropositif.
- Si la DO calculée est entre [0.1-0.2], l'échantillon est considéré comme douteux et doit être confirmé par un deuxième test dépistage d'autres épreuves de confirmation doivent être effectuées sur de tels sérums.
- Si la DO calculée est  $\leq 0.1$ , l'échantillon est considéré comme séronégatif

**Calcul Statistique**

Nos données ont été portées sur des fiches d'enquête (annexe B) individuelles puis saisies sur le logiciel Excel version 2013 et analysées sur le logiciel Excel version 2013 ensuite confirmées sur le logiciel IBM SPSS version 19.0. Nous avons utilisé le test statistique de khi2 pour la comparaison des proportions et le test de Corrélation ou Corrélation de Pearson pour la comparaison des variables.

Les valeurs de p (seuil de signification) ont été considérées statistiquement comme :

- Significative lorsque  $P \leq 0.05$ .
- Très significative lorsque  $P \leq 0.01$ .
- Hautement significative lorsque  $P \leq 0.001$ .

Les valeurs de r (résultat de test de corrélation) ont été considérées statistiquement comme :

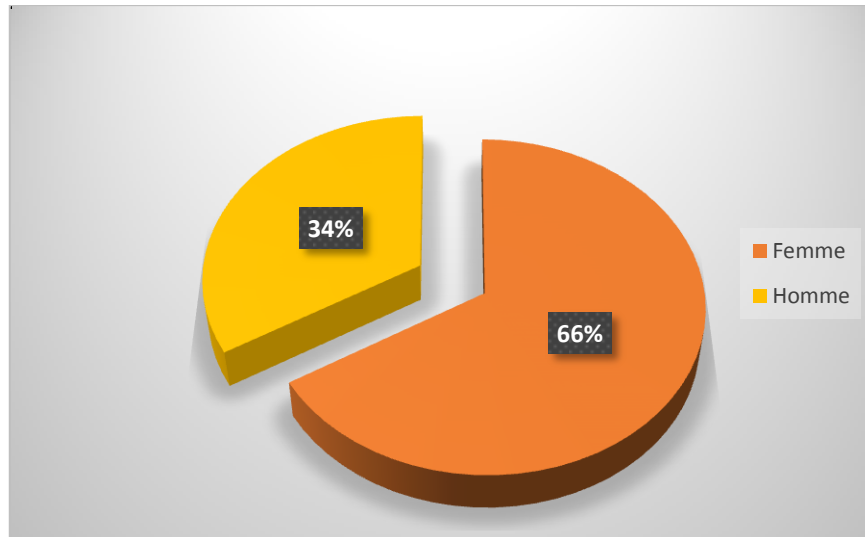
- Parfaite si  $r=1$ .
- Très forte si  $r > 0.8$ .

- Forte si  $r$  se situe entre 0.5 et 0.8.
- Moyenne si  $r$  se situe entre 0.2 et 0.5.
- Faible si  $r$  se situe entre 0.1 et 0.2.
- Nulle si  $r=0$ .

## I. Résultats

Notre étude a porté sur les résultats de 137 patients et répartis comme suit : 91 femmes et 46 hommes avec un âge moyen de  $42.204 \pm 19,013$  années.

### 1. Distribution de l'échantillon en fonction du sexe

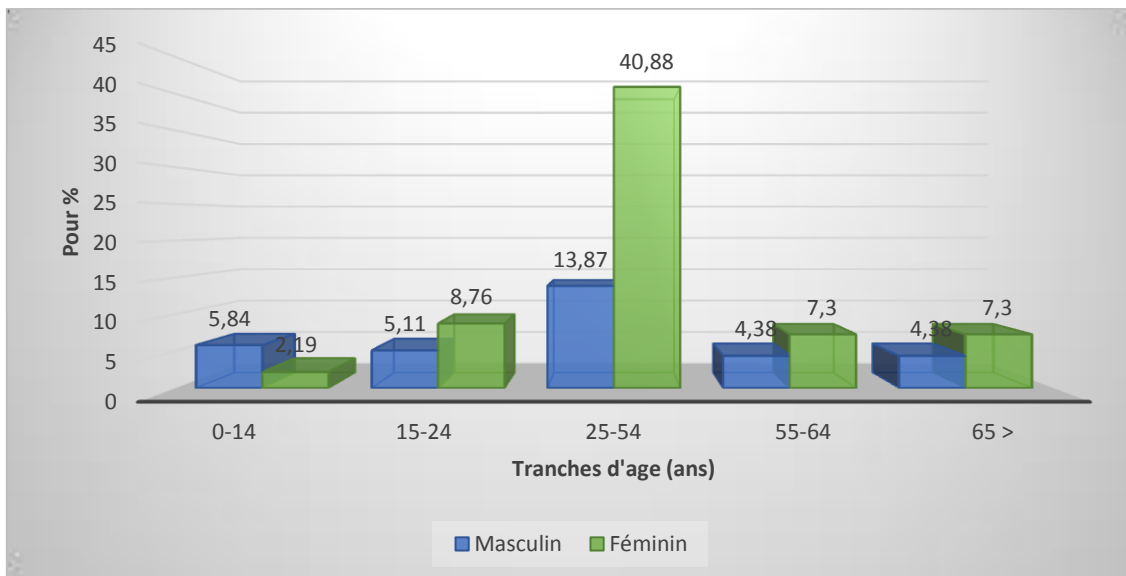


**Figure 12** : Pourcentage de patients en fonction du sexe dans la région de Meftah

De la figure nr 15, on remarque que notre échantillon est à prédominance féminine avec 66% contre 34% pour les hommes.

- **Répartition des patients selon le sexe et l'âge**

L'histogramme ci-dessous nous renseigne sur les pourcentages des patients de notre étude en fonction de l'âge et du sexe dans la région de Meftah



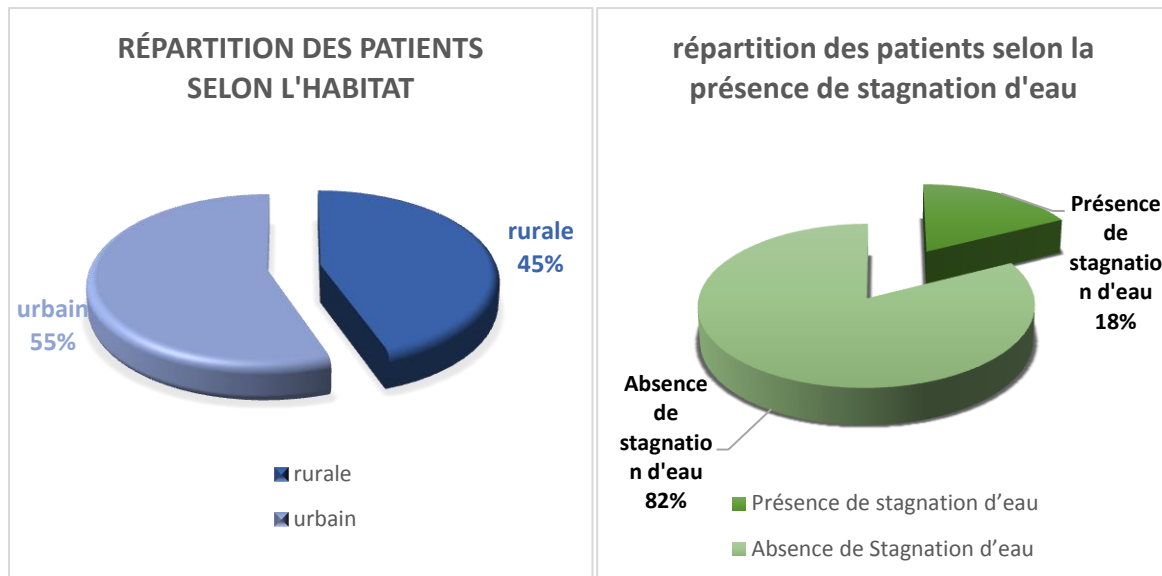
**Figure 13** : Répartition des patients selon le sexe et l'âge.

La tranche d'âge avec le nombre le plus élevé des patients est **25-54** avec un pourcentage de **13.87%** hommes et **40.88%** femmes.

L'âge moyen de notre population est de **42.204 ± 19,013** dont **40%** ont un âge compris entre **25 et 54** ans, avec **33.58%** de sexe masculin et **66.42%** de sexe féminin soit un sexe **ratio (M/F)** de **0.53**

## 2. Distribution de la population en fonction de l'habitat (Rurale ou Urbain), Stagnation d'eau, présence de moustiques

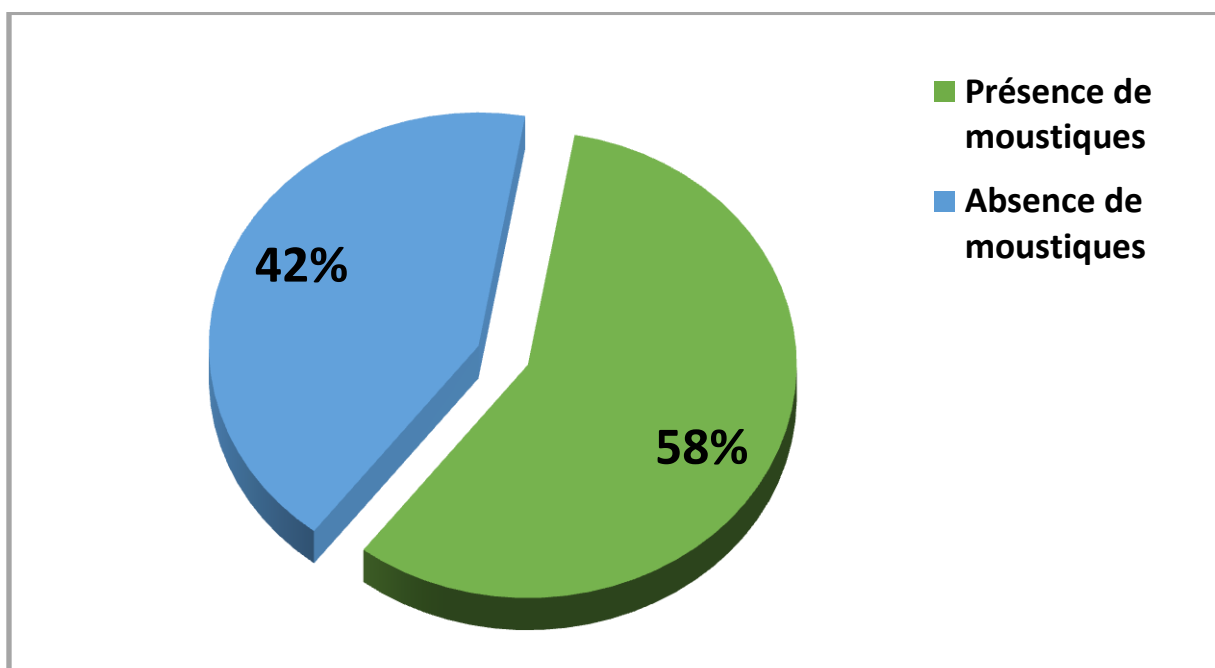
- Répartition des patients selon l'habitat (Rurale ou Urbain, Présence de stagnation d'eau ou pas)



**Figure 14** : Répartition des patients selon l'habitat (Rurale ou Urbain, Présence de stagnation d'eau ou pas)

D'après nos résultats, la grande majorité des patients habitent pour la plupart dans une région urbaine (**55.48 %**) suivie de la région rurale avec (**44.52 %**). La présence de stagnation est très peu présente seulement **17.52%** en comparaison à l'absence des points de stagnation d'eau **82.48%**

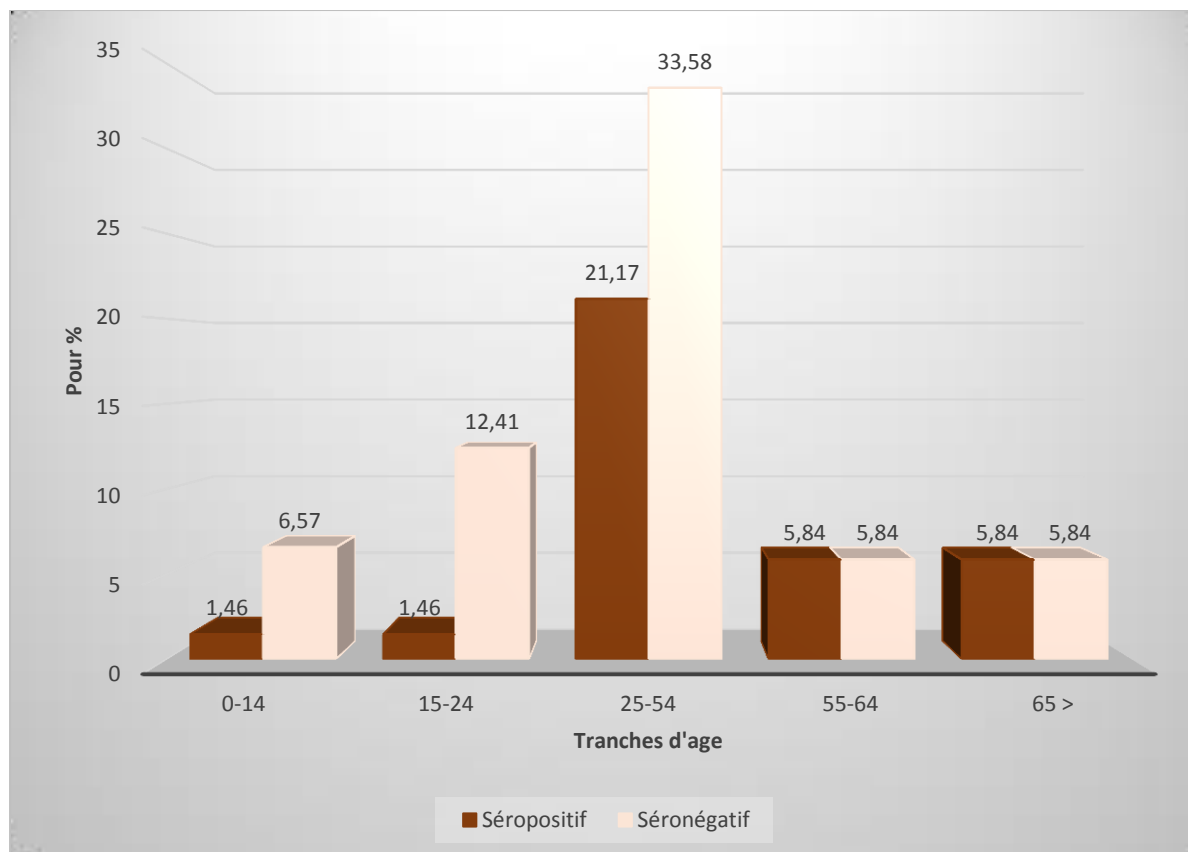
- Répartition des patients selon la présence ou l'absence des moustiques



**Figure 15** : Répartition des patients selon la présence ou l'absence des moustiques

D'après les données, on a recensé un taux de présence de moustique de 57.66% dans la région de Meftah.

### 3. Distribution de la population en fonction de Présence des Ac anti-*Phlébovirus* (séropositif, séronégatif)



**Figure 16:** Répartition des patients en fonction de la présence des Ac anti- phlébovirus.

#### Répartition des patients selon la Présence des Ac anti-Phlébovirus

La prise en charge de ces patientes lors de notre étude nous a permis de trouver les données épidémiologiques suivantes : **88** séronégatifs soit un pourcentage de **64.23%** qui courent le risque de contamination. En effet **49** soit **35.77%** étaient immunisées.

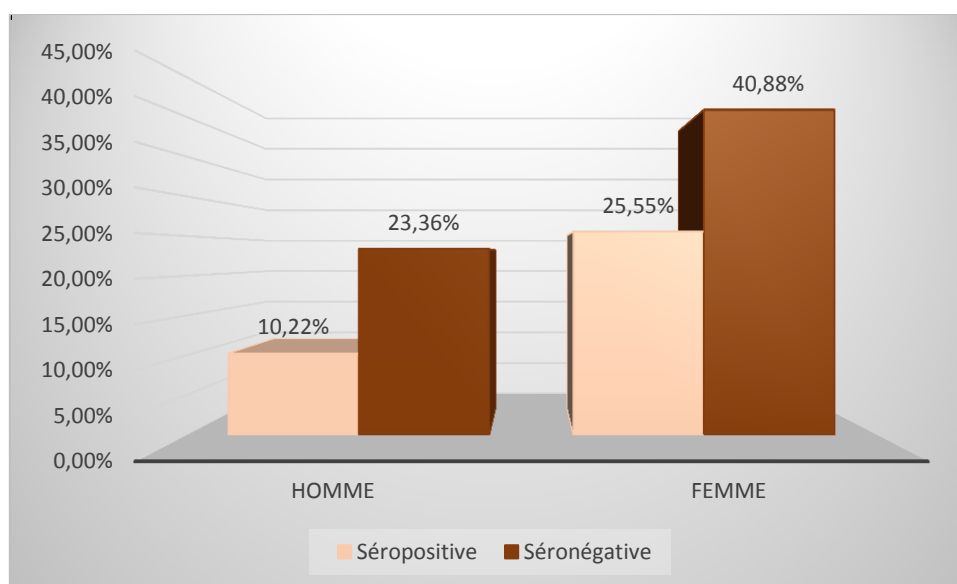
Dans ce cas **35.77%** de nos patients ont présenté un résultat séropositif de la présence des AC anti-TOSV. Avec une moyenne est de **10.4 ± 11.970**. La tranche d'âge **25-54** présente le pourcentage le plus élevé **21.17%**. Les autres tranches d'âge sont très peu présentées avec respectivement **1.46% (0-14 ans)**, **1.46% (15-24)**, **5.84% (55-64)** et de **5.84%** de patients ayant un âge supérieur à **65** ans.

Chez **64.23%** le résultat est séronégatif.

L'analyse statistique montre qu'il y a une association statistiquement **significative** ( $P < 0,05$ ) entre la présence des Ac anti- phlébovirus et l'âge. On peut donc conclure qu'il existe une différence significative entre la prévalence des Ac anti- phlébovirus et l'âge.

#### 4. Distribution du statut sérologique en fonction de sexe.

Nos résultats sérologiques montrent que l'infection semble se produire beaucoup moins fréquemment chez les hommes 10,22% que chez les femmes 25,55% cette différence est non significative. On peut donc conclure qu'il n'existe pas une différence entre le sexe et statut immunitaire et que le sexe n'influence pas sur de le statut immunitaire.



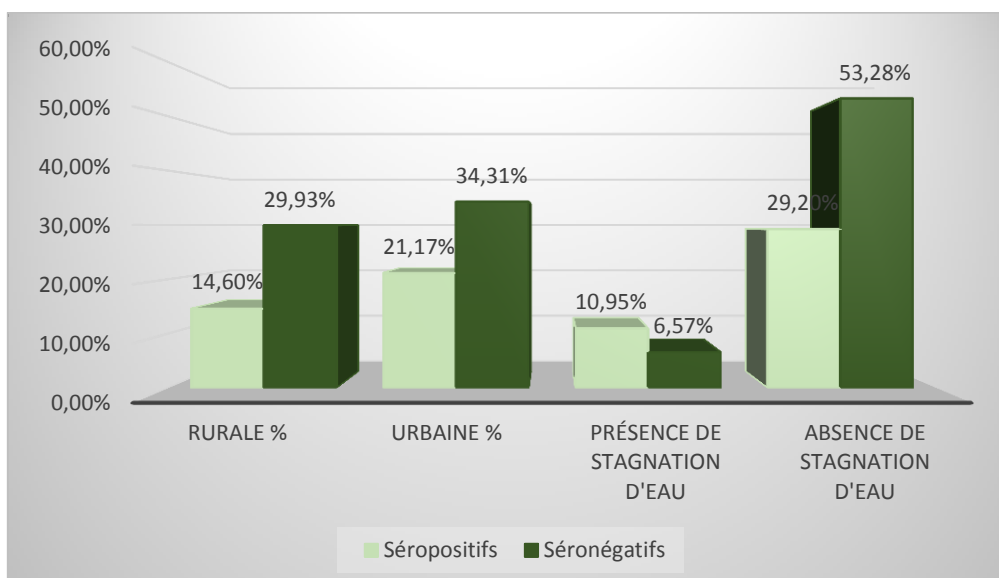
**Figure 17** : Répartition des patients en fonction du statut sérologique et du sexe.

#### 5. Distribution des résultats sérologiques en fonction de l'habitat (Rurale ou Urbain), Stagnation d'eau, présence de moustiques

- Répartition des résultats sérologiques selon l'habitat (Rurale ou Urbain, Présence ou absence de stagnation d'eau )

Les patients séropositifs présentant des IgG anti- phlébovirus sont présentés avec un pourcentage **21.17%** résidaient dans un habitat Urbain avec **53.66%** d'un taux global de **53.28%** des patients et **14.60%** d'un taux global de **44.53 %** d'habitat Rurale, une association statistiquement **non significative**. Le statut séropositif est de **10.95%** en cas de présence de stagnation d'eau avec un taux global **29.20%** en cas d'absence de stagnation d'eau avec un taux global **82.48%**. On note une association **non significative**. On peut donc conclure qu'il

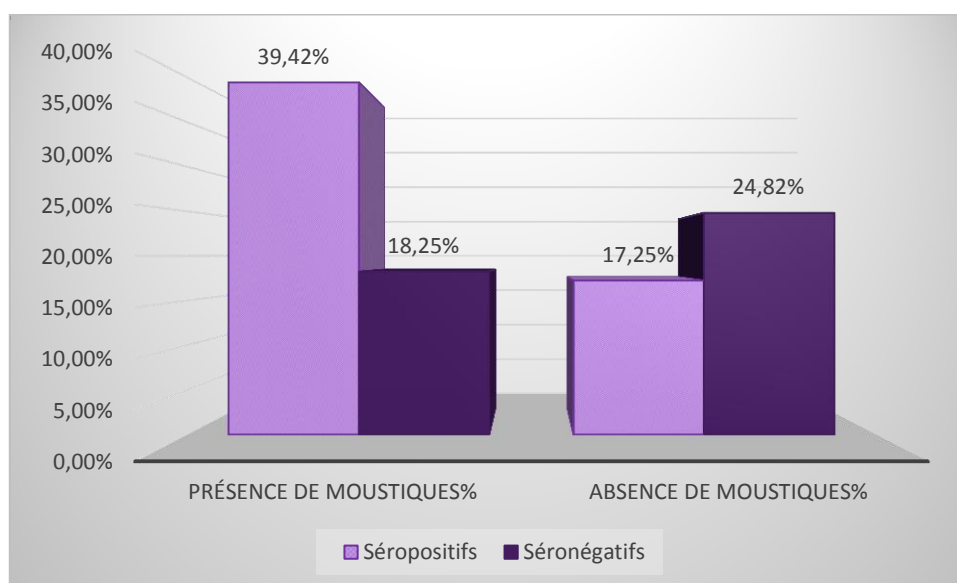
n'existe aucune différence entre l'habitat et statut immunitaire et que l'habitat n'a pas d'influence sur de le statut immunitaire.



**Figure 148 :** Répartition des résultats sérologiques en fonction de l'habitat (Rural/Urban), la présence/Absence de stagnation d'eau.

- **Répartition des résultats sérologiques selon la présence des moustiques**

Le statut séropositif est très présent avec **39.42%** d'un taux global de **57.67%** de la présence de moustiques, contrairement à son pourcentage de **17.25%** d'un taux global de **42.07%** en absence de moustiques. Une association **très significative  $\leq 0.01$** . On peut donc conclure qu'il existe une différence très significative entre la présence de moustiques et le statut immunitaire et que la présence de moustiques influence sur le statut immunitaire.



**Figure 159 :** Répartition des résultats sérologiques en fonction de la présence de moustiques.



Distribution des paramètres biologiques chez les patients

**Tableau II: Distribution des paramètres biologiques chez les patients**

Paramètres Biologiques		Patients							
		Les activités sériques des enzymes hépatiques							
		Positif Négatif	Effectif total	Valeurs extrêmes	Valeurs usuelles	Moyenne	Ecart-type	Test Khi-deux	P valeur
ALAT (UI/L)	P	14	43	12 à 60	≤38	26.714	11.2902	0.644 <sup>a</sup>	0.422
	N	29				23,928	10,048		
ASAT (UI/L)	P	14	43	10 à 68	≤40	27,642	13.2265	0.018 <sup>a</sup>	0.892
	N	29				26,413	18,736		
PAL (UI/L)	P	10	23	92 à 600	200-400	171	129,56	0.765 <sup>a</sup>	0.160
	N	13				167,2	63.631		
<b>Hémogramme</b>									
		Positif Négatif	Effectif total	Valeurs extrêmes	Valeurs usuelles	Moyenne	Ecart-type	Test Khi-deux	P valeur
HGB (g/dl)	P	16	56	5.6 à 16.7	11.0 à 16.0	12.00	1.7329	4.038 <sup>a</sup>	0.044
	N	40				13,66	1,258		
GB (*10 <sup>3</sup> /l)	P	16	56	1.4 à 16.2	4.0 à 10.0	11.00	2.794	0.027 <sup>a</sup>	0.898
	N	40				8,33	3,109		
Lym %	P	16	56	12.8 à 58.8	20 à 40	34.33	7.388	2.024 <sup>a</sup>	0.155
	N	40				30,69	10,822		

<b>PLT</b> <b>(*10<sup>3</sup>/l)</b>	<b>P</b>	16	56	30 à 596	<b>100 à 300</b>	271.687	52.357	0.949 <sup>a</sup>	0.330
	<b>N</b>	40				254,825	104,943		

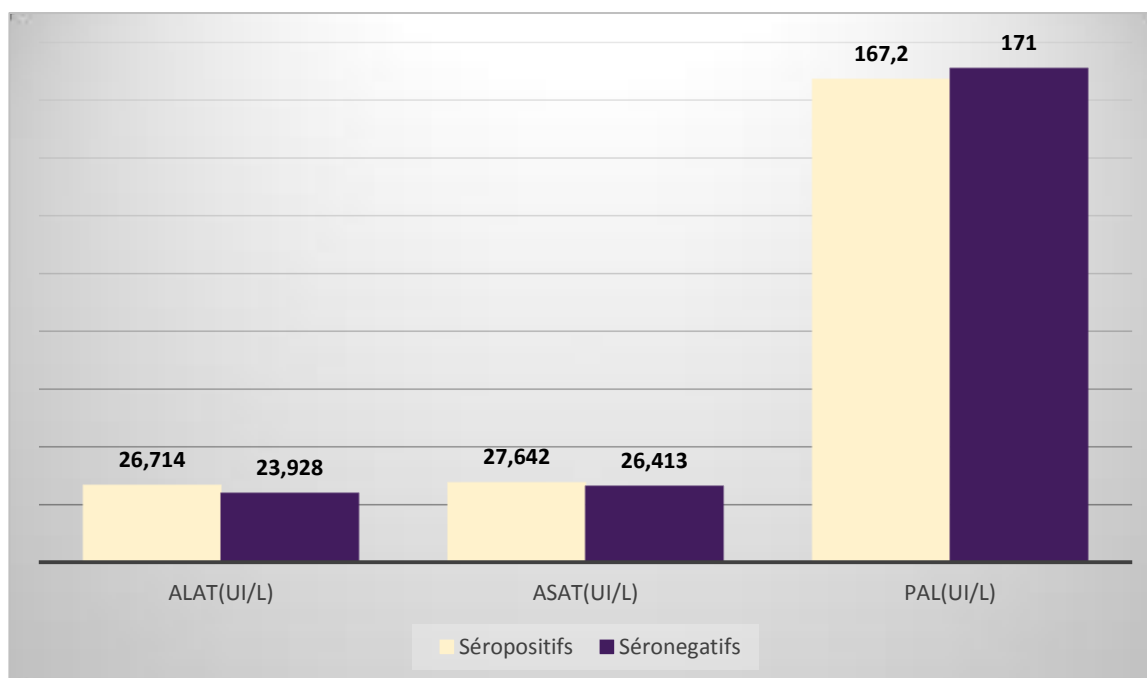
<b>Les activités sériques des paramètres biochimiques</b>									
		Positif Négatif	Effectif total	Valeurs extrêmes	Valeurs usuelles	Moyenne	Ecart- type	Test Khi- deux	P valeur
<b>Glycémie</b> <b>(G/l)</b>	<b>P</b>	47	131	0.60 à 3.20	<b>0.7 à 1.10</b>	1.092	1.0721	2.572 <sup>a</sup>	0.109
	<b>N</b>	84				0.900	0.826		
<b>Urémie</b> <b>(g/l)</b>	<b>P</b>	43	116	0.18 à 2	<b>&lt; 0.40</b>	0,3947	0,2556	0.019 <sup>a</sup>	0.890
	<b>N</b>	73				0,36	0,1299		

Il ressort de ce tableau que :

Les patients présentent des activités sériques moyennes en enzymes hépatiques chez les séropositifs représentés avec respectivement **ALAT (UI/L) = 26.714, ASAT (UI/L) = 26,413**

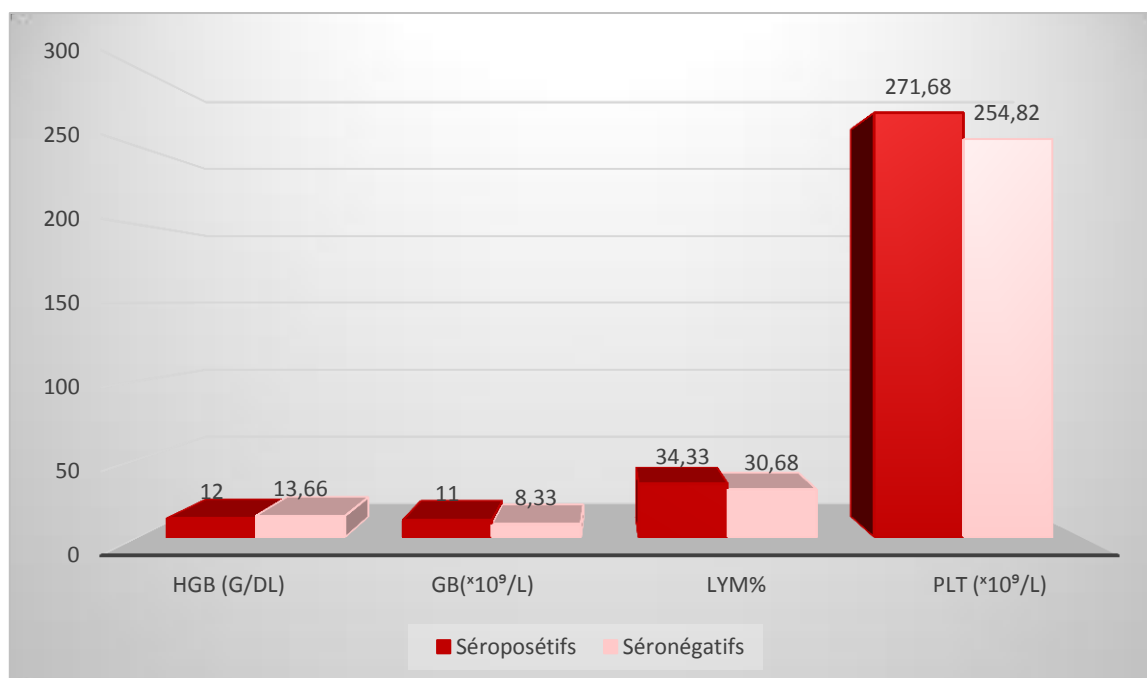
On observe que les différentes concentrations sériques moyennes de patients séropositifs sont comprises dans les limites de référence des valeurs usuelles du système international. On observe que les différentes concentrations sériques moyennes de patients séropositifs sont comprises dans les limites de référence des valeurs usuelles du système international. On note une association non significative des amino-transférases. On peut donc conclure qu'il n'existe pas une différence et que la séropositivité n'influence pas sur aminotransférases (Khi2=0.644a, p=0.422/Khi2 =0.018a, p=0.892).

Les activités sériques moyennes de phosphatases alcalines (PAL), bien qu'un peu augmentées chez les séropositifs que les séronégatifs (respectivement **167,2 UI/L 171 UI/L**) ne diffèrent pas significativement (Khi2 =0.644a, p= 0.422).



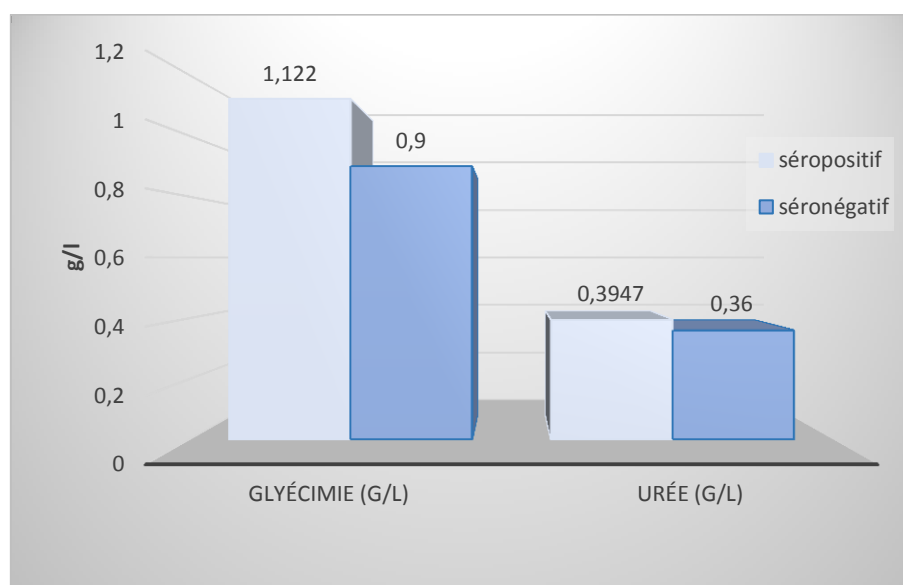
**Figure 20:** Répartition des patients en fonction des activités sériques des enzymes hépatiques.

- Les plaquettes montrent une tendance à augmenter chez les séropositifs avec **271.687 ( $\times 10^3/l$ )** par rapport aux patients séronégatifs avec **254,825 ( $\times 10^3/l$ )**. Sa concentration moyenne diffère non significativement, on peut donc conclure que la séropositivité n'influence pas sur les plaquettes du sang ( $K\chi^2 = 0.949^a$ ,  $p = 0.370$ ).
- Les autres concentrations moyennes (**HGB (g/dl) = 12 GB ( $\times 10^3/l$ ) = 11 Lym % = 34.33** des patients séropositifs demeurent comprises dans les limites de référence des valeurs usuelles du SI.
- Les données statistiques montrent qu'il existe une différence significative entre l'Hémoglobine et le statut immunitaire et que la séropositivité influence sur l'hémoglobine ( $K\chi^2 = 4.038$ ,  $p = 0.044$ ).
- Cependant, On note une association non significative des globules blancs. On peut donc conclure qu'il n'existe pas une différence entre les globules blancs et statut immunitaire et que la séropositivité n'influence pas sur de les globules blancs ( $K\chi^2 = 0.027$ ,  $p = 0.898$ ).
- L'analyse statistique des lymphocytes donne une différence significative entre le pourcentage des lymphocytes et le statut immunitaire et que la séropositivité influence sur les lymphocytes du sang ( $K\chi^2 = 2.024^a$   $p = 0.155$ ).



**Figure 21 :** Répartition des patients selon leurs résultats de l'Hémogramme.

En comparant les activités moyennes des paramètres biochimiques de glycémie et Urée chez les patients séropositifs avec une valeur de **glycémie 1.092 g/l** et **Urémie 0,3947 g/l** située très légèrement au-dessous de la limite supérieure des valeurs usuelles de référence mais nous n'observons pas de différence significativement de leurs valeurs chez les patients séronégatifs que la séropositivité n'influence pas sur la glycémie ( $\text{Khi}2 = 2.572a$ ,  $p = 0.109$ ) et l'urée ( $\text{Khi}2 = 0.019a$ ,  $p = 0.890$ ).



**Figure 22 :** Répartition des patients en fonction des activités sériques des paramètres biochimiques.

## 6. Corrélation des paramètres biochimiques et statut immunitaire séropositif.

**Tableau III : Résultats de test de la Corrélation des paramètres biochimiques et statut immunitaire séropositif.**

Variables	Effectif n=	Corrélation r=	Valeur de p=	Signification	Relation
ALAT	51	0.112	0.432	Non significative au niveau 0.05	Faible
Séropositivité					
ASAT	51	0.019	0.895	Non significative au niveau 0.05	Nulle
Séropositivité					
PAL	51	0.182	0.160	Non significative au niveau 0.05	Faible
Séropositivité					
HGB (g/dl)	60	0.259*	0.045	Significative Au niveau 0.05	Moyenne
Séropositivité					
GB ( $\times 10^3/l$ )	60	0.021	0.871	Non significative au niveau 0.05	Faible
Séropositivité					
Lym %	60	0.317*	0.05	Significative Au niveau 0.05	Moyenne
Séropositivité					
PLT ( $\times 10^3/l$ )	60	0.125	0.339	Non significative au niveau 0.05	Faible
Séropositivité					
Glycémie (G/l)	143	0.134	0.110	Non significative au niveau 0.05	Faible
Séropositivité					
Urémie (g/l)	143	0.012	0.891	Non significative au niveau 0.05	Nulle
Séropositivité					

➤ L'analyse des données de la présente recherche montre que :

Il n'existe pas une corrélation statistiquement significative entre les deux variables ALAT et la séropositivité ( $r=0.112$ ,  $p=0.432$ ). On note une relation Faible.

Il n'existe pas une corrélation statistiquement significative entre les deux variables ASAT et la séropositivité ( $r=0.019$ ,  $p= 0.895$ ). On note une relation Nulle.

Il n'existe pas une corrélation statistiquement significative entre les deux variables PAL et la séropositivité ( $r=0.182$ ,  $p= 0.160$ ). On note une relation Faible.

Il existe une corrélation statistiquement significative entre les deux variables HGB et la séropositivité ( $r= 0.259^*$ ,  $p= 0.045$ ). On note une relation moyenne.

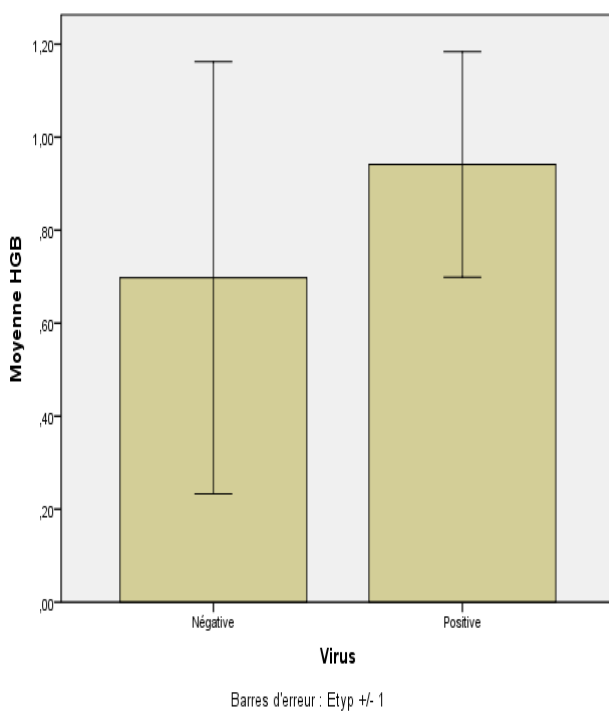
Il n'existe pas une corrélation statistiquement significative entre les deux variables GB et la séropositivité ( $r=0.021$ ,  $p=0.871$ ). On note une relation Faible.

Il existe une corrélation statistiquement significative entre les deux variables LYM et la séropositivité ( $r= 0.317^*$ ,  $p= 0.05$ ). On note une relation moyenne.

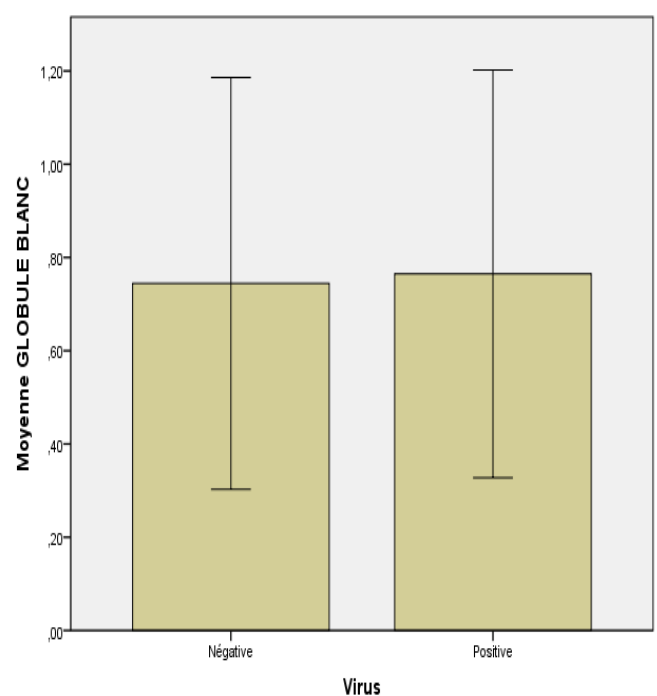
Il n'existe pas une corrélation statistiquement significative entre les deux variables PLT et la séropositivité ( $r=0.125$ ,  $p=0.339$ ). On note une relation Faible.

Il n'existe pas une corrélation statistiquement significative entre les deux variables Gly et la séropositivité ( $r=0.134$ ,  $p=0.110$ ). On note une relation Faible.

Il n'existe pas une corrélation statistiquement significative entre les deux variables Urémie et la séropositivité ( $r=0.012$ ,  $p=0.891$ ). On note une relation Nulle.



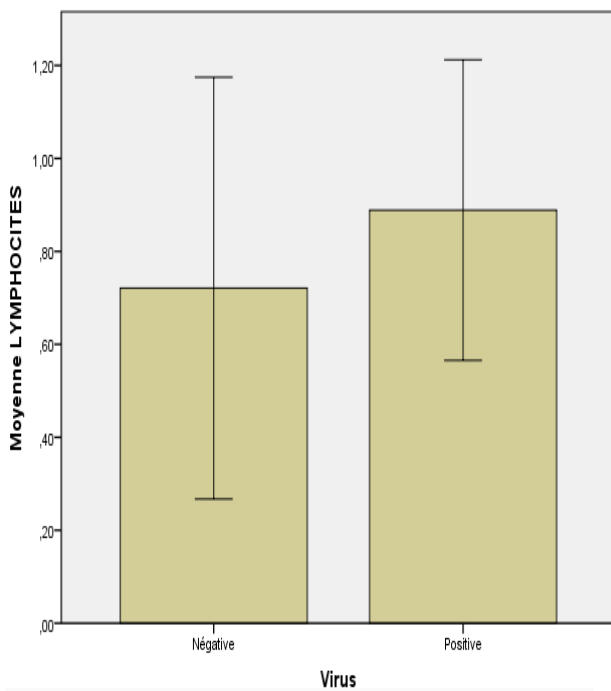
**Figure 23** : Répartition des moyennes de HGB en fonction de statut immunitaire



**Figure 24** : Répartition des moyennes de GB en fonction de statut immunitaire

➔ Diagramme

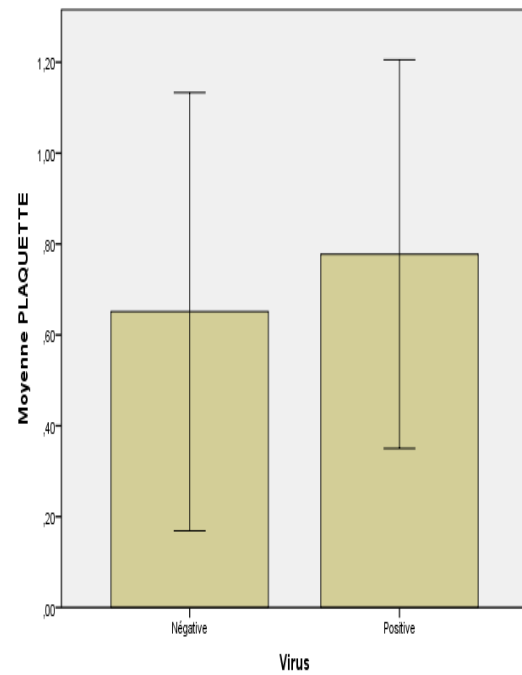
[Ensemble\_de\_données1] C:\Users\raf\Desktop\fatn dossier\Ensemble\_de\_données1 asma.:



**Figure 25 :** Répartition des moyennes des Lym en fonction de statut immunitaire

➔ Diagramme

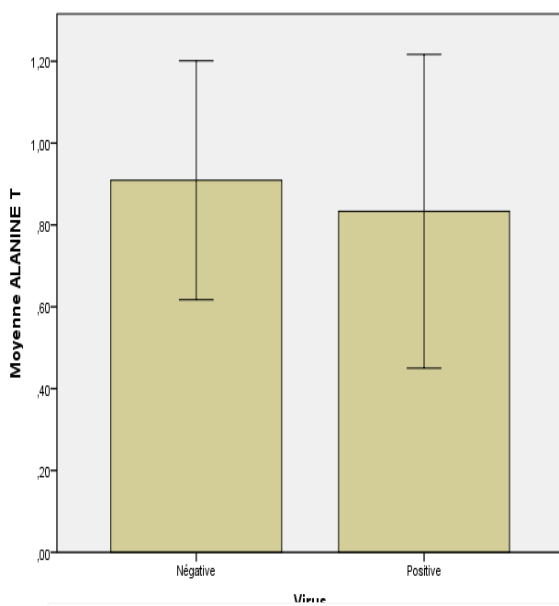
[Ensemble\_de\_données1] C:\Users\raf\Desktop\fatn dossier\Ensemble\_de\_données1 asma.sav



**Figure 26 :** Répartition des moyennes des PLT en fonction de statut immunitaire

➔ Diagramme

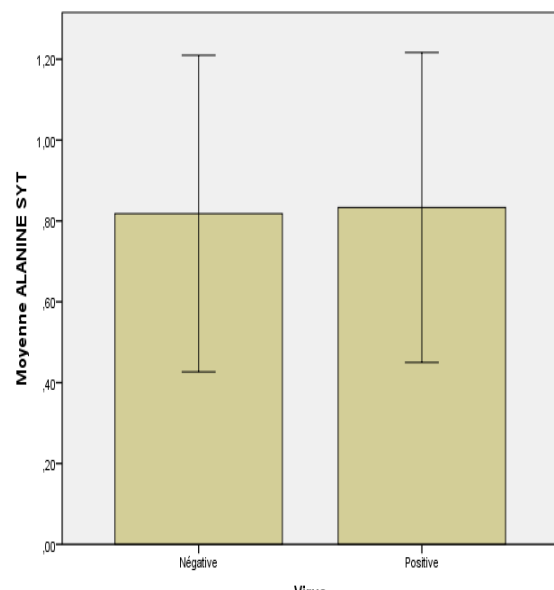
[Ensemble\_de\_données1] C:\Users\raf\Desktop\fatn dossier\Ensemble\_de\_données1 asma.sav



**Figure 27 :** Répartition des moyennes de ALAT en fonction de statut immunitaire

➔ Diagramme

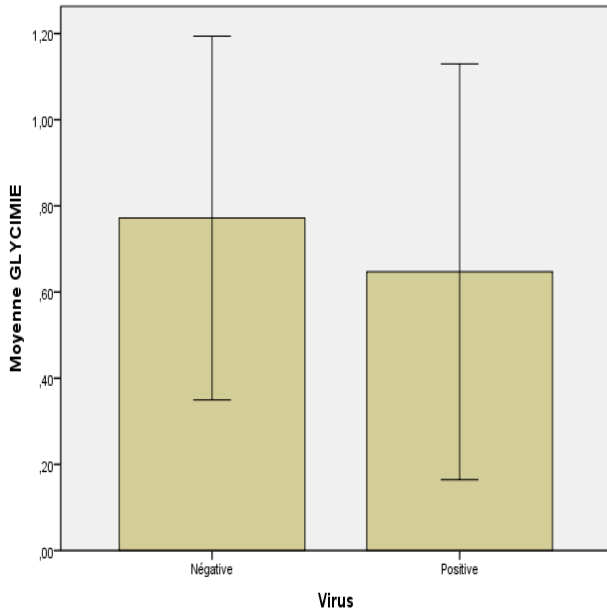
[Ensemble\_de\_données1] C:\Users\raf\Desktop\fatn dossier\Ensemble\_de\_données1 asma.sav



**Figure 28 :** Répartition des moyennes de ASAT en fonction de statut immunitaire

➔ Diagramme

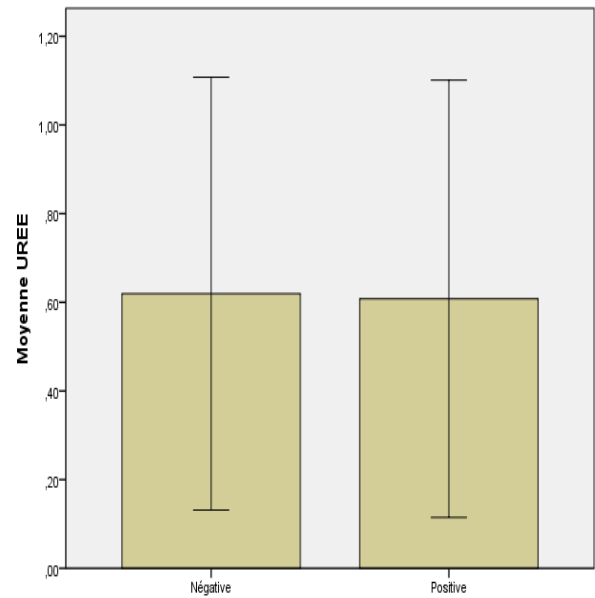
[Ensemble\_de\_données1] C:\Users\raf\Desktop\fatem dossier\Ensemble\_de\_données1 asma.sav



**Figure 29 :** Répartition des moyennes de GLY en fonction de statut immunitaire

➔ Diagramme

[Ensemble\_de\_données1] C:\Users\raf\Desktop\fatem dossier\Ensemble\_de\_données1 asma.sav



**Figure 30 :** Répartition des moyennes de Urémie en fonction de statut



## **II. Discussion**

### **1. Aspects généraux**

Au cours de notre étude, dont la majorité des patients enquêtées étaient de la région de Meftah, la tranche d'âge la plus présente situait entre 25 et 54 ans avec une moyenne  $42.204 \pm 8.76$ , la plupart de ces patients étaient de sexe féminin avec un pourcentage de **66,42%** soit un sexe ratio de 0,53 Cette constatation peut être liée à la prédominance du sexe féminin dans la région de Meftah, la grande partie était d'une habitat urbain avec un pourcentage de **55,48%**, caractérisée par une présence de moustiques avec un pourcentage de 57.66 % et une présence de stagnation d'eau avec un faible pourcentage de **17,52%**.

### **2. Aspects sérologiques**

Durant notre période d'étude, 137 prélèvements ont été traités à la recherche des Anticorps IgG Anti-Phlébovirus, le taux de séroprévalence retrouvé était de 35.77%, 88 séronégatifs qui ne sont pas immunisés et seulement 49 qui étaient immunisés. En effet, nous ne disposons pas de données d'enquêtes ou de publications nous permettant d'avoir une idée sur cette affection dans cette région. La situation des Phlébovirus en Algérie est méconnue, Jusqu'à l'heure actuelle quelques études des enquêtes séro-épidémiologiques ont permis de préciser La prévalence des IgG anti-TOSV dans la population générale ce qui nous a orienté à comparer nos résultats avec la séroprévalence des IgG anti-TOSV pas à celles des Phlébovirus.

Dans notre étude près de 35.77 % de la population possède des anticorps anti-Phlébovirus, nos résultats sont plus faibles que ceux obtenus en Kabylie (**Tizi Ouzou et Draa El Mizan**) ou près de 50% possédaient des anticorps neutralisants anti-TOSV (**Alkan et al., 2015**). Mais proches de ceux rapportés dans le nord de la Tunisie avec un taux global de 35% (**Sakhria et al., 2013**). En revanche nos résultats restent plus élevés que ceux rapportés dans le sud de l'Europe : Turquie avec 17.8% d'anticorps anti-TOSV (**Ergunay et al., 2012**), Portuguel (4.2%) (**Amaro F et al., 2011**) en Espagne le taux de séroprévalence global était de 24,9%, augmentant significativement avec l'âge (**Sanbonmatsu et al., 2005**).

Douze pour cent 12% des sérums de donneurs de sang et 18,9% des sérums de patients hospitalisés pour une infection du système nerveux central contenaient une immunoglobuline G (IgG) réagissant contre les phlébovirus apparentés au TOSV ou à ceux

liés au TOSV en France (**Lamballerie et al., 2007**). En Italie les résultats de séroprévalance ont montré un pourcentage de 17.2 % (**Valassina et al., 2003**), une séroprévalance de 11.26 % a été observée au nord de Grèce (**Anagnostou et al., 2013**). Les mesures de la séroprévalance des Ac Anti-TOSV divergent d'une étude à l'autre. En effet, la prévalence varie non seulement d'une région géographique à l'autre mais également au sein d'une même population. Cette différence peut être expliquée également par le fait que notre étude ciblait le groupe des Phlébovirus, pas le Toscana en particulier.

Ainsi que des résultats confirment que le TOSV (lignée A) est présent dans le nord de l'Algérie dans des phlébotomes appartenant probablement au sous-genre de Larrousius, et que le TOSV infecte l'être humain à un taux plus élevé que celui observé au Sud de l'Europe (**Alkan et al., 2016**). Rappelons aussi que les méthodes d'échantillonnage utilisées, les techniques de diagnostic et leurs seuils de spécificité proposés sont d'une grande variabilité, le caractère hétérogène des protocoles utilisés et des populations enquêtées suggèrent une certaine prudence dans l'interprétation, par conséquent les résultats des sérologies varient entre les différentes études sur le plan international.

Nos données sérologiques basées sur la technique ELISA confirment la circulation des Phlébovirus dans la région de Meftah. Cependant, TOSV et le virus de Naples montrent une relation unidirectionnelle dans les tests de neutralisation : les sérums de TOSV se neutralisent presque au même titre pour le virus TOSV et le virus de Naples, alors que les sérums du virus de Naples ne neutralisent pas le TOSV. Même si le virus de Naples n'a pas été trouvé dans la région, le faible taux de contagion infectieux des phlébotomes ne nous permet pas d'exclure sa présence, maintenant ou dans le passé. La découverte de sérums capables de neutraliser uniquement le virus de Naples (et non le TOSV) démontrerait que le virus de Naples circule toujours dans la région. Dans cette étude, nous n'avons pas effectué ce type d'analyse. Cependant l'ARN du virus de type Naples a été détecté une seule fois (**Moureau et al., 2010**).

A côté de l'évaluation de la séroprévalance Ac anti- Phlébovirus chez nos patients, nous nous sommes intéressés aux facteurs de risque afin de les déterminer.

La constatation la plus importante et qui mérite une très grande attention, est que ce travail a pu mettre l'accent sur un facteur très important qui semble être directement lié avec la séroprévalance du virus TOSV. Une répartition entre le statut immunitaire et là

présence/absence des moustiques a montré que 39.42% des patients ayant des Ac Anti-Phlébovirus ont un contact avec les moustiques, alors qu'un taux de 17.52% présentant des IgG Anti- Phlébovirus n'ont pas été en contact, cette différence statistiquement très significative  $p=0.002$  autrement dit, l'activité des Phlébovirus dans une région donnée semble être directement liée à l'abondance de leurs vecteurs phlébotomes. En raison de la nature de notre étude, il n'a pas été possible de définir les espèces de phlébotomes par lesquelles les Phlébovirus ont été transmis. Cependant, étant donné que, selon des études antérieures menées en Algérie (**Izri et al., 2008**) la plupart des phlébotomes appartenaient à *P. perniciosus* et qu'on sait que le TOSV est transmis par des espèces du sous-genre *Larrousius*, le plus souvent par *P. perniciosus* et *P. perfiliewi*, on peut supposer que la situation dans la région de Meftah ne contredit pas les données existantes.

Concernant la relation entre la présence de stagnation d'eau dans l'entourage de nos patients et leurs statuts immunitaires, on a constaté que 10.95% des patients ayant des IgG anti- Phlébovirus d'un taux total de 17.52% habitent à proximité des eaux stagnantes, cette dernière peut expliquer le pourcentage bas de la séroprévalence trouvée en limitant la transmission de maladies à l'homme par les insectes vecteurs, alors que 29.20% de patients portant des IgG anti- Phlébovirus ne résident pas dans ces mêmes sites.

Cette différence statistiquement est non significative, ces données apparaissent comme risques potentiels d'acquisition des anticorps anti- Phlébovirus. Les Phlébotomes ont besoins d'eau stagnante pour leur reproduction. Dans ces milieux, l'humidité relative est également un facteur ayant favorisé le développement larvaire des phlébotomes et le déclenchement de la maladie.

Une répartition entre les statuts immunitaires et l'habitat (Rurale/ Urbain) a montré que 21.17% des patients ayant des Ac Anti- Phlébovirus résident dans des zones urbaines, par rapport à une population rurale présentant une prévalence de 14.60% pour les IgG Anti-Phlébovirus La différence régionale reste statistiquement non significative , le pourcentage élevé des cas constaté dans le milieu urbain peut être lié à plusieurs facteurs socio-économique et sécuritaire parmi lesquels : on fait remarqué que la région de Meftah est beaucoup plus une région sub-urbaine qu'urbaine où le rural s'est rapproché de la zone urbaine, les mauvaises conditions d'habitation (constructions illicites et anarchiques) et les insuffisances de l'assainissement domestiques (absence de système de gestion des déchets,

canalisation défectueuse) peuvent favoriser le développement des sites de reproduction et de repos des phlébotomes. Différemment à une étude réalisée à Sienne (Italie), les populations vivantes dans les zones rurales et pratiquant des activités en plein air sont les plus exposées au risque d'infection par le TOSV. Une étude sur les risques professionnels réalisée auprès de travailleurs forestiers à Sienne, Florence et Arezzo a montré que 77,2% d'entre eux présentaient des IgG positives pour le TOSV, par rapport à une population urbaine présentant une prévalence de 22% pour les IgG. En revanche, 6% des travailleurs forestiers de la région du Piémont présentaient des IgG anti-TOSV (**Valassina et al.,2003**).

Une différence significative  $p=0.028$  a été observée entre les tranches d'âge, Nos données sérologiques ont montré un taux IgG anti- Phlébovirus de 1.46% chez les patients âgés de moins 14ans à 21.17% chez les patients âgés entre 25-54 ans, un taux plus faible de 5.84% chez les patients âgés plus de 55 ans ce qui en rapports avec une étude menée en Toscane, Italie a montré un taux IgG anti-TOSV de 4% chez les patients âgés de moins 15ans à 19.8% chez les le patients âgés de plus de 65 ans significative (**Terrosi et al.,2009**). Le faible taux de séroprévalence observé chez les enfants pourrait être liée à une exposition plus faible aux vecteurs.

Nos résultats sérologiques ont montré que l'infection semble se produire beaucoup moins fréquemment chez les hommes 10.22% que chez les femmes 25.55% cette différence est significative  $p=0.029$ , généralement les femmes sont les plus impliqués dans le nettoyage et l'entretien de la maison, en nourrissant les animaux et donc à proximité des habitats des Phlébotomes. Ces données sont en accord avec les résultats rapportés en Tunisie, la séroprévalence obtenue variait entre les deux sexes ; 14.6% femmes et 6.3% hommes (**Fezaa et al., 2013**).

Ensemble, ces résultats suggèrent fortement que les Phlébovirus affecte fortement les personnes exposées au phlébotome dans le nord de l'Algérie. Ces régions côtières sont les plus peuplées, avec au moins 14 millions d'Algériens exposés au risque d'infection par les Phlébovirus. Étant donné que ces virus sont à l'origine de divers types de maladies, allant des maladies fébriles à résolution automatique aux infections du système nerveux central et périphérique. De part cette réalité, les maladies liées aux phlébovirus ne sont pas une priorité ou un problème de santé publique en Algérie, il est maintenant nécessaire de mettre

en œuvre le diagnostic de ces infections virales dans les régions où la circulation est forte pendant la saison chaude.

### 3. Aspects Biochimiques

Afin d'évaluer les connaissances de la séroprévalence des phlébovirus nous sommes intéressés à étudier le caractère biochimique des infections à phlébovirus à la phase tardive présentant des IgG anti-Phlébovirus.

A notre connaissance, cette étude a été la première à développer une corrélation entre les paramètres biochimiques et le statut immunitaire des infections à phlébovirus en Algérie.

Les patients présentent des activités sériques moyennes en enzymes hépatiques chez les séropositifs représentés avec respectivement ALAT (UI/L) = 26.714, ASAT (UI/L) = 27.642.

Les différentes concentrations sériques moyennes de patients séropositifs sont comprises dans les limites de référence des valeurs usuelles du système international. Nous concluons qu'il n'existe pas une différence significative et que la séropositivité n'influence pas sur les aminotransférases  $p=0.422$  et  $p=0.892$ . Pas de corrélation statistiquement significative entre les deux variables ALAT et la séropositivité ( $r=0.112$ ,  $p=0.432$ ) ou encore entre les deux variables ASAT et la séropositivité ( $r=0.019$ ,  $p=0.895$ ), nous notons une relation Faible à nulle.

Par conséquent les concentrations de l'activité sérique moyenne des enzymes hépatiques ne peuvent pas confirmer l'atteinte infectieuse par les phlébovirus, les deux aminotransférases sont nettement normales.

Les activités sériques moyennes de phosphatases alcalines (PAL), bien que peu augmentées chez les séropositifs que les séronégatifs (respectivement 171 UI/L 167.2 UI/L) ne diffèrent pas significativement  $p=0.422$ . Il n'existe pas une corrélation statistiquement significative entre les deux variables PAL et la séropositivité ( $r=0.182$ ,  $p=0.160$ ). Cette élévation mise en évidence pouvant être donc exagérée par la médication pratiquée par les patients.

Les plaquettes sont présentées chez les séropositifs avec 271.687 ( $\times 10^3/l$ ). Sa concentration moyenne diffère non significativement  $p=0.370$ . Il n'existe pas une

corrélation statistiquement significative ( $r=0.125$ ,  $p=0.339$ ). Nous notons une relation faible entre les deux variables PLT et la séropositivité.

L'analyse statistique des lymphocytes donne une différence significative entre le pourcentage des lymphocytes du sang et le statut immunitaire  $p= 0.155$ . Une corrélation statistiquement significative est observée avec une relation moyennement présentée ( $r= 0.317^*$ ,  $p= 0.05$ ). Les effecteurs spécifiques de la réponse immunitaire incluent toutes les classes de lymphocytes. Les lymphocytes T CD4, les lymphocytes T CD8 et les lymphocytes B sont responsables de réponses immunes spécifiques incluant les réponses cytotoxiques et la production d'anticorps. Pour effectuer leur action cytolytique sur les cellules infectées aux Phlébovirus. Les lymphocytes B activés par les lymphocytes T sont responsables de la production des anticorps de classes IgM et IgG dirigés contre les antigènes viraux.

Les données statistiques montrent qu'il existe une différence significative entre l'Hémoglobine et le statut immunitaire  $p= 0.044$ . Il existe une corrélation statistiquement significative entre les deux variables HGB et la séropositivité ( $r= 0.259^*$ ,  $p= 0.045$ ). Ce taux d'hémoglobine peut s'expliquer d'une part par le traitement conduit chez certains patients et d'autre part du fait qu'il avait eu des patients aléatoires.

Les activités moyennes des paramètres biochimiques de glycémie et Urémie chez les patients séropositifs avec une valeur de glycémie 1.092 g/l et Urée 0.39g/l situés très légèrement au-dessous de la limite supérieure des valeurs usuelles de référence mais nous n'observons pas de différence significative de leurs valeurs chez les patients séronégatifs  $p= 0.109$  et l'urée  $p= 0.890$ . Il n'existe pas une corrélation statistiquement significative. Cependant, nous ne notons pas une corrélation significative des globules blancs. Nous concluons donc qu'il n'existe pas une différence entre les globules blancs et statut immunitaire ( $p= 0.898$ ,  $r=0.021$ ).

L'atteinte infectieuse des Phlébovirus ne provoque pas généralement des perturbations des activités ou des concentrations sériques des marqueurs biochimiques à la phase passée caractérisée par la présence des IgG anti- Phlébovirus. Par ailleurs, leur évolution au cours de la phase aigüe peut s'accorder avec des perturbations du bilan biochimique.

Enfin, seule la sérologie virale confirme le diagnostic des infections à Phlébovirus.

## Conclusion

Des études récentes ont montré que les *Phlébovirus* ne se limitaient pas au sud de l'Europe, mais qu'ils étaient également présents dans des pays d'Afrique du Nord tels que la Tunisie et le Maroc.

Cependant, au début de notre étude, peu de données étaient disponibles pour l'Algérie. Des études sérologiques récentes ont révélé la présence de virus spécifiques aux IgG appartenant aux sérocomplexes .

Compte tenu de l'absence de séroprévalence estimée dans la région de Meftah Wilaya de Blida, la situation épidémiologique des *Phlébovirus* est méconnue.

Notre étude a permis de :

- Confirmer la circulation des *Phlébovirus* appartenant aux sérocomplexes dans la région de Meftah par la technique ELISA indirect maison, et que les *Phlébovirus* infectent l'être humain à un taux beaucoup plus élevés que ceux décrits dans la majorité des pays d'Europe du Sud.
- Situer la séroprévalence des *Phlébovirus* chez la population de Meftah dans le secteur sanitaire de l'EPH Meftah, wilaya de Blida.
- Apprécier le risque encouru.
- L'activité des *Phlébovirus* dans la région semble être directement liée à l'abondance de leurs vecteurs phlébotomes.
- Le taux le plus élevé des IgG anti- *Phlébovirus* est marqué chez les adultes ayants âge entre 25-54 ans.
- Souligner sur le bilan biochimique absence des perturbations nettement observées lors de la recherche d'une corrélation séro-biochimique.

En perspectives, cette étude peut être confirmée par d'autres épreuves sérologiques telle que la séroneutralisation afin de mieux caractériser le *Phlébovirus* circulant, encore élargir la zone d'étude pour mieux estimer la séroprévalence. Sur le plan biochimique l'étude des infections aiguës pourra apporter des perturbations biochimiques.

Ce fait doit être pris en compte pour mettre rapidement en œuvre le diagnostic des *Phlébovirus* au Centre national de référence pour les arbovirus et dans les laboratoires afin de créer la capacité de détecter les infections par *Phlébovirus* chez les patients atteints d'infections et d'estimer la charge provoquée de ces virus en Algérie.

### III. Références

#### A

Adams MJ (2017). Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch Virol* 162:2505–2538.

Amroun, A (2017). Bunyaviridae RdRps: structure, motifs, and RNA synthesis machinery. *Crit Rev Microbiol* 43: 753-778.

Alkan C ; Kasap, O.E.; Alten, B.; de Lamballerie, X.; Charrel, R.N. (2016). Sandfly-borne phlebovirus isolations from Turkey: New insight into the sandfly fever Sicilian and sandfly fever Naples species. *PLoS Negl. Trop. Dis*, 10, e0004519.

Amaro, F Hanke, D.; Ze-Ze, L.; Alves, M.J.; Becker, S.C.; Hoper, D (2016). Genetic characterization of Arrabida virus, a novel phlebovirus isolated in South Portugal. *Virus RES*. 214, 19–25.

Arishi, H.; Ageel, A.; Rahman, M.A.; Hazmi, A.A.; Arishi, A.R.; Ayoola, B.; Menon, C.; Ashraf, J.; Frogusin, O.; Sawwan, F. *Am J Trop. Med Hyg*; 92:669-75 (2015). Infantum in Turkey

Alkan, C Bichaud, L.; de Lamballerie, X.; Alten, B.; Gould, E.A.; Charrel, R.N (2015). De Lamballerie Isolation, genetic characterization, and seroprevalence of Adana virus, a novel phlebovirus belonging to the Salehabad virus complex, in Turkey. *J. Virol.* 89, 4080–4091.

Alkan, C Bichaud, L.; de Lamballerie, X.; Alten, B.; Gould, E.A.; Charrel, R.N. (2013). Sandfly-borne phleboviruses of Eurasia and Africa: Epidemiology, genetic diversity, geographic range, control measures. *Antivir. Res.* 100, 54–74.

Anagnostou, V., & Papa, A. (2013). Prevalence of antibodies to phleboviruses within the sand fly fever Naples virus species in humans, northern Greece. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(6), 566-570.

Abdel-Wahab K (1978). Rift Valley Fever virus infections in Egypt: Pathological and virological findings in man. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 72(4), 392-396.

#### B

Benshir I (2018). *Infections à Virus de la Toscane*, Thèse de doctorat en médecine. Université de Rabat. 130 p. Bichaud L (2016). Isolation, full genomic characterization and neutralization-based human seroprevalence of Medjerda Valley virus, a novel sandfly-borne phlebovirus belonging to the Salehabad virus complex in northern Tunisia. *J. Gen. Virol.* 97, 602–610.

Boshra H Lorenzo, G.; Busquets, N.; Brun, A. Rift Valley fever: Recent insights into pathogenesis and prevention. *J. Virol.* (2011). Rift Valley fever: Recent insights into pathogenesis and prevention. *J. Virol.* 85, 6098–6105.

Bounamous A. Bird, B.H.; Ksiazek, T.G.; Nichol, S.T.; Maclachlan, N.J (2010). Biosystématique et caractérisation par la biologie moléculaire des phlébotomes de l'Est algérien. Thèse de Doctorat en Biologie. Université de Constantine. 304 p.

#### C

Charrel R N.; Bichaud, L.; de Lamballerie, X. (2012). Emergence of Toscana virus in the mediterranean area. *World J. Virol.* 1, 135–141.

Charrel R N.; Bichaud, L.; de Lamballerie, X. (2012). Emergence of Toscana virus in the mediterranean area. *World J Virol*,1: 135-41



Ciufolini M (1991). Laboratory reared sandflies (Diptera: Psychodidae) and studies on phleboviruses. *Parassitologia*. 33: 137-42.

Ciufolini M (1989). Experimental studies on the maintenance of Toscana and Arbia viruses (Bunyaviridae: Phlebovirus). *Am J Trop Med Hyg* 40: 669-75.

Calisher C (1987). Toscana virus infection in United States citizen returning from Italy. *The Lancet*, 329(8525), 165-166.

Coetzer J (1982). The pathology of Rift Valley fever. II. Lesions occurring in field cases in adult cattle, calves and aborted foetuses.

Coetzer J (1977). Hydrops amnii in sheep associated with hydranencephaly and arthrogryposis with wesselsbron disease and rift valley fever viruses as aetiological agents.

Charrel, R. N., Izri, A., Temmam, S., Delaunay, P., Toga, I., Dumon, H., ... & Parola, P. (2007).

Cocirculation of 2 genotypes of Toscana virus, southeastern France. *Emerging infectious diseases*, 13(3), 465.

## D

Dincer E (2015). Potential animal reservoirs of Toscana virus and coinfections with *Leishmania infantum* in Turkey. *Am J Trop Med Hyg*, 92 :690-7.

DIF.S (2015) Revue bibliographique sur les phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et leur rôle dans la transmission de la leishmaniose thèse de doctorat en Biologie, Evolution et contrôle des populations des insectes.

Dincer E (2014) Potential animal reservoirs of Toscana virus and coinfections with *Leishmania*

Dene Edith K (2010). SUIVI DES PARAMETRES BIOLOGIQUES DES PVVIH SOUS TRAITEMENT ARV A L'EPH DE GAO. Thèse de doctorat en Pharmacie Université de Mali.

Di Bonito P (1999). Immunological characterization of Toscana virus proteins. *Arch Virol*, 144: 1947-60.

Di Bonito P (1997). Organization of the M genomic segment of Toscana phlebovirus. *J Gen Virol* ; 78 : 77-81.

DOLMATOVA A (1971). Les phlébotomes (Phlebotominae) et les maladies qu'ils transmettent. Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre-Mer (ORSTOM), 168p

## E

Eleonore M Es-sette, N., Ajaoud, M., Anga, L., Mellouki, F., & Lemrani, M (1995). Etude biochimique de l'évolutions de marqueurs hépatiques chez l'adulte noir burkinabe atteint d'hépatite b aigue, comparativement à des sujets adultes considérés sains. Thèse de doctorat en médecine.

Ehrnst, A (1985). Neurovirulent Toscana virus (a sandfly fever virus) in Swedish man after visit to Portugal. *The lancet*, 325(8439), 1212-1213.

## F

Fezaa, O., Bahri, O., Bouafif, N. B. A., Triki, H., & Bouattour, A. (2013). Seroprevalence of Toscana virus infection in Tunisia. *International Journal of Infectious Diseases*, 17(12), e1172-e1175.

Fontenille D (2009). Infection à virus Toscana : principales données épidémiologiques, arbovirose autochtone du pourtour méditerranéen. In *La lutte antivectorielle en France*. IRD Éditions. doi : 10.4000/books.irdeditions.1309

## G

Gaudreault N (2018). Molecular aspects of Rift Valley fever virus and the emergence of reassortants. *Virus genes*, 1-11.

Giannini EG (2005). Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ*.Feb 1;72(3):367-79.

Gubler, D. J. (2001). Human arbovirus infections worldwide. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 951(1), 13-24.

## I

Izri A (2008). Sandfly fever Sicilian virus, Algeria. *Emerging Infectious Diseases*, 14(5), 795.

## K

KAMHAWI S (2000). The biological and immunomodulatory properties of sand fly saliva and its role in the establishment of *Leishmania* infections. *Microbes and Infection*, 2, 1765-1773

KOLB -BACHOFEN V (1991). A review on the biological properties of C-reactive protein. *Immunobiology*;183: 133-45.

Kingsford L (1991). Antigenic variance. *Curr Top Microbiol Immunol*; 169: 181-216.

## L

LAWYER P (2000). Leishmaniasis and trypanosomiasis In: *Medical Entomology – A textbook on public health and veterinary problems caused by arthropods*, Academic Publishers, Dordrecht, 231-298

LEGER N (1999). Les phlebotomes. In : *Les leishmanioses*, coordianteur J.-P. DEDET, Editions Ellipses, Collection. Universites Francophones, Paris,89-109

LANE R (1993). *Medical Insects and Arachnids* Springer, Editions Chapman & Hall, 78-119

Laughlin L (1979). Epidemic Rift Valley fever in Egypt: observations of the spectrum of human illness. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(6), 630-633.

## M

Moureau, G., Bichaud, L., Salez, N., Ninove, L., Hamrioui, B., Belazzoug, S., ... & Charrel, R. N. (2010). Molecular and serological evidence for the presence of novel phleboviruses in sandflies from northern Algeria. *The open virology journal*, 4, 15.

Madani T (2003). Rift Valley fever epidemic in Saudi Arabia: epidemiological, clinical, and laboratory characteristics. *Clinical Infectious Diseases*, 37(8), 1084-1092.

Magurano F (1999). Humoral response in Toscana virus acute neurologic disease investigated by viral-protein-specific immunoassays. *Clin Diagn Lab Immunol* ; 6 : 55-60.

Madec F (1992). Économie et santé en production porcine. *INRA Productions animales*, 5(2), 149-161.

Maroli M (1993). Vertical transmission of Toscana virus in the sandfly, *Phlebotomus perniciosus*, via the second gonotrophic cycle. *Med Vet Entomol*; 7: 283-6.

Meegan J (1981). Rift Valley fever in Egypt: an overview of the epizootics in 1977 and 1978. In *Proceedings... Rift Valley fever; a workshop*.

Meegan J (1979). The Rift Valley fever epizootic in Egypt 1977–1978 1. Description of the epizootic and virological studies. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(6), 618-623.

Maar S. (1979). Rift Valley fever encephalitis. A description of a case. *The Central African journal of medicine*, 25(1), 8.

## P

Peters, C (1989). Pathogenesis of viral hemorrhagic fevers: Rift Valley fever and Lassa fever contrasted. *Reviews of infectious diseases*, 11(Supplement\_4), S743-S749.

Pifat D. (1988). Antigenic analysis of Punta Toro virus and identification of protective determinants with monoclonal antibodies. *Virology* 1988; 167: 442-50.

## R

RUTLEDGE L (2009). Moth flies and sand flies (Psychodidae) In: Medical and veterinary entomology – Second Edition, MULLEN, G.R., DURDEN, L.A., Elsevier, Amsterdam, 153-168

Rodhain, F. (2001). Fièvre jaune, dengue et autres arboviroses. *Encyclopédie médico-chirurgicale, Maladies infectieuses*, 8-062.

Raju R (1989). The ends of La Crosse virus genome and antigenome RNAs within nucleocapsids are base paired. *J Virol*; 63: 122-8.

## S

Spiegel M ., Plegge, T., & Pöhlmann, S (2016). The role of phlebovirus glycoproteins in viral entry, assembly and release. *Viruses*, 8(7), 202.

SHAW S . M., Godsey Jr, M. S., Lambert, A., Panella, N. A., Burkhalter, K. L., Harmon, J. R., ... & Nicholson, W. L. (2005). Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat. Manson Publishing, Londres, 152p

Struthers J (1982). Identification of a major non-structural protein in the nuclei of Rift Valley fever virus-infected cells. *Journal of General Virology*, 60(2), 381-384

Shope R Sakhria, S.; Seston, M.; Fares, W.; (1981). Immunologic status of Rift Valley fever virus. In *Proceedings... Rift Valley fever; a workshop*.

Schrire L. (1956). Rift Valley fever. *Central African Journal of Medicine*, 2(6), 237-240.

## T

Tahir, D., Alwassouf, S., Loudahi, A., Davoust, B., & Charrel, R. N. (2016). Seroprevalence of Toscana virus in dogs from Kabylia (Algeria). *Clinical Microbiology and Infection*, 22(3), e16-e17

Terrosi, C., Olivieri, R., Bianco, C., Cellesi, C., & Cusi, M. G. (2009). Age-dependent seroprevalence of Toscana virus in central Italy and correlation with the clinical profile. *Clin. Vaccine Immunol.*, 16(8), 1251-1252.

Tesh R., Maeda, K., Suzuki, T., Ishido, A., Shigeoka, T., Tominaga, T., ... & Senba **(1992)**. Simulation of arbovirus overwintering: survival of Toscana virus (Bunyaviridae: Phlebovirus) in its natural sand fly vector *Phlebotomus perniciosus*. *Am J Trop Med Hyg*; 47: 574-81.

Trauth B **(1989)**. Monoclonal antibody-mediated tumor regression by induction of apoptosis. *Science*, 245(4915), 301-305

Tesh R. **(1988)**. The genus Phlebovirus and its vectors. *Annu. Rev. Entomol*, 33, 169–181.

Tesh R **(1987)**. Maintenance of Toscana virus in *Phlebotomus perniciosus* by vertical transmission. *Am J Trop Med Hyg*; 36: 189-93.

Tesh R **(1976)**. Serological studies of the epidemiology of sandfly fever in the Old World. *Bulletin of the World Health Organization*, 54(6), 663.

## V

Valassina, M., Cusi, M. G., & Valensin, P. E. **(2003)**. A Mediterranean arbovirus: the Toscana virus. *Journal of neurovirology*, 9(6), 577-583.

Verani P. **(1988)**. Ecology of viruses isolated from sand flies in Italy and characterized of a new Phlebovirus (Arabia virus). *Am J Trop Med Hyg*38: 433-9.

## W

Walter C T.; Barr, J.N. **(2011)**. Recent advances in the molecular and cellular biology of bunyaviruses. *J. Gen. Virol*, 92, 2467–2484.

## Z

ZER R et al. **(2001)** Effect of sand fly saliva on *Leishmania* uptake by murine macrophages. *International Journal for Parasitology*,31, 810-814

## Sites web consultés

International Committee on Taxonomy of Viruses. Phleboviruses. Available online : <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?> (Consulté le 11/02/2019 à 21.19).

Impact of transmission cycles and vector competence on global expansion and emergence of arboviruses. <https://www.semanticscholar.org/paper/Impact-of-transmission-cycles-and-vector-competence-Agarwal> (Consulté le 18/02/2019 à 20.20)

Viral zone. Phlebovirus. [https://viralzone.expasy.org/252?outline=all\\_by\\_species](https://viralzone.expasy.org/252?outline=all_by_species) (Consulté le 20/02/2019 à 00.20)

<http://dictionnaire.academie-medecine.fr/index.php?q=virus+naples> (consulté le 26/02/2019 à 22.30).

Hémogramme : Indications et Interprétation, FACULTÉS DE MÉDECINE DE TOULOUSE on ligne :

[http://www.medecine.ups-](http://www.medecine.ups-tlse.fr/dcem3/module14/316%20Hemogramme%20%20Indications_Interpretation.pdf)

[tlse.fr/dcem3/module14/316%20Hemogramme%20%20Indications\\_Interpretation.pdf](http://www.medecine.ups-tlse.fr/dcem3/module14/316%20Hemogramme%20%20Indications_Interpretation.pdf) (consulté le 20/03/2019 à 12.00)

Anémié, Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud on ligne : [https://lyon-sud.univ-lyon1.fr/servlet/com.univ.collaboratif.utils.LectureFichiergw?ID\\_FICHER=1320402929575](https://lyon-sud.univ-lyon1.fr/servlet/com.univ.collaboratif.utils.LectureFichiergw?ID_FICHER=1320402929575) (consulté le 20/03/2019 à 10.15)  
[http://unt-ori2.crihan.fr/unspf/2010\\_Lille\\_Goffard\\_Virologie/co/05\\_diagnostic\\_indirect.html](http://unt-ori2.crihan.fr/unspf/2010_Lille_Goffard_Virologie/co/05_diagnostic_indirect.html)  
(consulté le 25/6/2019 à 15.30)

## IV. Annexe A : Matériel

### 1. Appareillage



Figure 01 : Vortex



Figure 02 : Agitateur Magnétique

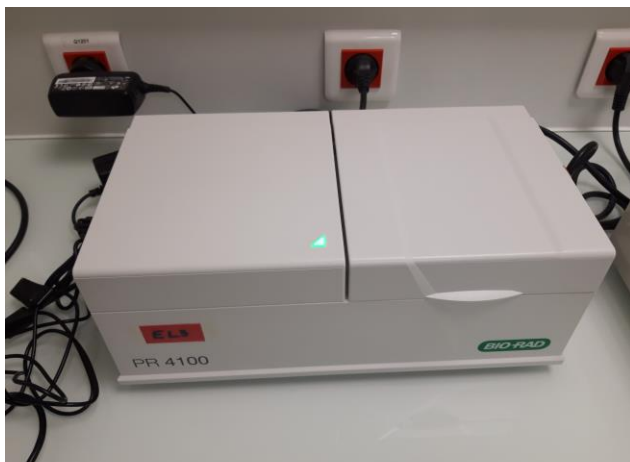


Figure 03 : Spectrophotomètre



Figure 04 : Laveur automatique



Figure 05 : Balance automatique



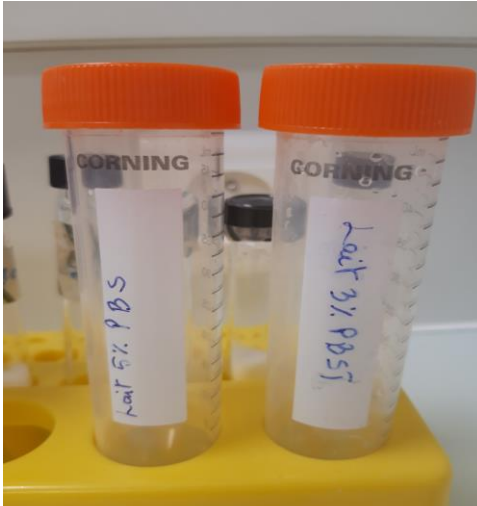
Figure 06 : Bain marie



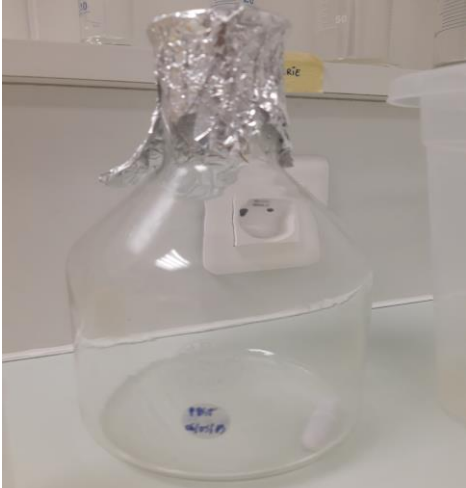
**Figure 07 : PSM classe II**



**Figure 08 : Micro-centrifugeuse**



**Figure 09 : Tube Falcon**



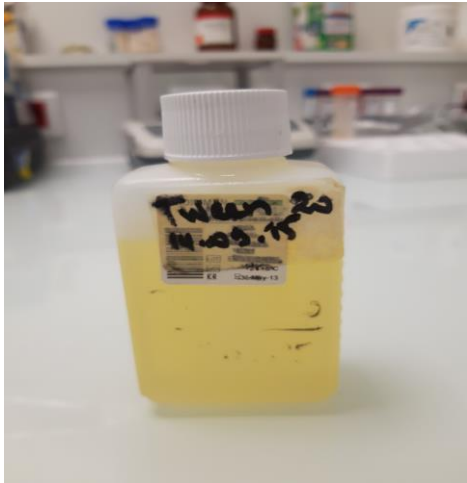
**Figure 10 : Fiole**



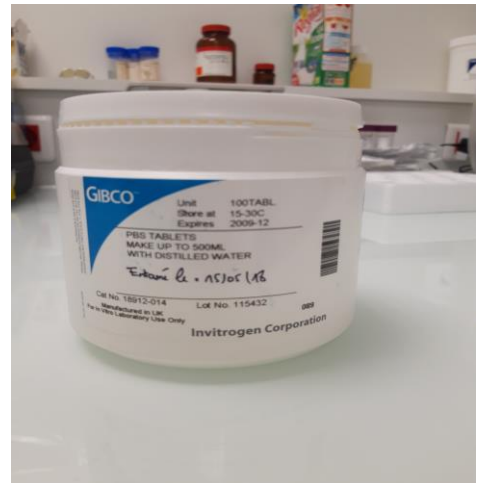
**Figure 11 : Demi-plaquette utilisé**



**Figure 12 : Micropipettes**



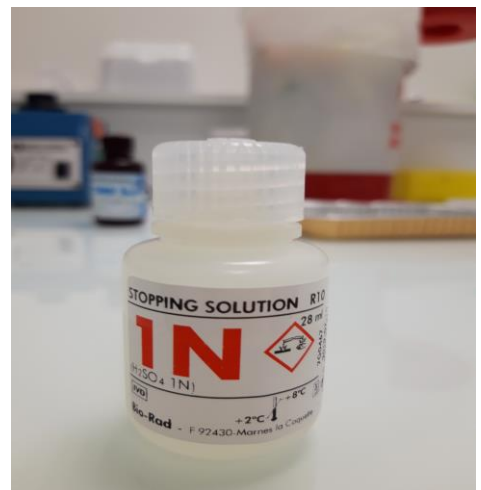
**Figure 01 : Tween 20**



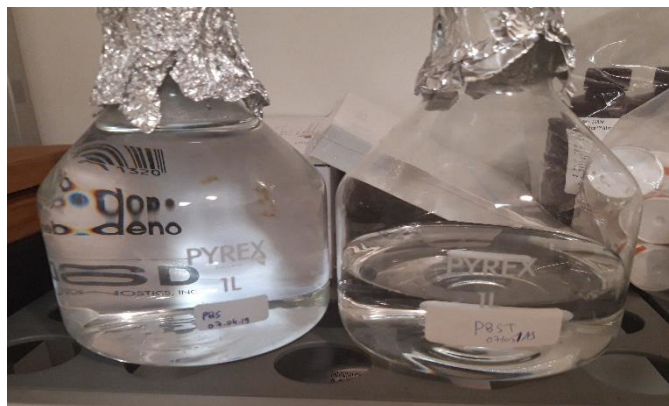
**Figure 02 : pastilles du PBS**



**Figure 03 : Substrat BUFFER**



**Figure 04 : Solution STOP**



**Figure 05 : PBS-PBST20**



### **3. Préparations des Solutions :**

1. **Préparation du PBS :** A l'aide d'une éprouvette, on mélange un litre H<sub>2</sub>O ultra pure fraiche avec deux Pastilles PBS, l'ensemble subit une agitation magnétique pendant 15min et le gardé à + 4 °C avant l'utilisation.
2. **Préparation du lait 5% PBS :** Dissoudre 0.75g du lait écrémé dans un volume de 15ml du PBS et homogénéiser la solution à l'aide d'un vortex.
3. **Préparation du PBST « PBS + 0.05% Tween 20 » :** Dans un flacon on mélange 1L H<sub>2</sub>O ultra pure fraiche avec 2 pastilles PBS, l'ensemble est soumis à une agitation magnétique pendant 15min et on ajoute par la suite 500µl du Tween 20 et le gardé à 4 degrés avant utilisation.
4. **Préparation du lait 3% PBST :** D'une part on prélève 20ml du PBST et d'autre part on pèse 0.6g du lait écrémé. Après les avoir agités ensemble, le mélange reçoit 30µl du NaOH.

## V. Annexe B : Les fiches

### 1. Questionnaire d'enquête : « Fiche de patient »

Fiche des renseignements									Fiche clinique								
N° Ordre	Nom et Prénom	Codification	Age	Sexe	Habitat (Rurale/ urbanaire)	Stagnation d'eau (Présence/Absence)	Moustique(Présence/Absence)	Date	HGB g/dl	GB*10 <sup>9</sup>	Lym%	PLT*10 <sup>9</sup>	Gly	Urée	ALAT	ASAT	PAL
01																	
02																	
03																	
04																	
05																	
06																	
07																	
08																	
09																	
10																	
11																	
12																	

### 2. Fiche de lecture des résultat DO Ag – DO Sur

Echantillon	DO Surnagent	DO Ag	DO Ag - DO Surnagent
PC			
NC			
CI			
Ph 01			
Ph 02			
Ph 03			
Ph 04			
Ph 05			

Ph 06			
Ph 07			
Ph 08			
Ph 09			
Ph 10			
Ph 11			
Ph 12			
Ph 13			
Ph 14			
Ph 15			
Ph 16			
Ph 17			
Ph 18			
Ph 19			
Ph 20			
Ph 21			

## VI. Annexe C : Les tableaux des études statistiques

La moyenne arithmétique (X) des valeurs individuelles :

$$X = \sum \frac{x_i}{n}$$

$x_i$  = somme des valeurs individuelles

$N$  = nombre de valeur

Variance :

$$V = \frac{\sum (x_i - x)^2}{N}$$

$N$  = nombre de valeur

$x_i$  = Valeurs individuelles comparée

$x$  = Moyenne des valeurs individuelles comparées

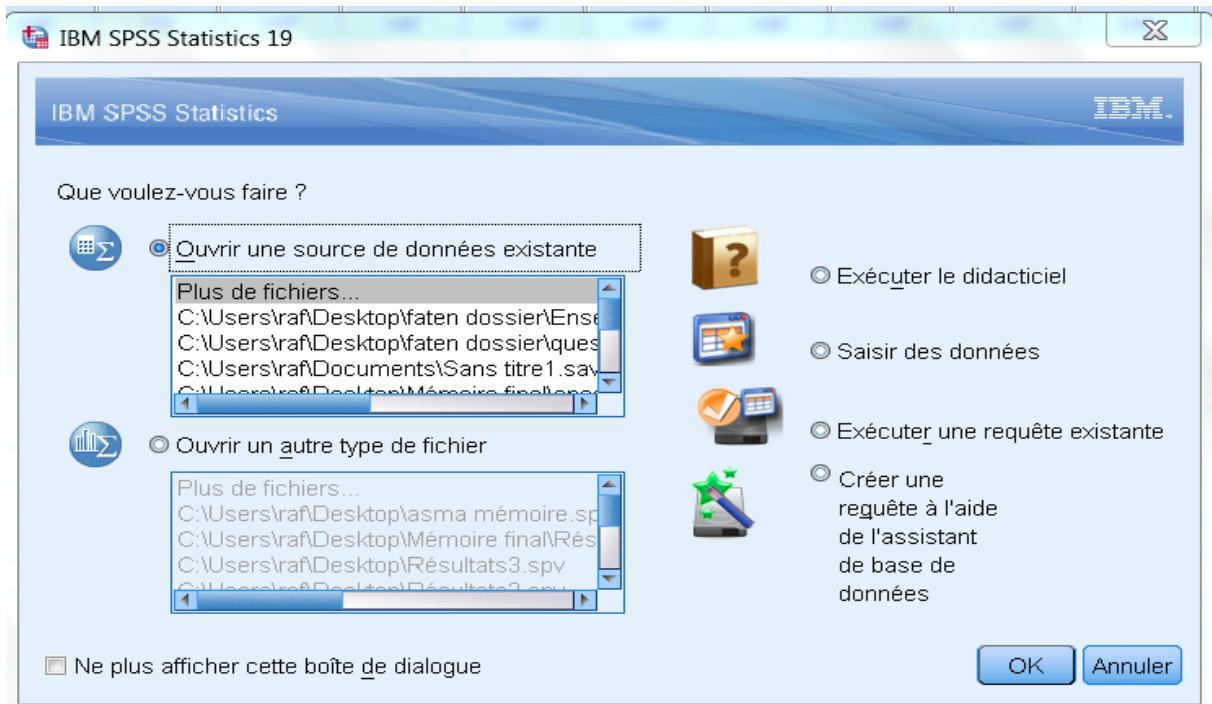
L'écart-type :

$$\delta = \sqrt{V}$$

$\delta$  = Ecarttype

$V$  = Variance

# Le Logiciel IBM SPSS Statistic 19



\*Ensemble\_de\_données1.asma.sav [Ensemble\_de\_données1] - IBM SPSS Statistics Éditeur de données

Fichier Edition Affichage Données Transformer Analyse Marketing direct Graphes Utilitaires Fenêtre Aide

60 : Moustique 1 Visible : 7 variables sur 7

	Patient	Age	Sexe	Habitat	SD	Moustique	Virus	var	var	var	var	var	var
1	TLAILEF Soheib	0-14	Homme	Urbane	absence	présence	Négative						
2	AMER Anis	0-14	Homme	Rural	présence	présence	Négative						
3	KHALAFIF Hamame	0-14	Homme	Urbane	absence	présence	Négative						
4	KHOULALI Imade	0-14	Homme	Rural	absence	présence	Négative						
5	AISSAOUI Chahi...	15-24	Femme	Rural	absence	présence	Négative						
6	GUENANE Asma	15-24	Femme	Urbane	absence	présence	Négative						
7	SISSAOUI Khoulo...	15-24	Femme	Urbane	absence	présence	Négative						
8	ZITOUNI Dalel	15-24	Femme	Urbane	absence	présence	Négative						
9	TOUATI Samira	15-24	Femme	Urbane	absence	présence	Négative						
10	GUESSOUD Sonia	15-24	Femme	Rural	présence	présence	Négative						
11	CHEKARKAR Linda	15-24	Femme	Rural	absence	présence	Négative						
12	MADANI Khadidja	15-24	Femme	Urbane	absence	présence	Négative						
13	KEKROUCHE Nar...	15-24	Femme	Urbane	absence	présence	Négative						
14	BOUAZIZ Wided	15-24	Femme	Urbane	absence	présence	Négative						
15	NECHAF Zaki	15-24	Homme	Rural	absence	présence	Négative						
16	CHENECHÉ Moh...	15-24	Homme	Rural	absence	présence	Négative						
17	BRAHMI Abdelha...	15-24	Homme	Rural	absence	présence	Négative						
18	DAHMANI Abderr...	15-24	Homme	Urbane	absence	présence	Négative						

Affichage des données Affichage des variables

Le processeur IBM SPSS Statistics est prêt

Explorateur... \*Ensemble... Nouvel ong... 11 - Visionn... FR 08:56 25/06/2019

## 1- Exemple d'analyse statistique de la distribution selon l'âge et le sexe

Tableau croisé Age \* Sexe

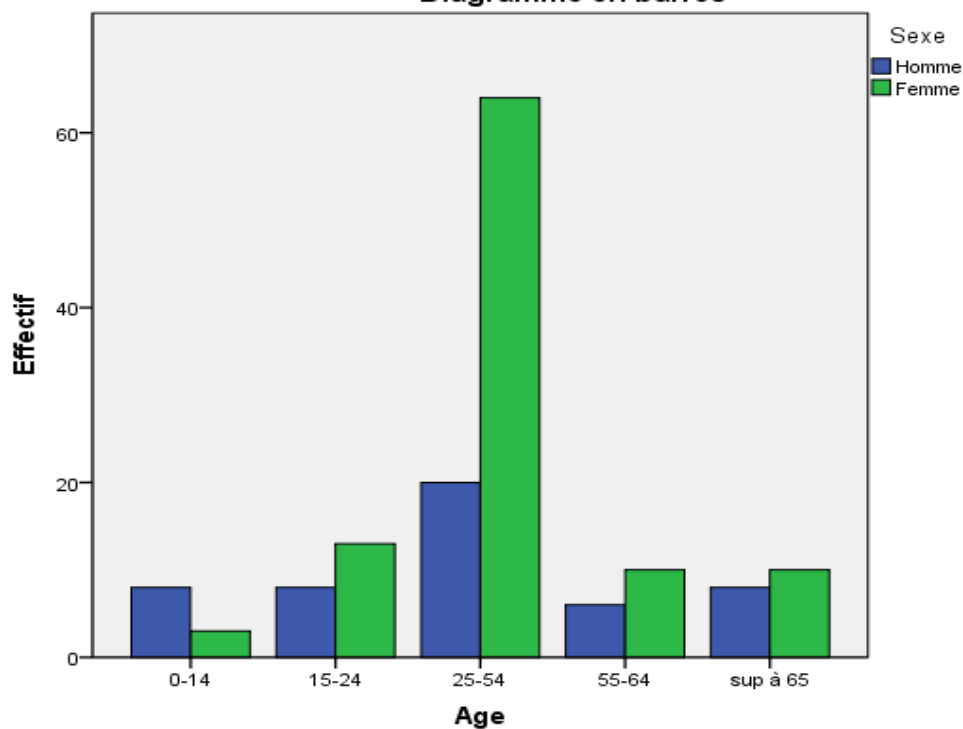
Effectif		Sexe		Total
		Homme	Femme	
Age	0-14	8	3	11
	15-24	7	12	19
	25-54	19	56	75
	55-64	6	10	16
	sup à 65	6	10	16
Total		46	91	137

Tests du Khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)
Khi-deux de Pearson	10,157 <sup>a</sup>	4	,038
Rapport de vraisemblance	9,729	4	,045
Association linéaire par linéaire	1,686	1	,194
Nombre d'observations valides	137		

a. 1 cellules (10.0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 3.69.

Diagramme en barres



## 2- Exemple d'analyse statistique de la distribution des Statuts immunitaires et sexe

Tableau croisé Virus \* Sexe

Effectif

		Sexe		Total
		Homme	Femme	
Virus	Négative	32	56	88
	Positive	14	35	49
Total		46	91	137

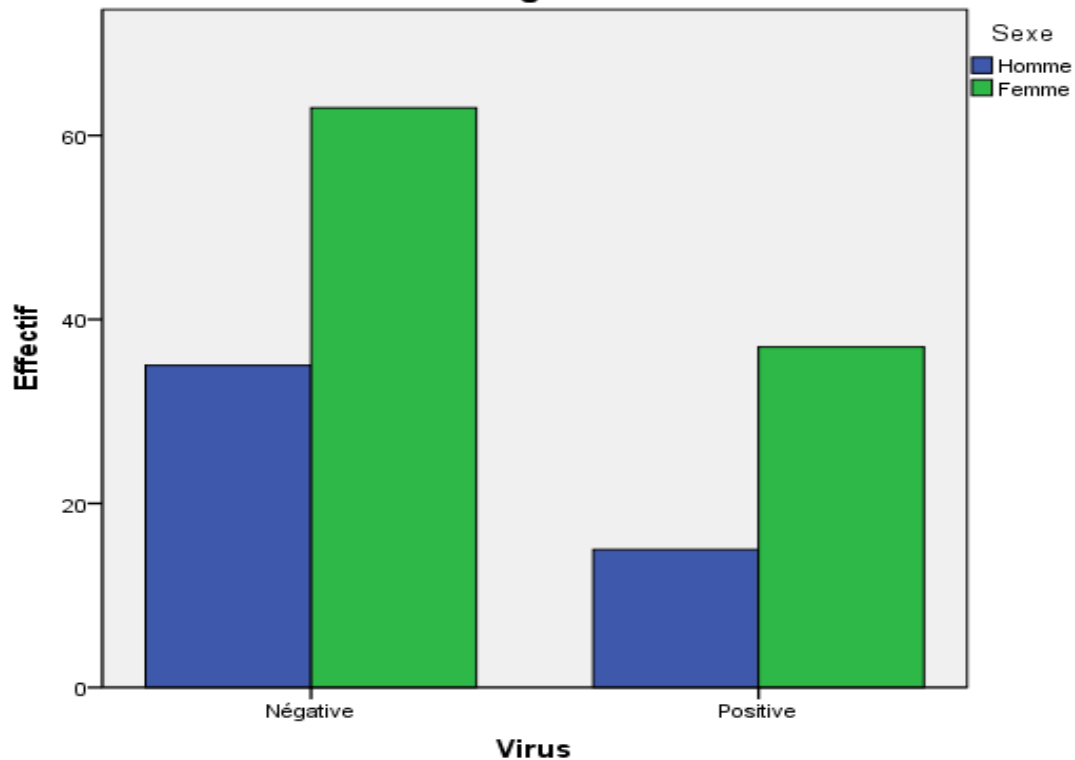
Tests du Khi-deux

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)	Signification exacte (bilatérale)	Signification exacte (unilatérale)
Khi-deux de Pearson	,721 <sup>a</sup>	1	,396		
Correction pour la continuité <sup>b</sup>	,445	1	,505		
Rapport de vraisemblance	,730	1	,393		
Test exact de Fisher				,468	,254
Association linéaire par linéaire	,716	1	,397		
Nombre d'observations valides	150				

a. 0 cellules (,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 17,33.

b. Calculé uniquement pour un tableau 2x2

Diagramme en barres

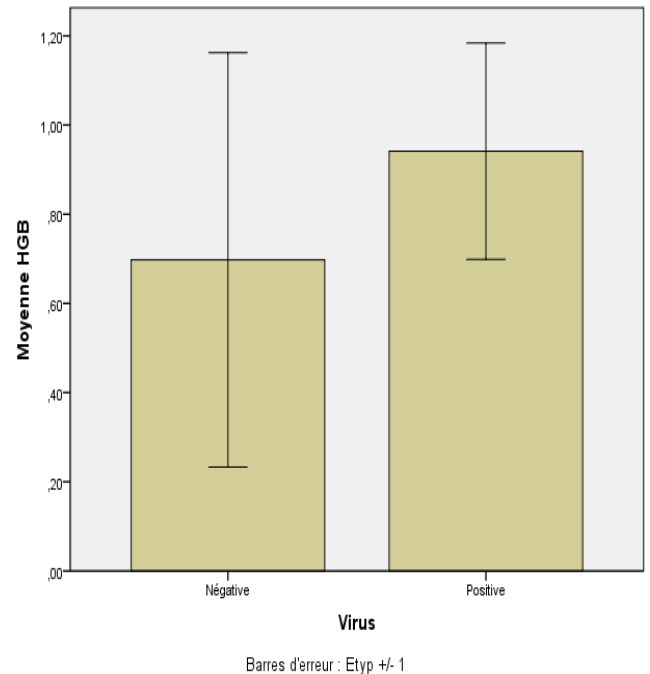


### 3- Exemple d'analyse statistique des paramètres biochimiques en fonction de statut immunitaire.

**Tableau croisé HGB \* Virus**

Effectif

		Virus		Total
		Négative	Positive	
HGB	0-10 & 16.1-20	12	1	13
	11-16	27	15	42
Total		39	16	55



#### Mesures symétriques

		Valeur	Erreur standard asymptotique <sup>a</sup>	T approximé <sup>b</sup>	Signification approximée
Nominal par Nominal	Phi	,259			,044
	V de Cramer	,259			,044
Intervalle par Intervalle	R de Pearson	,259	,089	2,046	,045 <sup>c</sup>
Ordinal par Ordinal	Corrélation de Spearman	,259	,089	2,046	,045 <sup>c</sup>
Nombre d'observations valides		60			

a. L'hypothèse nulle n'est pas considérée.

b. Utilisation de l'erreur standard asymptotique dans l'hypothèse nulle