

« « REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1



*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie*

## *MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE*

*En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV  
Filière : Science Biologiques  
Option : Microbiologie*

### *Thème*

*Contribution à l'étude épidémiologique des Anaplasmoses et  
Babésioses bovines dans la région de CHREA*

Présenté par :  
MEDDAH Nour EL Houda  
TITRAOUI Ikram

Soutenu le : 14/09/2022

Devant le jury :

Nom	Grade/Lieu	Qualité
Mme. AIT SAADI N	MCA /USDB1	Présidente
Mme. HAMAI DI F	Professeur /USDB1	Examinatrice
Mme. BENELDJOUZI A	Attachée d'études II / IPA	Promotrice
Mme. EDDAIKRA A	MCB/USDB1	Co-promotrice

Année universitaire : 2021/2022

# Remerciements

Tout travail de recherche n'est jamais totalement l'œuvre d'un seul Individu, car il met en jeu la participation et l'aide de plusieurs personnes que je tiens à remercier.

Tout d'abord nous tenons à remercier notre Promotrice Mme **BENELDJOUZI A.**, qui nous faisons l'honneur d'encadrer ce travail et de nous guider au cours de sa réalisation, en témoignage de son dynamisme et de son implication dans la recherche, on exprime par ces quelques mots de profonde gratitude, tout en espérant que nous étions à la hauteur de ses espérances.

Nous remercions également ma co-promotrice Mme **EDDAIKRA A.**, pour ses excellentes orientations, pour ses précieux conseils, sa patience, et ses efforts consentis à l'élaboration de ce mémoire.

A Mme **AIT SAADI N.** à nous faire l'honneur de présider ce jury de thème.

A Mme **HAMAIDI F.** Pour avoir eu l'amabilité d'accepter d'être un de nos rapporteurs et pour ses remarques précises et constructives.

**Dr Eddaikra N.** chef de Laboratoire d'Eco-épidémiologie parasitaire et génétique populations, qui nous a accueillies dans son service pour la réalisation de ce travail. Tous les moyens ont été mis à notre disposition pour réaliser cette étude dans de bonnes conditions.



## *Dédicace*

*A mes parents,*

*Pour votre soutien et votre amour pendant toutes ces années, Pour avoir apaisé mes doutes à chaque fois.*

*A mon frère et mes sœurs,*

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

*A mon binôme Ikram, mes chères amies Kawther et Amel,*

*Pour ces super années passées à la fac.*

*A tous les amis*

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

*Nour El Houda*





A mes chers parents :

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Votre patience sans fin, votre compréhension et votre encouragement sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir. Que Dieu, le tout puissant, vous préserve, vous accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et vous protège de tout mal. A mes frères : Sid Ali, Amine, Redhouane et Adem. Merci pour ton existence toujours à mes côtés, je prie Dieu, le tout puissant, pour qu'il vous donne bonheur et prospérité.

A mon amie et binôme : Nour EL Houda

A ma chère amie : Narimane

A toute la promotion Microbiologie 2022

Ikram



## Résumé

Au cours de cette étude un total de 266 tiques a été collecté et 40 tubes de sang EDTA reparties sur divers bovins dans le Parc National de Chréa. L'identification des Ixodidae a révélé la présence de cinq espèces appartenant à deux genres à savoir : *Rhipicephalus turanicus* (37,57%), *Rhipicephalus bursa* (22,55%), *Rhipicephalus sanguineus* (5,64%), *Hyalomma anatolicum excavatum* (21,43%) et *Hyalomma marginatum marginatum* (12,78%). Le portage des Ixodidae par les bovins peut conduire à la transmission de nombreuses bactéries et parasites. La détection a été faite par la Polymérisation en Chaîne Réactif en temps réel. Les résultats obtenus par Rt-PCR et frottis sanguin ne montrent aucun des cas positifs pour l'anaplasmose et babésiose.

**Mots clés :** Anaplasmoses, babésioses, tiques, *Rhipicephalus turanicus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma anatolicum excavatum*, *Hyalomma marginatum marginatum* et Parc National de Chréa.

## Abstract

In this study a total of 266 Ixodidae were collected and 40 tubes of EDTA blood distributed over various cattle in the National Park of Chrea. Tick identification revealed the presence of five species belonging to two genera: *Rhipicephalus turanicus* (37.57%), *Rhipicephalus bursa* (22.55%), *Rhipicephalus sanguineus* (5.64%), *Hyalomma anatolicum excavatum* (21.43%) and *Hyalomma marginatum marginatum* (12.78%). Carriage of Ixodidae by cattle can lead to the transmission of many bacteria and parasites. The detection was made by Reactive Chain Polymerization in real time. The results obtained by Rt- PCR and blood smear show no positive cases for anaplasmosis and babesiosis.

**Keywords:** Anaplasmosis, babesiosis, ticks, *Rhipicephalus turanicus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma anatolicum excavatum*, *Hyalomma marginatum marginatum* and National Park of Chrea.

## ملخص

خلال هذه الدراسة، تم جمع 266 قرادة من عائلة Ixodidae و40 أنبوبًا من الدم من ابقار مختلفة في الحظيرة الوطنية للشريعة كما كشف التحديد المورفولوجي عن وجود خمسة أنواع وهي :

*Rhipicephalus turanicus* (37,57%), *Rhipicephalus bursa* (22,55%), *Rhipicephalus sanguineus* (5,64%), *Hyalomma anatolicum excavatum* (21,43%) et *Hyalomma marginatum marginatum* (12,78%).

تم الاكتشاف عن طريق تفاعل متسلسل تفاعلي في الوقت الحقيقي. النتائج التي تم الحصول عليها بواسطة Rt-PCR ومسحة الدم تظهر عدم وجود حالات إيجابية للأنابلازما وداء البابيزيا.

**الكلمات المفتاحية:** أنابلازما، بابيزيا، قراد *Rhipicephalus turanicus*, *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma anatolicum excavatum*, *Hyalomma marginatum marginatum* والحظيرة الوطنية للشريعة.

## Listes des Figures

<b>Figure 01</b> : Systématique des Tiques.....	4
<b>Figure 02</b> : Arbre phylogénique des tiques basés sur l’analyse comparative des séquences de l’ARNr 18S (méthode du « neighbor-joining ») .....	5
<b>Figure 03</b> : Anatomie externe générale des tiques dures.....	6
<b>Figure 04</b> : Les différents types de capitulum des tiques dures.....	7
<b>Figure 05</b> : Anatomie interne générale des tiques, cas d’une femelle adulte.....	8
<b>Figure 06</b> : Morphologie générale des tiques dures : face dorsale d’une femelle ixodidae ancrée dans la peau.....	11
<b>Figure 07</b> : Cycles de vie des Ixodidae.....	11
<b>Figure 08</b> : Aspects cytologiques schématiques de <i>B. divergens</i> au sein d’une hématie.....	19
<b>Figure 09</b> : Aspects cytologiques schématiques de <i>Babesia bovis</i> au sein d’une hématie....	20
<b>Figure 10</b> : Formes caractéristiques de <i>B. major</i> .....	20
<b>Figure 11</b> : Formes caractéristiques de <i>B. bigemina</i> .....	21
<b>Figure 12</b> : Schéma de la structure interne de <i>Babesia spp</i> .....	21
<b>Figure 13</b> : cycle évolutif de <i>babesia spp</i> .....	22
<b>Figure 14</b> : phylogénie des Anaplasmataceae basée sur l'ARNr 16S.....	25
<b>Figure 15</b> : Nouvelle classification des bactéries de l’ordre des Rickettsiales.....	25
<b>Figure 16</b> : Distribution de l'anaplasmose bovine dans le monde en 2011 (Janvier à Juin)...	26
<b>Figure 17</b> : Érythrocytes bovins infectés par <i>A. marginale</i> .....	27
<b>Figure 18</b> : Schéma du cycle de l'anaplasmose à <i>Anaplasma marginale</i> .....	28
<b>Figure 19</b> : Localisation des secteurs du parc de Chréa.....	31
<b>Figure 20</b> : Clé d’identification des tiques.....	34
<b>Figure 21</b> : les étapes d’identification des tiques prélevées à partir des bovins.....	35
<b>Figure 22</b> : Protocole de l’extraction d’ADN des tiques.....	38
<b>Figure 23</b> : Protocole d’électrophorèse sur gel d’agarose 0,8%.....	40
<b>Figure 24</b> : Stérilisation de matériel.....	41
<b>Figure 25</b> : Protocole expérimentale de la PCR en temps réel.....	44
<b>Figure 26</b> : Prélèvement sanguin à partir de la veine jugulaire.....	45
<b>Figure 27</b> : Réalisation des frottis sanguins.....	46
<b>Figure 28</b> : les étapes de la coloration des frottis par May-Grunwald-Giemsa.....	47
<b>Figure 29</b> : <i>Rhipicephalus turanicus</i> mâle.....	49
<b>Figure 30</b> : <i>Rhipicephalus turanicus</i> femelle adulte (Vue dorsale).....	50
<b>Figure 31</b> : <i>Rhipicephalus bursa</i> .....	50
<b>Figure 32</b> : <i>Rhipicephalus sanguineus</i> mâle.....	50



## Listes des Figures

<b>Figure 33 :</b> <i>Rhipicephalus sanguineus</i> femelle adulte.....	51
<b>Figure 34 :</b> <i>Hyalomma marginatum marginatum</i> femelle adulte.....	51
<b>Figure 35 :</b> Le nombre de tiques collectées en fonction des espèces.....	52
<b>Figure 36 :</b> Tracé de <i>Babesia sp</i> par PCR en temps réel.....	54
<b>Figure 37 :</b> Tracé d' <i>Anaplasma sp</i> par PCR en temps réel.....	54

## Listes des Annexes

**Annexe I :** Cartographie épidémiologique de la babésiose bovine. Les pays dans lesquels *B.bovis*, *B. bigemina*, *B.divergens* ont été détectés.

**Annexe II :** Matériels non biologique utilisés.

## Listes des Tableaux

<b>Tableau I</b> : Principaux maladies transmises par les tiques.....	14-15
<b>Tableau II</b> : Position taxonomique de <i>Babesia</i> .....	18
<b>Tableau III</b> : Les produits du mix et leur concentration nécessaire pour un seul échantillon.	42
<b>Tableau IV</b> : Répartition du mix ainsi que la quantité d'ADN ajoutée.....	42
<b>Tableau V</b> : Sonde et amorce utilisés en RT PCR.....	43
<b>Tableau VI</b> : Liste des espèces collectées chez les bovins dans la région de Chéra.....	52
<b>Tableau VII</b> : Résultats de sex-ratio des différents échantillons récoltés durant 07 mois d'étude 2022 dans la région de Chréa.....	53

## Glossaire

**Ectoparasite** : c'est un parasite externe, c'est-à-dire un parasite qui vit sur la surface corporelle d'un être vivant.

**Hématophage** : qui se nourrit de sang.

**Epidémiologie** : Science qui étudie la distribution et les déterminants des états de santé ou des événements de santé dans une population définie, et application de cette étude au contrôle des problèmes de santé

**Hôte** : En biologie, un hôte est un organisme qui héberge un parasite, un partenaire mutuel ou un partenaire commensal, lui fournissant, en général, le gîte et le couvert. Dans le cas du parasitisme, l'organisme hébergé peut provoquer des effets néfastes pour l'hôte. L'hôte doit s'adapter pour ne pas rencontrer le parasite (par exemple en modifiant son comportement). Si la rencontre a eu lieu, l'hôte doit s'adapter pour se débarrasser du parasite (immunité).

**Stade** : En entomologie, période entre deux mues n'entraînant pas de changement morphologique majeur. Chez les tiques Ixodina, les trois stases correspondent aux trois stades (**Pérez-Eid, 2007**).

**Stase** : En entomologie, période entre deux mues responsables de la métamorphose (**Pérez-Eid, 2007**).

## Listes des Abréviations

**%**: pourcentage.

**°C**: degrés Celsius.

**AW1** : Tampon de Lavage 1(Wash Buffer 1).

**AW2** : Tampon de Lavage 1(Wash Buffer 2).

**A** : *Anaplasma*.

**Ac** : anticorps.

**ADN** : L'acide désoxyribonucléique.

**AE** : Tampon d'Elution (Elution Buffer).

**AL** : Tampon de Lyse (Lysis Buffer).

**ATL** : Tampon de Lyse Tissulaire (Tissue Lysis Buffer).

**ARNr**:Acide ribonucléique ribosomique

**AW1** : Tampon de Lavage 1(Wash Buffer 1).

**AW2**: Tampon de Lavage 1(Wash Buffer 2).

**B** : *Babesia*.

**BET** : Bromure d'Ethidim.

**DEET** : diéthylmethylbenzamide.

**EDTA** : Ethylène- Diamine- Trétra acetate.

**EHD** : éthyl hexane diol.

**ELISA** : test immuno-enzymatique.

**H** : *Hyalomma*.

**IPA** : Institut pasteur d'Algerie.

**MGG** : May-Grünwald Giemsa.

**PCR** : Polymerase Chain Reaction.

**PNC** : Parc National de Chréa.

**R** : *Rhipicephalus*.

**TBE** : Tampon Tris, Borate, EDTA.

# Sommaire

Résumé	
Listes des figures	
Listes des annexes	
Listes des tableaux	
Glossaire	
Listes des abréviations	
Introduction.....	1

## Chapitre 1 : Généralités

1.1 Systématiques.....	3
1.2 Morphologie des tiques dures.....	5
1.2.1 Morphologie externe.....	5
1.2.2 Morphologie interne.....	7
1.3 Bio-écologie.....	10
1.4 Nutrition.....	10
1.5 Cycle de développement.....	11
1.6 Cycle parasitaire.....	12
1.7 Principales maladies transmises par les tiques.....	13
1.8 Stratégies de lutte contre les tiques.....	16
2.1 Historique des babésioses bovines.....	17
2.2 Taxonomie.....	17
2.3 Distribution géographique de la babésiose bovine.....	18
2.4 Morphologie.....	19
2.5 Cycle évolutif de la Babésiose bovine.....	22
2.6 Les symptômes.....	23
2.7 Traitement et prophylaxie.....	23
3.1 Historique de l'Anaplasmosse.....	24
3.2 Taxonomie.....	24
3.3 Distribution géographique de L'anaplasmosse bovine.....	26
3.4 Morphologie.....	27
3.5 Cycle évolutif.....	28
3.6 les symptômes.....	29
3.7 Traitement et prophylaxie.....	29

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1.La zone et la période d'étude.....	31
--------------------------------------	----

## Sommaire

2. Matériel et Méthodes.....	32
2.1 Matériels.....	32
2.2 Méthodes.....	32
2.2.1 Collectes des spécimens.....	32
2.2.2 Identification morphologique.....	33
2.2.3 Extraction d'ADN.....	36
2.2.4 Contrôle.....	39
2.2.5 Amplification par PCR en temps réel.....	41
2.2.6 La recherche des hémoparasites à partir du sang des bovins.....	45
2.2.6.1 Prélèvement du sang.....	45
2.2.6.2 Coloration des frottis sanguins.....	45
2.2.7 Analyse des résultats par des indices écologiques et parasitaires .....	48

### Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Résultats.....	49
1.1 Données sur les tiques collectées.....	49
1.1.1 Espèces identifiées.....	49
1.2 Le Sex-Ratio.....	53
1.3 La richesses totale.....	53
1.4 La prévalence d'infestation des bovins par les tiques.....	53
1.5 Identifications des agents pathogènes portés par les tiques par la méthode de PCR en temps réel.....	53
2. Discussion.....	55

Conclusion

Références

Annexes

# Introduction



## Introduction

**L**e réchauffement climatique, l'urbanisation sauvage et les perturbations de l'écosystème souvent liées aux activités de l'Homme, favorisent l'émergence et la réémergence de maladies transmissibles susceptibles de ravager ces pays. Ces maladies sont responsables de millions de mort dans le monde, dont 75 % sont des zoonoses. Parmi les maladies potentiellement émergentes, celles transmises par les arthropodes, en particulier les tiques.

Les tiques représentent un groupe très particulier d'ectoparasites, regroupant près de 869 espèces, parmi lesquelles on distingue les tiques molles (*Argasina*) et les tiques dures (*Ixodina*), qui font l'objet de notre étude (**Pérez et Gilot, 1988**).

Les tiques, par leur répartition mondiale, des climats les plus chauds aux plus froids, et par leur comportement sont capables de transmettre de nombreuses maladies humaines et animales d'origine bactérienne, virale ou parasitaire. Selon le cas, elles jouent le rôle de vecteur biologique ou d'hôte intermédiaire (**Tissot Dupont et Raoult, 1993**).

En Algérie, le cheptel bovin paie à l'heure actuelle un lourd tribut aux maladies transmises par certaines espèces de tiques, à savoir : les theilérioses, les babésioses et anaplasmoses. Elles atteignent en priorité les animaux domestiques et sauvages, et posent un réel problème vétérinaire au cheptel bovin (**Collot, 2010**).

En, Algérie, ces maladies sont responsables de pertes économiques importantes sous estimées. Une étude préliminaire sur l'impact de la maladie dans une exploitation laitière de 63 vaches a entraîné une perte sèche de c1200000 DA soit 15000 dollars américain (**Toudert et al., 2003**).

L'objectif de notre étude consiste à déterminer l'incidence et la prévalence des babésioses et des anaplasmoses chez l'hôte bovin ainsi l'impact sur la santé des animaux dans la région de Chréa.

Dans le cadre d'une recherche de projet de fin d'études (PFE) sur contribution à l'étude épidémiologique de babésiose et anaplasmose bovine dans la région de chréa. Pour ce faire, nous consacrerons cette étude sur trois chapitres :

- Chapitre 1, qui s'articule autour de trois parties, reprenant successivement l'essentiel des principaux ectoparasites chez les bovins, de l'étude de la babésiose et l'anaplasmose bovine
- Chapitre 2 et 3, ont été dédiés exclusivement à la recherche des agents pathogènes par des techniques de biologie moléculaire et par la méthode du frottis sanguin

## **Introduction**

coloré au MGG. La méthodologie et les protocoles utilisés seront d'abord, décrits puis les résultats seront présentés et discutés.

Dans la conclusion générale, nous feront le point des idées requises au cours de cette étude et nous présenterons les perspectives qui en découlent.

# **Chapitre 1 : Généralités**

**L**es tiques sont des ectoparasites connus depuis longtemps. Homère et Aristote ont déjà parlé d'eux comme étant des parasites hématophages des animaux et de l'homme (François, 2008).

Ce sont des arthropodes hématophages d'intérêt en médecine humaine et vétérinaire. Elles véhiculent un grand nombre d'agents pathogènes qu'elles acquièrent et transmettent à des hôtes vertébrés au cours de leurs repas sanguins (Parola et Raoult, 2001).

### 1.1 Systématique

Pour effectuer les regroupements taxonomiques, les systématiciens ont utilisé des caractéristiques liées à la morphologie, à l'écologie (habitats, etc.), aux associations avec des hôtes et à la répartition biogéographique des tiques (McCoy et Boulanger, 2015).

Selon McCoy et Boulanger, (2015) Les tiques sont classées dans trois familles dont la monophylie est bien établie (Figure 01), c'est-à-dire qu'elles constituent un groupe issu d'un même ancêtre commun et qui inclut l'ensemble des descendants de cet ancêtre :

- Les tiques molles (Argasidae) environ 190 espèces.
- Les tiques dures (Ixodidae) environ 700 espèces.
- Les Nutalliellidae famille constituée d'un seul genre qui ne comprend qu'une seule espèce, Nutalliella namaqua.

Ces dernières années, les techniques de la biologie moléculaire avec l'analyse comparative de séquences génomiques (particulièrement celle du gène codant pour la sous-unité de l'ARNr mitochondrial des 18S ARNr, ou celle de la sous-unité 12S), ont été utilisées en systématique et dans l'analyse des relations phylogénétiques des tiques. Certaines modifications ont eu lieu à la lumière des résultats. On note par exemple que le genre *Aponomma* disparaît, une partie des espèces s'intégrant dans le nouveau genre *Bothriocroton* au sein de la nouvelle sous-famille des *Bothriocrotoninae*, l'autre partie s'intégrant dans le genre *Amblyomma*. Le genre *Boophilus* devient un sous genre du genre *Rhipicephalus* (Figure 02) (Socolovschi et al., 2008).

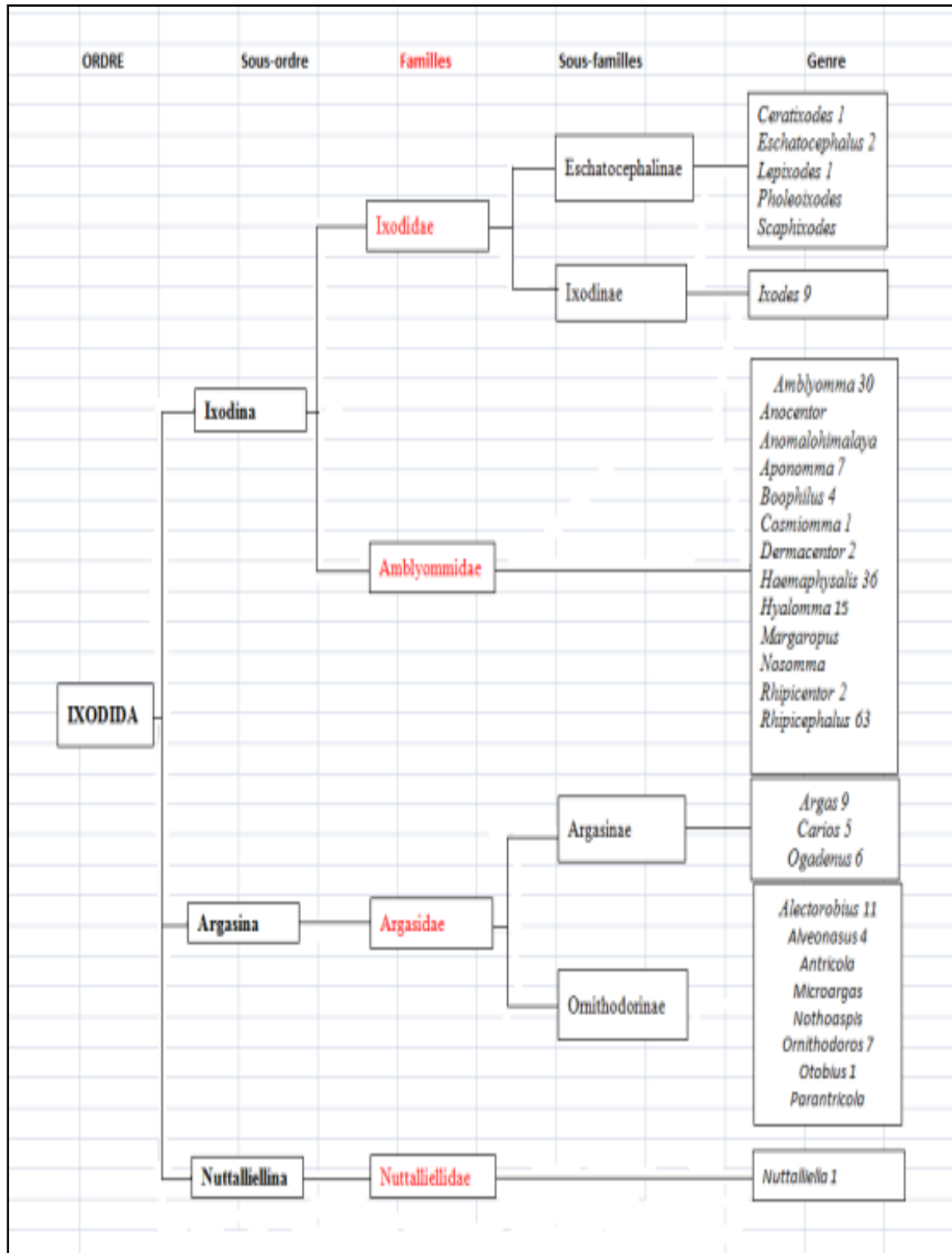
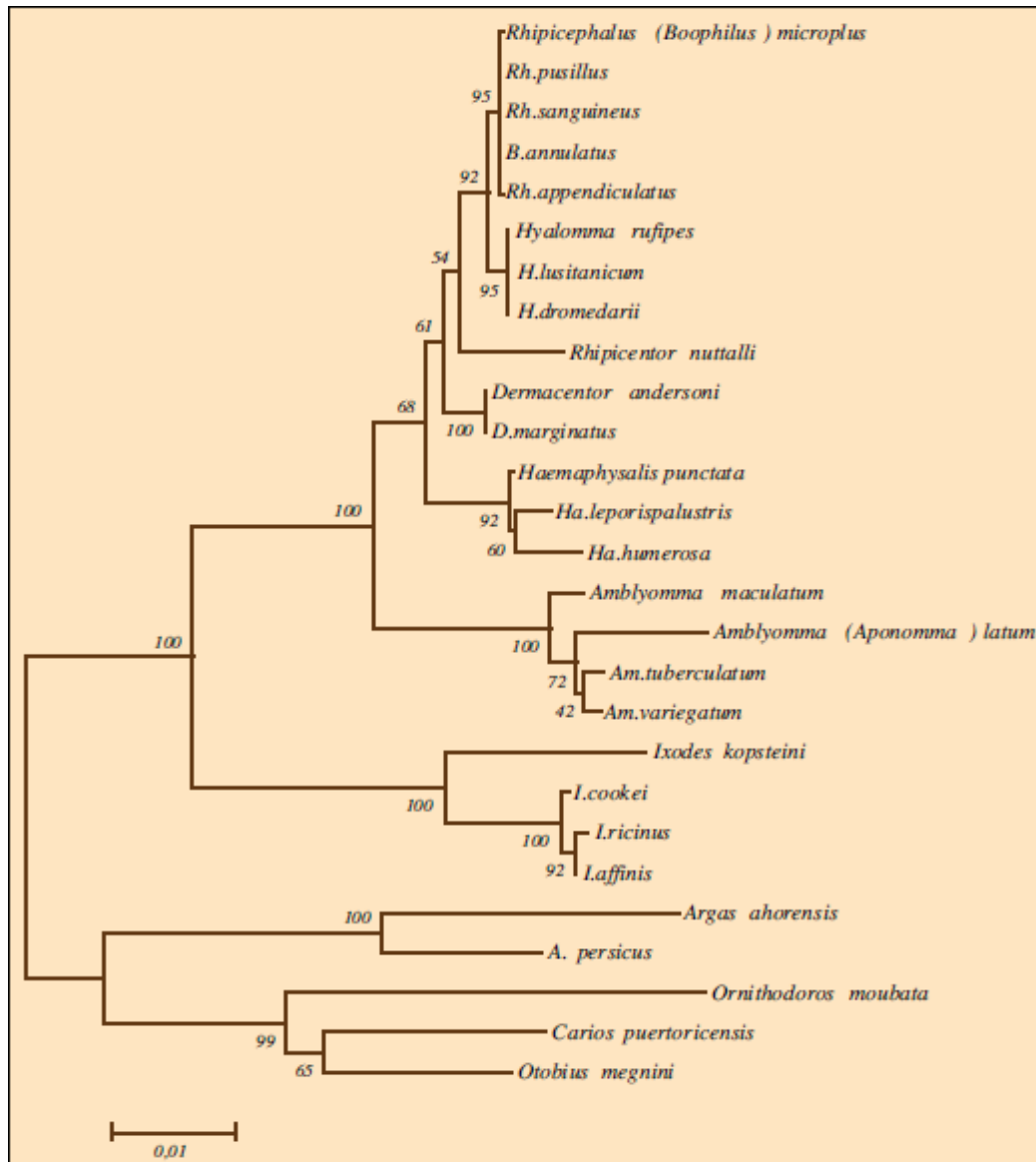


Figure 01 : Systématique des Tiques (Camicas et al., 1998).



**Figure 02 :** Arbre phylogénétique des tiques basés sur l'analyse comparative des séquences de l'ARNr 18S (méthode du « neighbor-joining »). Modifié d'après (Barker et Murrell, 2004)

## 1.2 Morphologie des tiques dures

### 1.2.1 Morphologie externe

Selon C Perez, (2007) Les Ixodidae sont des ectoparasites qui s'accouplent sur l'hôte rarement sur le sol Le male plus petit meurt après l'accouplement, la femelle après la ponte. Au cours de la vie, les Ixodidae passent par 4 stases :

- **Œuf :** une ponte peut comporter plus de 23000 œufs
- **Larve :** à 3 paires de pattes ; griffus
- **La nymphe :** qui est octopode comme l'adulte mais sans orifice génital

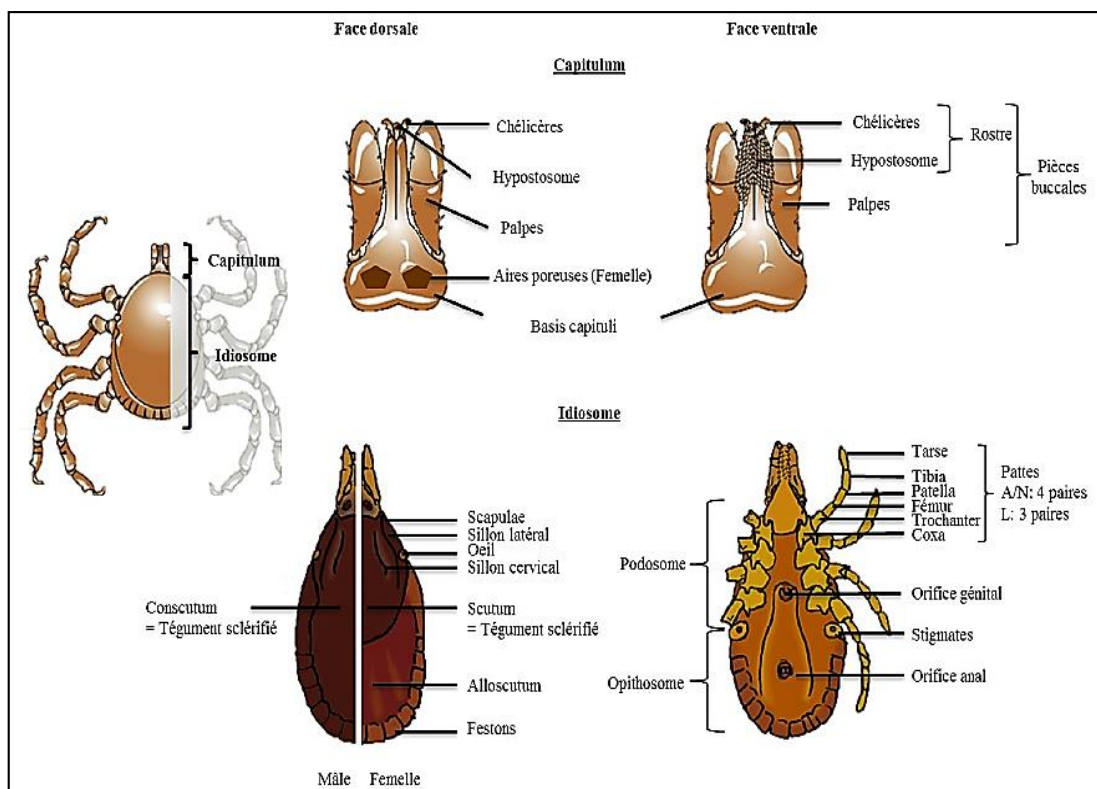
- **L'adulte** : (mâle ou femelle) à ce stade le dimorphisme sexuel est généralement net et développé en face dorsale (chez la femelle)

Une tique est divisée en une partie antérieure portant les pièces buccales (le gnathostome) et le reste du corps, l'idiosome, qui porte les pattes, avec trois paires chez les larves et quatre paires chez les nymphes et les adultes (**Hunter,1994**).

Chez les Ixodidae, le gnathosome ou capitulum (Figure 03 ; Figure 04) est en position antéroterminale, évoquant une tête ou pseudocéphalon (**Guiguen et Degeilh, 2001**). Il est situé en avant du corps. Il porte les pièces buccales (**Socolovschi et al., 2008**).

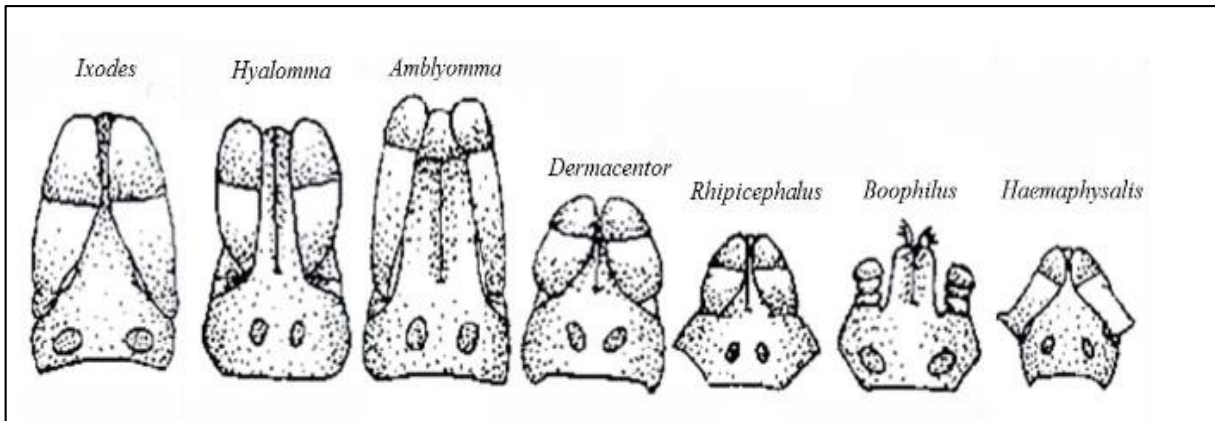
Il comporte les organes nécessaires à la fixation de la tique sur l'hôte et à la succion du sang, soit :

- Latéralement : une paire de palpes, qui ont un rôle strictement sensoriel.
- Axialement en position ventrale : l'hypostome, qui est l'organe d'ancrage dans la peau de l'hôte, composé de nombreuses dents dirigées vers l'arrière.
- Axialement en position dorsale : les chélicères, qui constituent les pièces perforatrices et permettent l'incision des téguments de l'hôte, puis la pénétration de l'hypostome (**Boyard, 2007**).



**Figure 03 : Anatomie externe générale des tiques dures (Pérez-Eid, 2007 ; Sonenshine et Roe, 2014a ; McCoy et Boulanger, 2015 ; Boulanger et McCoy, 2017).**

A : Adulte ; N : Nympe ; L : Larve



**Figure 04** : Les différents types de capitulum des tiques dures (**Pérez-Eid, 2007**).

L'ensemble de l'idiosome est ponctué de pores, de soies tactiles et de sensilles sécrétrices et mécano-réceptrices, dont la répartition est propre aux espèces. La face ventrale de l'idiosome comporte quatre paires de pattes pour les nymphes et les adultes et trois pour les larves, un orifice génital (adulte femelle) dans sa région antérieure, et un orifice anal dans la région postérieure. Cette face peut être parcourue par des sillons, soit le sillon génital et le sillon anal chez les tiques dures (Ixodina). La première paire de pattes porte l'organe de Haller ; cet organe sensoriel, composé de nombreuses soies, est utilisé pour localiser les hôtes et analyser leurs odeurs (**Boyard, 2007**).

Les Ixodidae sont caractérisées par la présence d'une plaque (le scutum) sur la face dorsale de leur corps et seul le reste du corps est extensible pendant le repas sanguin. Chez les femelles et les formes immatures, le scutum couvre seulement la partie antérieure du corps, tandis qu'il occupe la totalité chez les mâles. Ainsi, la différenciation du sexe est aisée (**Socolovshi et al., 2008**). Ainsi que chez les larves et les nymphes, seule la partie antérieure est recouverte. La partie postérieure non chitineuse, souple et élastique, permet le gorgement (ingestion et digestion du sang) (**Boyard, 2007**).

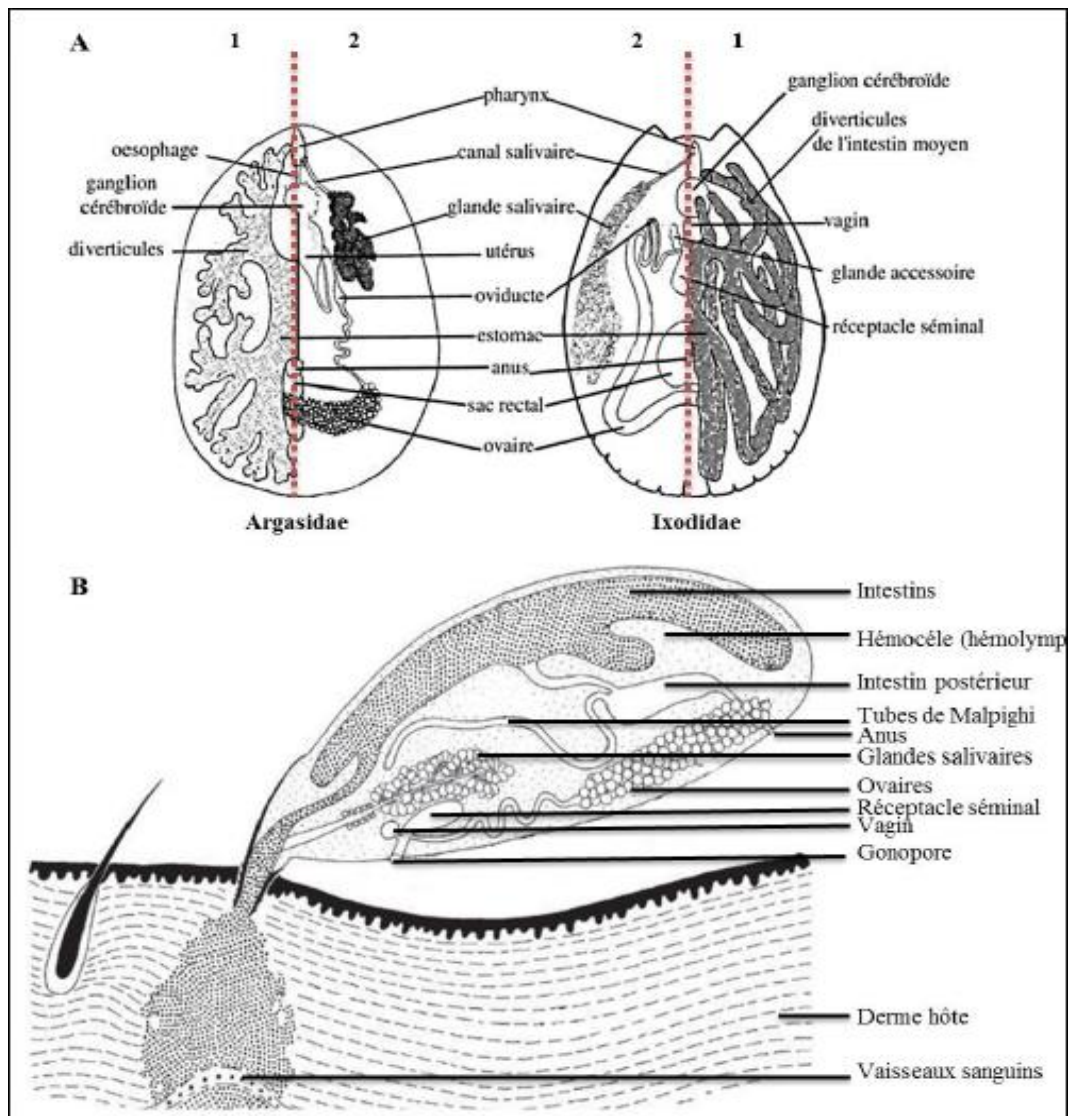
## 1.2.2 Morphologie interne

### a) Appareil digestif

L'appareil digestif se compose du pharynx qui fait suite au rostre, de l'œsophage, puis de l'intestin moyen qui est composé de diverticules ou cæcums reliés à un estomac central (Figure 5). Celui-ci est raccordé au sac rectal ou intestin postérieur. Chez les tiques, il n'existe ni de



canal salivaire ni de canal alimentaire individualisé, le sang de l'hôte et la salive de la tique sont alternativement aspirés pour l'un et émise pour l'autre par un canal commun. La portion moyenne du tube digestif est très développée et occupe la quasi-totalité de la cavité coelomique. C'est au niveau des cæcums qu'a lieu la digestion du sang qui se traduit par la dégradation de l'hémoglobine et des protéines, la destruction des fragments cellulaires et l'extraction de l'eau qui sera évacuée (Pérez-Eid, 2007).



**Figure 05 :** Anatomie interne générale des tiques, cas d'une femelle adulte, (Pérez-Eid, 2007 ; Boulanger et McCoy, 2017). A : vue supérieure ; B : vue inférieure. A. Schéma de L'anatomie interne en coupe frontale, 1 : Vue de l'anatomie interne qui présente l'estomac, qui recouvre la majorité des organes internes, 2 : Vue de l'anatomie interne lorsque l'estomac est retiré. B. Schéma de l'anatomie interne en coupe sagittale.

### **b) Appareil respiratoire**

Le système respiratoire est formé, chez les adultes et les nymphes, par un nombre très important de trachées constituant une arborescence qui se termine par une tubulure de plus grande taille s'ouvrant vers l'extérieur par les stigmates situés latéralement sous la quatrième paire de pattes. De telles structures n'existent pas chez les larves chez lesquelles la respiration se fait à travers la cuticule (Sonenshine, 1970 ; Roshdy *et al.*, 1982).

### **c) Appareil circulatoire**

Les tiques ont un système circulatoire ouvert et sommaire. La circulation de l'hémolymphe est permise par un vaisseau dorsal bombé formant un cœur et entouré d'un sinus qui permet de propulser et de disperser l'hémolymphe à travers le réseau artériel (Sonenshine et Roe, 2014a).

### **d) L'appareil excréteur**

L'appareil excréteur est essentiellement constitué par une paire de très longs tubes de Malpighi qui s'enroulent autour des différents organes (Figure 6) (Pérez-Eid, 2007).

### **e) Appareil génitale**

Les tiques sont des animaux à reproduction sexuée obligatoire. Le système reproducteur du mâle est composé de deux testicules tubulaires et d'un canal éjaculateur. La femelle possède un ovaire en forme de chapelet qui va se développer au fur et à mesure du repas sanguin. L'ovaire se prolonge par deux oviductes qui s'unissent pour déboucher dans le vagin qui aboutit au niveau du pore génital situé en face ventrale (McCoy et Boulanger, 2015).

L'accouplement, qui suivant les espèces se déroule soit sur l'hôte, soit dans le milieu extérieur, est précédé, chez les Ixodidae, par l'introduction du rostre du mâle dans le port génital de la femelle. Le mâle y dépose ensuite un spermatophore. La maturation des spermatozoïdes sera finalisée dans les voies génitales de la femelle (Olivier, 1986).

### **f) Appareil nerveux**

Le système nerveux central des tiques est fortement concentré en une masse ganglionnaire ou ganglion cérébroïde (ou « cerveau »), située antéro - ventralement, légèrement en arrière de

l'ouverture génitale. Cette masse ganglionnaire est traversée par l'œsophage, délimitant deux parties, un pré et une post – œsophagienne. **(Pérez-Eid, 2007).**

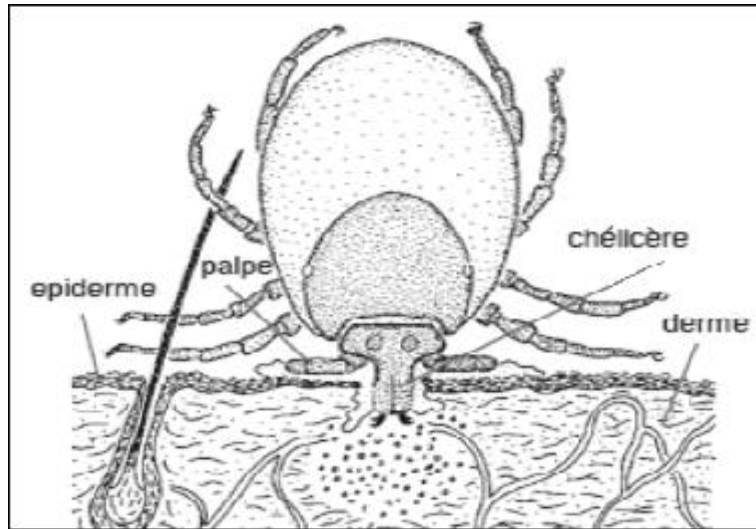
### 1.3. Bio – écologie

Les tiques dures vivent dans un écosystème particulier où leur vie est influencée par la végétation, les conditions climatiques et les interactions qu'elles entretiennent avec les autres êtres vivants. La distribution géographique de ces tiques, leur cycle de vie, la variation saisonnière de leur activité, la dynamique des populations et leur comportement sont essentiellement influencés par les facteurs climatiques **(Daniel et Dusbabek, 1994)**. Cependant, chaque espèce de tique vectrice présente une distribution géographique particulière **(Socolovschi *et al.*, 2008)**.

### 1.4. Nutrition

La nutrition de toutes les espèces de tiques, sans exception, est sanguine, la règle étant la prise d'un repas complet **(Pérez-Eid, 2007)**. Leur piqûre est en règle indolore et peut passer inaperçue.

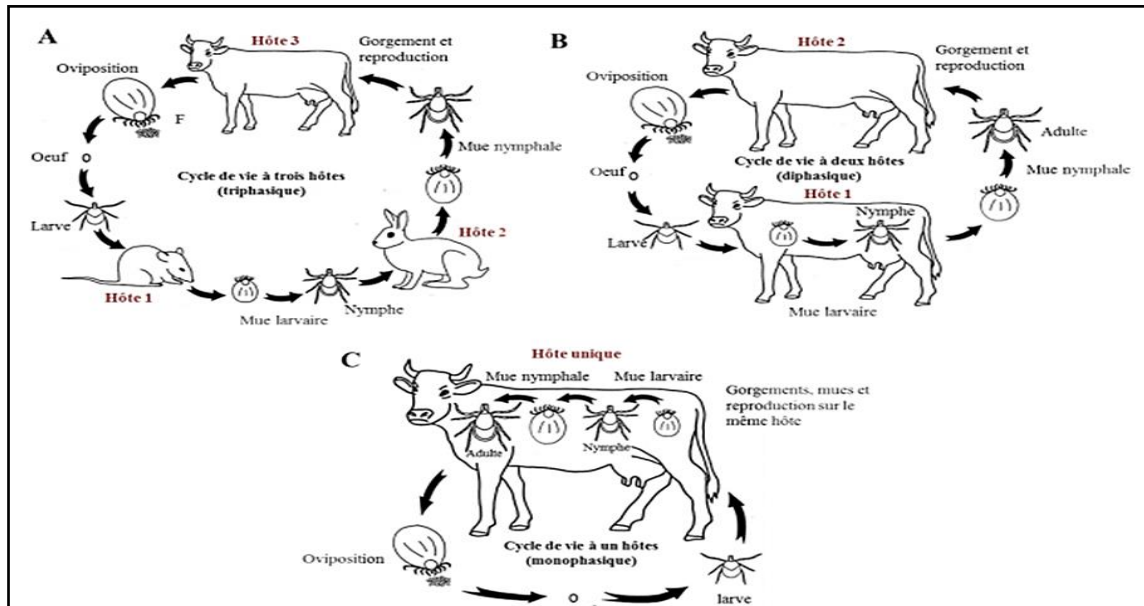
Avant le repas, une tique se déplace sur son hôte pendant plusieurs heures à la recherche d'un site de fixation dans une zone de peau fine. Les sites d'attachement des tiques varient en fonction de la stase, de l'espèce et des hôtes. La fixation se fait en deux temps. Au cours de la première phase, mécanique, la tique perce la peau grâce à ses chélicères puis insère son hypostome dans la plaie. Les dents l'hypostome dirigées vers l'arrière assurent à la tique un ancrage solide dans les tissus (Figure 06). La seconde phase est une phase chimique au cours de laquelle les glandes salivaires secrètent un liquide appelé ciment, permettant de renforcer la fixation de la tique, ainsi que des enzymes, des substances vasodilatatrices, anti-inflammatoires anticoagulantes immunosuppressives et protéolytique qui créent une « < lacune de nutrition > ». La présence d'une substance anesthésiante dans la salive de la tique rend la morsure indolore. **(Parola et Raoult, 2001 ; Estrada-pena *et al.*, 2004)**.



**Figure 06 :** Morphologie générale des tiques dures : face dorsale d'une femelle Ixodidae ancrée dans la peau. Modifié d'après Estrada *et al*, 2004.

### 1.5. Cycle de développement

Le cycle évolutif des tiques comporte 3 stades biologiques, encore appelés stases : larvaire, nymphale et adulte. Chaque stase est séparée par un repas sanguin qui peut durer plusieurs jours et qui est suivi d'une mue (Figure 07).



**Figure 07 :** Cycles de vie des Ixodidae : les cycles à trois (A), deux (B) ou un (C) hôte (Sonenshine et Roe, 2014a).

- ✚ **L'œuf** : Après l'accouplement les œufs sont pondus au sol par les femelles en des endroits abrités (sous une pierre, dans la litière végétale, dans les crevasses du sol). Les œufs éclosent après une embryogénèse de 20 à 50 jours. Le temps de métamorphose dépend beaucoup de la température l'humidité mais plus encore de la durée relative du jour et de la nuit c'est - à - dire de la saison (**Socolovshi et al., 2008**).
- ✚ **La larve** : A la sortie de l'œuf la larve est gonflée molle mesure 1mm à trois paires de pattes (**Aubry - roces et al., 2001**). Elle se durcit en quelques jours et se met à la recherche d'un hôte. La larve se met en quête d'un hôte. Celui - ci rencontré, le repas qui dure 3 à 12 jours selon l'espèce et les conditions climatiques. Dès qu'elle termine son repas, elle tombe au sol et cherche un abri pour effectuer la mue après deux à huit semaines la larve se métamorphose en nymphe (**Sacca, 1984 ; Aubry - roces et al., 2001**).
- ✚ **La nymphe** : Le comportement de la nymphe est comparable à celui de la larve : ce n'est qu'après deux à trois semaines qu'elle recherche un hôte. Son repas dure environ 3 jours elle prend 20 à 80 fois son poids avant de se décrocher. La métamorphose en adultes est en générale plus longue, jusqu'à 20 à 25 semaines dans les conditions les plus défavorables (**Socolovshi et al., 2008**).
- ✚ **L'Adulte** : Seules les femelles prennent un repas, les males s'alimentent pas ou très peu. Le repas de la femelle n'a lieu qu'après la fécondation, il dure de 5 à 10 jours elle prend jusqu'à 120 fois son propre poids l'accouplement se produit au sol ou sur l'hôte selon l'espèce, le male meurt peu de temps après une ou deux semaines après la fin du repas la femelle pond 2000 à 3000 œufs elle meurt dès la fin de la ponte (**Balashov et al., 1976**).

### 1.6. Cycle parasitaire

La spécificité dépend du stade évolutif et cela permet de distinguer trois types de cycles (**Figure 08**) :

- ✚ **Le cycle monophasique (ou monoxène)** : est constitué d'une seule phase parasitaire, toutes les stases se réalisent et se nourrissent sur un même hôte, sans retour au sol
- ✚ **Le cycle diphasique (ou dixène)** : comporte deux phases parasitaires, la larve et la nymphe se nourrissent sur le même hôte, puis la nymphe tombe et elle réalise sa métamorphose, et l'adulte parasite un nouvel hôte (**Sonenshine et Roe, 2014a**).

- ✚ **Le cycle triphasique (ou trixène) :** comporte trois phases parasitaires distinctes : la larve, la nymphe et l'adulte effectuent leur repas sur trois hôtes différents (**Pérez-Eid, 2007**).
- ✚ **Les cycles polyphasiques :** Ce sont des cycles comportant de multiples phases parasitaires. Il concernant les Argasina dont toutes les espèces effectuent multiples repas (**Pérez-Eid, 2007**).

### 1.7. Principales maladies transmis par les tiques

Les tiques sont les vecteurs les plus importants d'agents infectieux à transmission vectorielle, et sont les deuxièmes, après les moustiques, si l'on ne considère que la médecine humaine (**De la fuente *et al.*, 2008 ; Piesman et Eisen, 2008**). La nature des agents pathogène transmis est multiple, des parasites, des bactéries et des virus sont concernés. La santé animale et la santé humaine peuvent être conjointement impliquées car la majorité de ces micro-organismes sont zoonotiques (**Grech-Angelini, 2020**). Les pathologies transmises par les tiques les plus connues du monde médical sont présentées dans le tableau I :

## Chapitre 01 : Généralités

**Tableau I : Principaux maladies transmises par les tiques.**

Maladies		Tiques responsables	Agent causal	Symptômes caractéristiques
Protozooses	Babésioses	Ixodes ricinus	Babesia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Une hyperthermie avec signes d'hémolyse.</li> <li>• Une anémie, une hémoglobinurie pour les formes aiguës, et parfois un ictère.</li> <li>• Certaines manifestations atypiques peuvent apparaître comme des symptômes nerveux, respiratoires, digestifs, cutanéomuqueux ou une kératite.</li> <li>• Les complications sont hépatorénales, et peuvent mener à la mort.</li> </ul>
	Theilérioses	Ixodes scapularis Hyalomma detritum detritum	Theileria	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elles provoquent une anémie.</li> <li>• Une hyperthermie, et parfois de volumineuses adénites.</li> <li>• Un épaissement et durcissement de la peau formant des ulcères</li> </ul>

## Chapitre 01 : Généralités

Bactérioses	Rickettsioses	Rhipicephalus sanguineus. Amblyomma variegatum	Bactéries gram négatif du genre : Ehrlichia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Qui provoque une phase aiguë de dépression avec anorexie.</li> <li>• Léthargie, fièvre, perte de poids, splénomégalie et adénomégalie.</li> </ul>
	Maladie de Lyme ou Borréliose de Lyme	Ixodes : I.ricinus I.scapularis I.pacificus	Borrelia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polymorphes, cependant l'érythème cutané migrant est pathognomonique de la maladie.</li> <li>• Atteinte cardiaque, neurologique, et articulaire.</li> </ul>
Viroses	Encéphalite à tique	Ixodes ricinus	Flavivirus	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Une fièvre biphasique, une dépression, ataxie, incoordination, paralysie des postérieurs, un coma et la mort.</li> </ul>
	Louping ill	Ixodes ricinus	Flavivirus	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Provoque chez l'homme une « grippe estivale » puis certaines complications peuvent apparaître comme des troubles de l'équilibre, une altération de la conscience, et des capacités intellectuelles ou psychiques, une méningite avec des séquelles neurologiques parfois très graves.</li> </ul>

(Boulouis, 2007-2008 ; Barré et Uilenberg, 2010 ; Chermette et *al.*, 2010 ; Aubry et Gaüzère, 2016)



### 1.8 Stratégies de lutte contre les tiques

Selon Guiguen et Degeilh, (2001) Les méthodes de lutte appliquées contre les tiques peuvent être générale et comportent des méthodes Écologiques et chimiques, ou individuelles.

#### Lutte écologique

Elle consiste à modifier le biotope des tiques, mais cela nécessite une bonne connaissance de leur écologie. Pour les ixodidae ; elle est plus difficile à mettre en œuvre : déboisement ; mise en culture ; rotation des pâturages ; suppression des hôtes potentiels.

#### Lutte chimique

Elle fait appel aux acaricides soit d'origine naturelle (pyréthrine...) ou de synthèse (organochlorés, organophosphorés, carbamates...). La lutte contre les espèces exophiles peut se faire par épandage. En revanche, celle contre les espèces endophiles demande des traitements ponctuels appliqués sur les gîtes révélés. Pour les Ixodidae, des bains, des douches ou des poudrages peuvent être pratiqués et ont montré leur efficacité. Des colliers anti tiques peuvent être utilisés pour les chiens et les chats. Leur efficacité est de 6 à 8 semaines.

#### Lutte individuelle

La pique des tiques ixodidées est non douloureuse et passe donc souvent inaperçue, surtout pour les stades immatures. Il faut donc :

- éviter de se faire piquer en portant des bottes, des pantalons lors des promenades en forêt ;

utiliser des répulsifs actifs sur les tiques (sauf chez la femme enceinte) dont le principe actif contient du DEET à 50 % pour les adultes, ou du EHD à 30-70 pour les enfants. Sur les vêtements on peut utiliser de la perméthrine à 4 V.

**L**es babésioses bovines ou piroplasmoses, « pissement de sang » ou encore « mal de brout » sont des maladies infectieuses non contagieuses, inoculables dues à la multiplication dans les globules rouges de protozoaires du genre *Babesia*. Les vecteurs en cause sont les tiques dures ou Ixodidés (**Genouvrier, 2013**).

Ces parasites sont pour la plupart adaptés à une espèce hôte particulière. Seul l'Homme n'a pas de *Babesia* spécifique (**Marchal, 2011**).

Cette maladie pose un réel problème dans les élevages causant une importante mortalité, ainsi que des pertes économiques élevées (**Dellac, 1999**). Elle a une incidence saisonnière correspondant à l'activité de son vecteur (**Euzeby et al., 2005**).

### 2.1 Historique

En 1888, le Docteur Victor Babes (1854 - 1926), physicien et biologiste roumain, rapporta pour la première fois l'existence de micro-organismes localisés dans les érythrocytes et responsables d'hémoglobinuries chez des bovins, il nomme la maladie la « red water fever » (**Babes, 1888**).

Peu de temps après, en Amérique du Nord, Theobald Smith et Frederick Kilborne ont rapporté que la maladie la « red water fever » chez les bovins était en effet associée à un protozoaire transmis par les tiques. Les parasites observés par Babes, et par Smith et Kilborne ont ensuite été nommés *Babesia* (**Ganzinelli et al., 2018**).

### 2.2 Taxonomie

Les parasites du genre *Babesia* sont des hémoprotozoaires dits non pigmentaires, car digérant suffisamment bien l'hémoglobine pour ne pas laisser de résidus intra-érythrocytaires, ce qui les distingue d'emblée de genres tels que *Plasmodium* et *Haemoproteus* (**Uilenberg, 2006**).

Elles appartiennent à l'embranchement des sporozoaires (sous embranchement des Apicomplexa), à la classe des hématozoaires et à l'ordre des Piroplasmida (ou Babesiida) appelés Piroplasmes et enfin à la famille des Babésiidae au genre *Babesia* (**Marchal, 2011**) (tableau I).

**Tableau II :** Position taxonomique de *Babesia*.

Niveau taxonomique	Nom du taxon	Critères
Règne	Eukaryotes	Présence d'un noyau
Sous-règne	Protozoaires	Souvent mobiles Paroi cellulaire non cellulosique Développement hétérotrophe
Embranchement	Sporozoaires	Absence d'organites locomoteurs Parasite à tous les stades évolutifs
Sous-embranchement	Apicomplexa	Présence d'un complexe apical à certains stades de développement
Classe	Hémotozoaires	Absence de spores (complexe apical dépourvu de conoïde) Présence d'un stade endo-érythrocytaire Transmission par des arthropodes hématophages hébergeant un ookinète
Ordre	Piroplasmida	Forme endo-érythrocytaire non productrice de pigments Absence de vacuole parasitophore Transmission par une tique dure (Ixodidés)
Famille	Babésiidae (Babésiidés)	Absence de forme exo-érythrocytaire chez l'hôte vertébré Multiplication par bipartition longitudinale Transmission trans-ovarienne chez la tique
Genre	<i>Babesia</i>	Genre unique des Babésiidés

(Bussiéras et Chermette, 1992).

Quatre espèces de *Babesia* de bovins étaient reconnues dans le monde occidental, *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens* et *Babesia major*, jusqu'à ce que les Japonais décrivent *Babesia ovata* (très proche de à *B. major*) et les Sud-Africains ont distingué *Babesia occultans* comme une nouvelle espèce (Gray et De Vos, 1981 ; Uilenberg, 2006).

### 2.3 Distribution géographique de la babésiose bovine

Les babésioses bovines sont présentes dans les régions tropicales et subtropicales situées entre le 40 parallèle nord et le 32 ° parallèle sud, où elles ont été signalées dans 120 pays. On estime à plus d'un milliard le nombre de bovins exposés dans le monde au risque de contracter ces affections (Figure 01). *Babesia bovis* occupe une large partie de l'Ancien et du Nouveau Monde, elle a été signalée en Amérique du Nord (Mexique), en Amérique centrale et du Sud, en Afrique, en Asie, en Europe et en Australie, où elle est considérée comme particulièrement pathogène. Outre l'Afrique et l'Amérique intertropicale. *B. bigemina* a également été signalée dans les régions méridionales d'Asie centrale et en Europe méridionale (Espagne et Grèce) ainsi qu'en Italie (avec *B. bovis*) (Figueroa et Camus, 2003) tandis que *B. divergens* est endémique

en Europe et dans certains pays africains ( <https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/oie-ri-bb-bb> ) (Annex I ).

### 2.4 Morphologie

Il est possible de différencier deux types de babésies par une observation microscopique soignée (taille, forme du parasite et position intra-érythrocytaire des formes bigéminées) sur frottis sanguin coloré au May Grünwald Giemsa (MGG) (**Chartier et al., 2000**) :

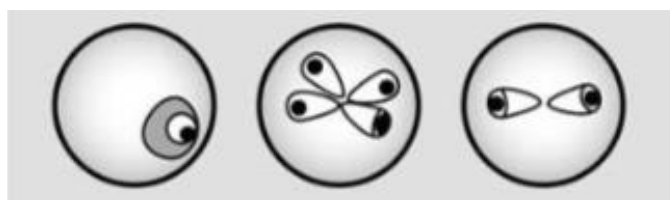
- Petites formes ( $<2,5 \mu\text{m}$ ) : la paire de mérozoïtes forme un angle obtus et est de longueur inférieure au rayon de l'érythrocyte.
- Grandes formes ( $>2,5 \mu\text{m}$ ) : la paire de mérozoïtes forme un angle aigu et est de longueur supérieure au rayon de l'érythrocyte.

- **Les caractéristiques des principales espèces de *Babesia* affectant les bovins :**

#### a) *Babesia divergens*

*B. divergens* est une « petite » babésie, sur le frottis sanguin, on observe de petits éléments bleu foncé à la périphérie de l'hématie, contre la membrane plasmique. Ils contiennent un noyau rouge sombre peu visible et une vacuole centrale. *B. divergens* peut apparaître sous plusieurs aspects (Figure 02) (**Rakover, 2018**) :

- ✓ Une forme annulaire (circulaire ou ovoïde) de  $1 \mu\text{m}$  de diamètre, uni ou binucléée, c'est la forme la plus fréquente,
- ✓ Une forme bourgeonnante (en division) appelée aussi amiboïde.
- ✓ Une forme en poire de 1 à  $2 \mu\text{m}$  de long. Les éléments piriformes peuvent être uniques ou géminés, uni ou binucléés selon leur stade évolutif. Lorsqu'ils sont bigéminés, les doubles poires forment un angle obtus, proche de  $180^\circ$  donnant son nom à l'espèce.

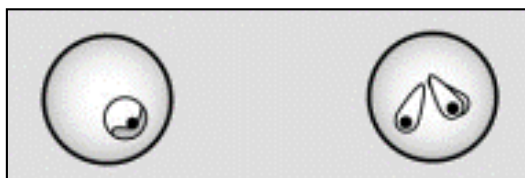


**Figure 08** : Aspects cytologiques schématisés de *Babesia divergens* au sein d'une hématie (**Maslin et al., 2004**).

### b) *Babesia bovis*

*Babesia bovis* est une « petite » babésie occupant une position plus centrale que *B. divergens* dans les érythrocytes. Ainsi, les formes en division coiffant le pourtour des hématies sont totalement absentes des frottis. On ne peut observer que deux formes (Figure 00) (Rakover, 2018) :

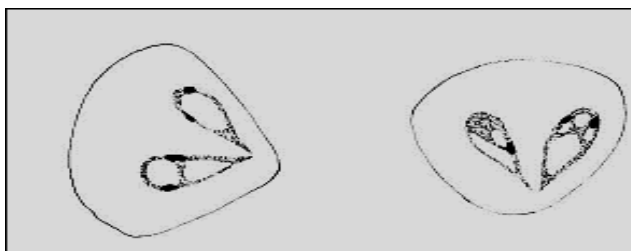
- ✓ Une forme annulaire qui est la plus fréquente (3/4 des formes observées).
- ✓ Une forme piriforme moins fréquente (1/4 des formes observées).



**Figure 09** : Aspects cytotologiques schématisques de *Babesia bovis* au sein d'une hématie (Maslin et al., 2004).

### a) *Babesia major*

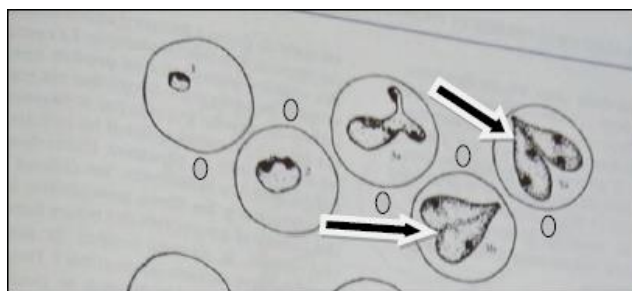
*B. major* grande forme (3,2  $\mu\text{m}$   $\times$  1,5  $\mu\text{m}$ ) de *Babesia*. Corps piriformes, l'angle entre les organismes est inférieur de 90°. Des formes rondes d'un diamètre d'environ 1,8  $\mu\text{m}$  sont également disponibles (Figure 04) (Laha et al., 2015).



**Figure 10** : Formes caractéristiques de *B. major* (Aeschlimann, 1975).

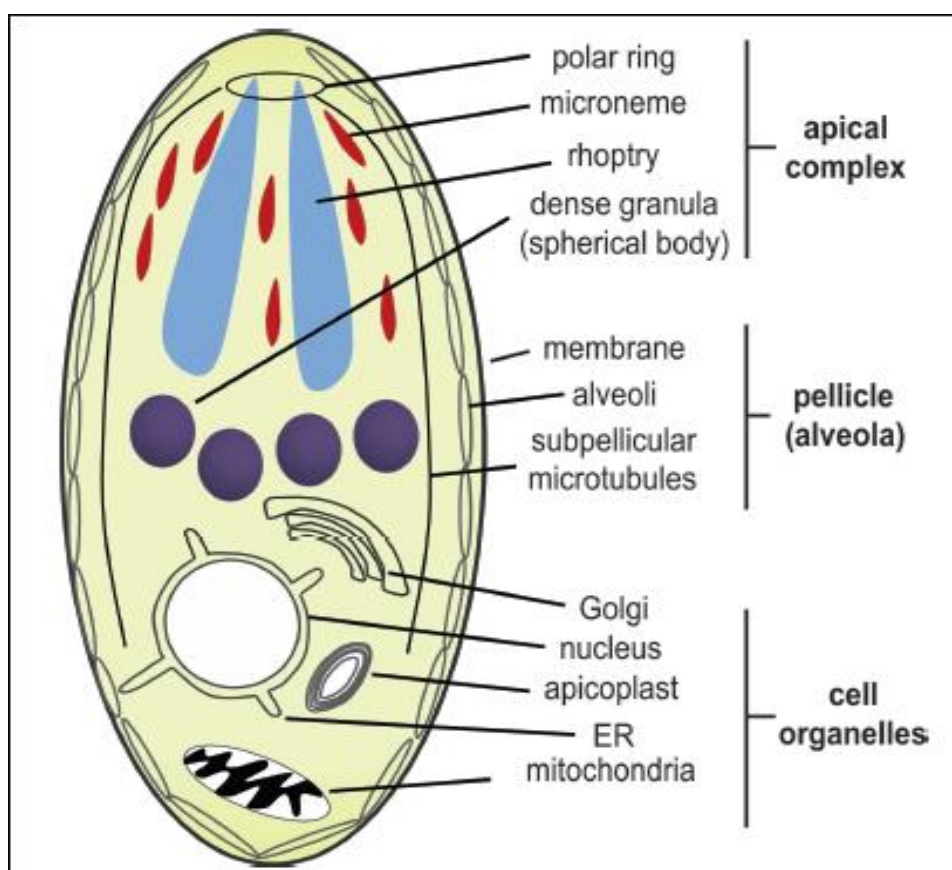
### b) *Babesia bigemina*

*B. bigemina* grande forme (4,5  $\mu\text{m}$   $\times$  2,0  $\mu\text{m}$ ) de *Babesia*. Les parasites sont typiquement en forme de poire. Des formes rondes (2–3  $\mu\text{m}$  de diamètre) ovales ou de forme irrégulière peuvent également être trouvées (Figure 05) (Laha et al., 2015).



**Figure 11 :** Formes caractéristiques de *B. bigemina* (Lefèvre et al., 2003).

En microscopie électronique, les *Babesia* possèdent un anneau polaire apical, des microtubules sous-pelliculaires, 5 à 7 rhoptries, des ribosomes libres, un réticulum endoplasmique mais, apparemment, pas de vrai conoïde, des micronèmes (Figure 06). Les rhoptries et les micronèmes sont des organites dont le rôle est de sécréter des enzymes protéolytiques (Rakover, 2018).



**Figure 12 :** Schéma de la structure interne de *Babesia spp* (Ganzinelli et al., 2018).





### 2.6 Les symptômes

Les symptômes de la maladie sont fonction de la pathogénicité et de la virulence des espèces de *Babesia*, ou encore, au sein d'une espèce, des souches impliquées. La sensibilité de l'hôte dépend de facteurs tels que l'âge, la race et le statut immunitaire de l'animal (**Figueroa et Camus, 2003**).

L'incubation suite à une piqûre de tique contaminant le bovin est variable de 3 à 15 jours et la maladie peut évoluer sous diverses formes (**Francois, 2008**) :

❖ **Forme aiguë :**

- Il s'agit de la forme la plus fréquemment rencontrée. La majorité des premiers signes ne sont pas spécifiques : anorexie, trouble de la rumination, diminution de la production laitière, syndrome hémolytique...
- Syndrome fébrile : forte température, sueurs
- Anémie : apparaissant très rapidement qui s'accompagne de muqueuses très pâles.
- Hémoglobinurie : qui se traduit par des urines très colorées.

D'autres formes de la maladie beaucoup moins fréquentes peuvent se développer :

- ❖ **Forme suraiguë :** survenant chez les vaches grosses productrices, la mort survient généralement très rapidement en 24 à 48 heures après un épisode de troubles nerveux.
- ❖ **Forme subaiguë :** avec des symptômes très discrets, passant souvent inaperçus.

### 2.7 Traitement et prophylaxie

Le contrôle de la babésiose bovine implique la lutte contre les tiques vectrices, l'immunisation des bovins (vaccin), l'utilisation des médicaments anti-babesia ou la combinaison de ces approches (**Suarez et Noh, 2011**). Les animaux malades doivent être traités le plus rapidement possible avec un médicament antiparasitaire. Le succès du traitement dépend d'un diagnostic précoce et de l'administration rapide de médicaments efficaces (**Vial et Gorenflot, 2006**). Un grand nombre de composés chimiques ont été rapportés comme étant efficaces contre les *Babesia* des bovins. Pendant de nombreuses années, les babésiacides : le sulfate de quinuronium, l'amicarbalide, l'acéturate de diminazène et le dipropionate d'imidocarbe ont été utilisés contre la babésiose bovine dans la plupart des pays européens. Le diminazène est largement utilisé dans les pays tropicaux à la fois comme babésiacide et trypanocide (**Zintl et al., 2003 ; Vial et Gorenflot, 2006**).



**L'** anaplasmose bovine, ou « piro blanche », est une maladie bactérienne infectieuse virulente inoculable, causée par une rickettsie intra-érythrocytaire du genre *Anaplasma* (**Ristic et Kreier, 1974**).

Selon **Inokuma et al, (2001)** L'anaplasmose est due à *Anaplasma marginale* et *Anaplasma centrale* :

- a) ***Anaplasma marginale*** : C'est une rickettsiose qui touche exclusivement les bovidés et qui est transmise de façon transtadiale et intrastadiale par plusieurs genres d'Ixodidés. Elle peut également être transmise de manière mécanique (**Bouattour et al., 1999**).
- b) ***Anaplasma centrale*** : C'est une espèce découverte en Afrique du Sud, qui se distingue d'*A. marginale* par sa position dans le globule rouge (comme son nom l'indique, la plupart des anaplasmes ne sont pas situés à la périphérie de la cellule parasitée) et par sa moindre virulence (**Gharbi et Uilenberg, 2004**).

### 3.1 Historique

L'anaplasmose fut découverte en 1910 en Afrique du Sud par Arnold Theiler (**Camus et Uilenberg, 2003 ; Goureau, 1994 ; Labrunie, 1986**). En effet, depuis longtemps les fermiers sud-africains étaient confrontés à une maladie qu'ils dénommaient « gall-sickness » (maladie de la bile). Theiler grâce à ses travaux réussit en 1907, à identifier des corpuscules intra-érythrocytaires qui étaient responsables de l'Anaplasmose, il les nomma : *Anaplasma marginale*. Par la suite, il réussit à identifier une autre espèce d'*Anaplasma* : *A. centrale* et à montrer sa moindre virulence (**Camus et Uilenberg, 1996**).

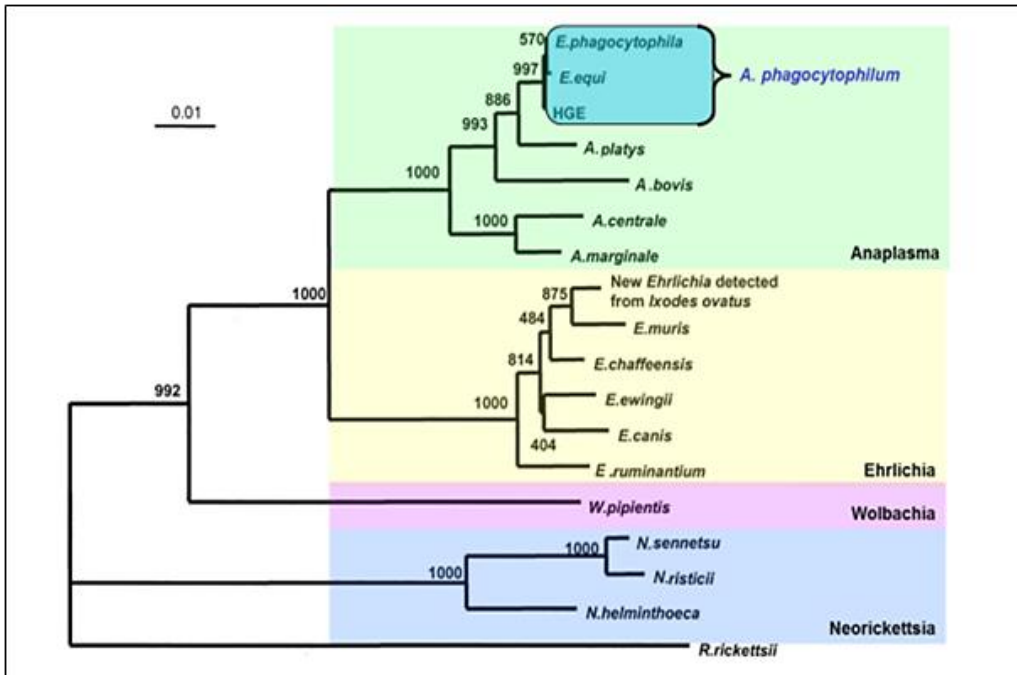
### 3.2 Taxonomie

Les organismes dans l'ordre Rickettsiales ont été récemment reclassifiés en se basant sur des caractéristiques biologiques et les analyses génétiques des 16S ARNr des gènes, et des gènes de protéines de surface (**Dumler et al., 2001**).

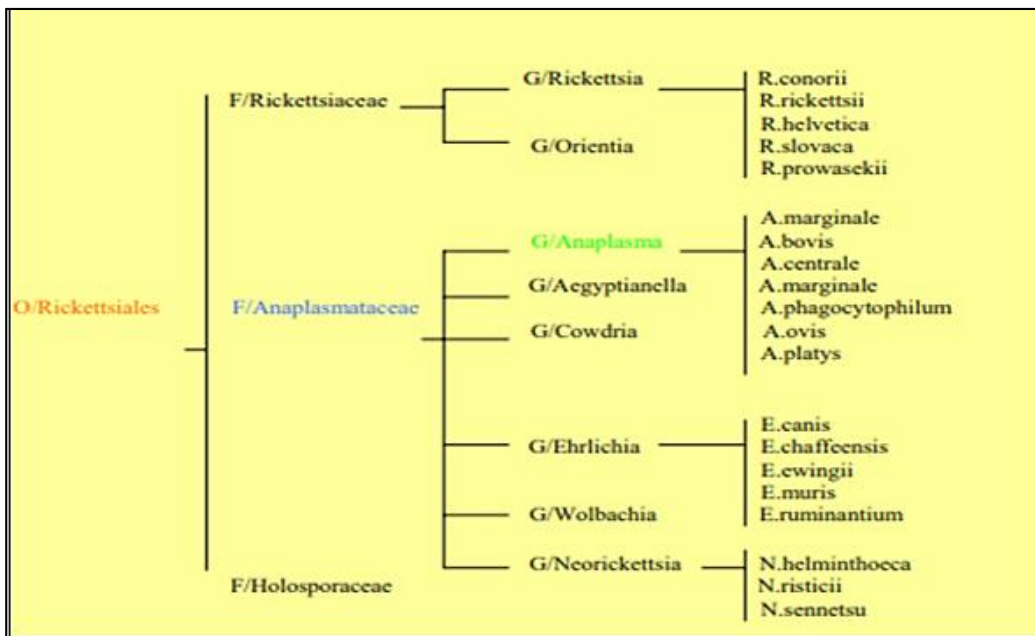
Taxonomiquement, le genre *Anaplasma* fait partie de la famille des Anaplasmataceae, qui, à son tour, il est inclus dans le phylum des Proteobacteria, ordre Rickettsiales. La famille

## Chapitre 1 : Généralités

Anaplasmataceae comprend les genres Ehrlichia, Anaplasma, Neorickettsia, Neoehrlichia, Aegyptianella et Wolbachia (Dumler *et al.*, 2001 ; Rikihisa *et al.*, 2003).



**Figure 14 :** phylogénie des Anaplasmataceae basée sur l'ARNr 16S (Inokuma *et al.*, 2001). Elle a été validée en 2004 et apparaît actuellement dans le Bergey's manual of Systemic Bacteriology (Brenner *et al.*, 2005). Cette nouvelle classification est la suivante :



**Figure 15 :** Nouvelle classification des bactéries de l'ordre des Rickettsiales d'après le Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology 2003.

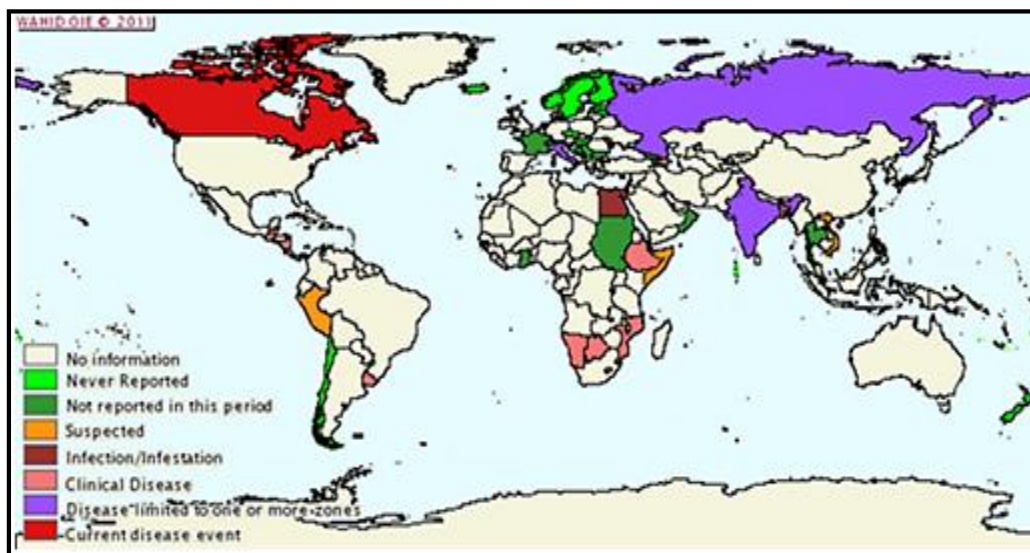
### 3.3 Distribution géographique de l'anaplasmose Bovine

L'anaplasmose survient dans les régions tropicales et subtropicales (~40° N à 32° S) à travers le monde, y compris le Nouveau Monde, l'Europe, l'Afrique, l'Asie et l'Australie (**Kocan et al., 2004**). En Europe, l'anaplasmose est endémique dans plusieurs pays méditerranéens, dont l'Italie (**Ceci et Carelli, 1999**), le Portugal (**Caeiro, 1999**) et Espagne De (**La Fuente et al., 2004**).

Récemment, *A. marginale* a été signalée à des latitudes plus septentrionales, telles comme l'Autriche (**Baumgartner et al., 1992**), la région alpine de la Suisse (**Hofmann-Lehmann, 2004**) et la Hongrie (**Hornok et al., 2007**).

L'infection à *Anaplasma sp* a été rapportée dans plusieurs pays du Maghreb sur la base d'observations cliniques et parasitologiques (étalements de sang) et sérologiques (**Sergent et al., 1945 ; Sahibi et al., 1998**).

La distribution de l'anaplasmose peut cependant continuer à évoluer en raison de la tendance au réchauffement climatique, qui peut influencer la distribution des tiques vectorielles.



**Figure 16 :** Distribution de l'anaplasmose bovine dans le monde en 2011 (Janvier à Juin) (**Caribvet, 2011**).

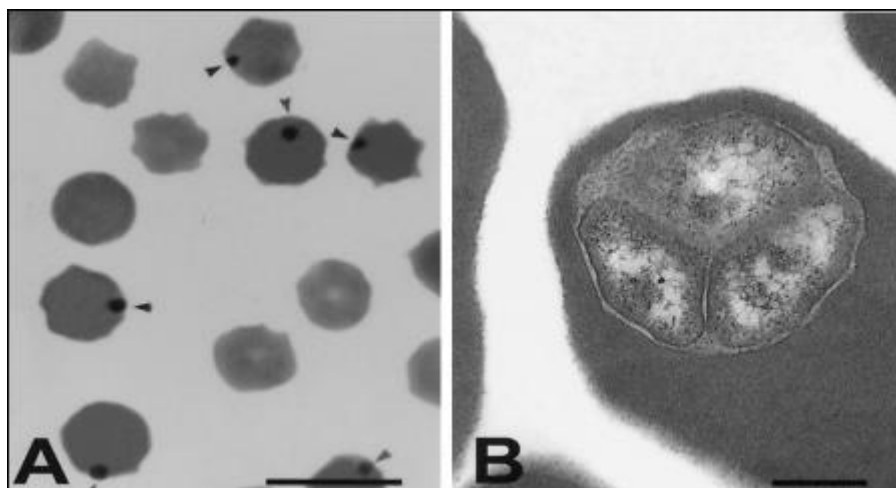
### 3.4 Morphologie

Les rickettsies, appartenant au genre *Anaplasma* sont des bactéries qui parasitent les érythrocytes. Elles sont Gram négatives, immobiles, de petite taille (**Gharbi et Uilenberg, 2004**).

Elles sont visibles sur frottis sanguin coloré au Giemsa sous forme d'inclusions rondes, denses, pourpre foncé, de 0,3 à 0,8 microns de diamètre, accolées à la membrane des érythrocytes et aux contours légèrement irréguliers (ce qui les différencie des corps de Howell-Jolly qui sont parfaitement ronds). Ces inclusions contiennent 4 à 8 sous-unités appelées « corps initiaux » et constitués chacun d'une bactérie.

Au microscope électronique, ces corps initiaux contiennent une membrane externe et une membrane interne, qui entourent une matière filamenteuse dense comme on peut le voir sur les (Figure 03) (**Kocan et al., 2010 ; Lefèvre et al., 2003**)

Les critères permettant d'identifier les deux *Anaplasma* sont des critères de positionnement, en effet les inclusions d'*A. marginale* se trouvent majoritairement en périphérie des érythrocytes (80 à 90%) contrairement à celles d'*A. centrale* qui comme son nom l'indique sont situées au centre des érythrocytes (85 à 90%) (**Francois, 2008**).



**Figure 17 :** Érythrocytes bovins infectés par *A. marginale* (**Kocan et al., 2003**).

- (A) : Les corps d'inclusion (pointes de flèche) sont situés à la périphérie de l'érythrocyte dans un frottis sanguin (10 $\mu$ m).
- (B) : Inclusion d'*Anaplasma marginale* contenant trois sous-unités au microscope électronique (0,5 $\mu$ m).

### 3.5 Cycle évolutif

La tique se contamine pendant le repas sanguin. Les rickettsies sous forme végétative (réticulée), non infectieuses pour le bovin, s'y multiplient et disséminent dans tout l'organisme. Les parasites repassent ensuite sous forme dense (infectieuse) dans les glandes salivaires de la tique, leur permettant ainsi d'être transmis aux bovins (Aubry et Geale, 2011).

Les rickettsies pénètrent dans les globules rouges de ces derniers et se multiplient par scission binaire. Ainsi, pendant la phase aiguë, le nombre d'érythrocytes parasités double toutes les 24 heures et peut atteindre jusqu'à 70% du nombre total d'érythrocytes (Crosby et al., 2015 ; Kocan et al., 2010).

Le cycle chez la tique dure 20 jours en moyenne. Les transmissions transtadiale et intrastadiale du parasite au cours des mues de la tique sont possibles (Aubry et Geale, 2011 ; Kocan et al., 2010).

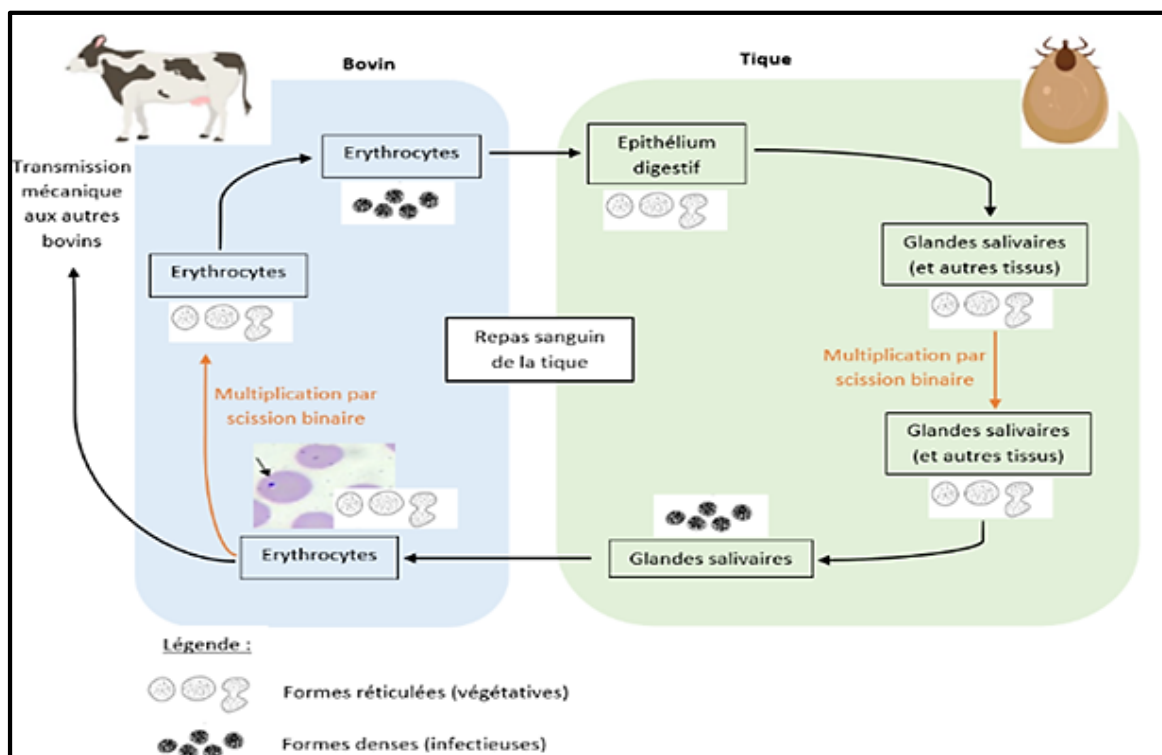


Figure 18 : Schéma du cycle de l'anaplasmose à *Anaplasma marginale* (Inspiré de Kocan et al., 2010).

### 3.6 Symptômes

L'anaplasmose à *A. marginale* s'exprime sous deux formes : forme aiguë et une forme bénigne.

**Selon Rossi Paul et Demensois Ph, (1952)** Forme aiguë ou chronique dure généralement trois à quatre semaines, elle se caractérise par :

- Anémie rapide : en 2-3 jours, muqueuses blanc porcelaine, sans ictère ni pétéchies ; la mamelle a un aspect caractéristique, visible de loin. Rétractée, elle est décolorée : les trayons sont jaune vieil ivoire.
- Amaigrissement saisissant.
- Cœur très rapide : 120-140 pulsations. Pouls veineux constant. Respiration accélérée 40-30.
- Tremblements cloniques au niveau des anconés et du tenseur du fascia ou grandes secousses ébranlant tout le corps.
- Lactation considérablement diminuée, remontant à peu près au taux primitif en cas de guérison.
- La palpation du foie et de la rate n'amène aucune réaction. Urine claire sans hémoglobinurie.
- La mort, précédée d'un refroidissement cutané très net surtout au niveau du garrot et d'une hypothermie manifeste (37°-38°), survient en 3-4 jours.
- Si l'accès n'est pas mortel, la température revient en une semaine à la normale. L'appétit est recouvré ; les muqueuses se recolorent, mais l'embonpoint ne s'écupère que lentement.

Pour la forme bénigne, une fièvre discrète durant deux à trois jours et une anémie modérée sont les seuls signes cliniques (**Sauger, 2005**).

La période d'incubation dure en moyenne 28 jours et dépend de la quantité de parasites inoculés initialement (**Okafora et al., 2019 ; Kocan et al., 2003**).

### 3.7 Traitement et prophylaxie

En zone d'endémie elle fait appel à la lutte contre les vecteurs et à des mesures spécifiques de vaccination ou de chimioprévention. On peut utiliser des vaccins *d'Anaplasma marginale* un vaccin préparé à l'aide *d'Anaplasma centrale* ou de souches avirulentes *d'Anapalsama marginale*, ou un vaccin inactif. La chimioprévention consiste en l'administrartion de

chlortétracycline ou d'oxytétracycline soit par voie orale (11 mg/kg pendant plusieurs jours), soit par voie parentérale (7 à 11 mg/kg) (**Fontaine, 1992**).

Le traitement associe des mesures spécifiques et symptomatiques :

- Oxytétracycline : 20 mg / kg pendant 7 jours,
- Laxatifs doux (huiles minérales),
- Réhydratants, par voie orale ou parentérale,
- Vitamine B12,
- Transfusion sanguine dans les cas graves.

## **Chapitre 2 : Matériel et Méthodes**



### 1. La zone et la période d'étude

#### A) Zone d'études

##### a) Description du site pilote

###### ✓ Le site pilote du Parc Chréa

Le Parc National de Chréa (PNC) s'étend sur 26.587 ha, le long des parties centrales de la chaîne de l'Atlas Tellien. Il est situé dans la région Nord-Centre de l'Algérie, à mi-distance entre le chef-lieu de deux grandes villes, la capitale Alger dans la wilaya d'Alger et la ville de Blida dans la wilaya de Blida. Il chevauche également les wilayas de Blida et de Médéa, selon le nouveau découpage territorial datant de 1984.

###### ✓ Le climat du Parc

Le climat du Parc est généralement de type méditerranéen humide, à hiver pluvieux doux et étés chauds et secs où l'ambiance montagnarde domine bien la vie et les paysages. C'est un climat conditionné par l'altitude, l'exposition des versants et l'orientation des reliefs (Nord-est, Sud-est, Sud-ouest), captant toutes les influences maritimes chargées d'humidité. De par sa situation biogéographique, le Parc national de Chréa est par ailleurs un lieu où co-évoluent deux ambiances climatiques engendrant, l'une sous l'influence maritime et l'autre sous l'influence présaharienne, une distribution végétative très diversifiée, répartie dans l'espace du Parc selon une zonation altitudinale (Figure 20).

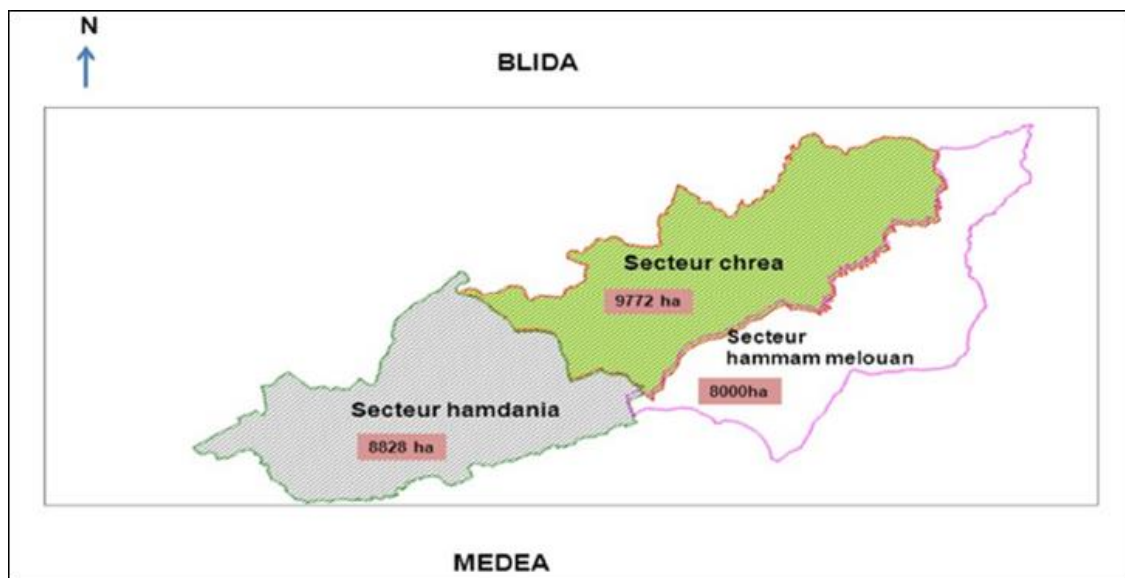


Figure 19 : Localisation des secteurs du parc de Chréa (FAO, 2016).

### ❖ L'objectif

L'objectif global de l'étude est d'évaluer l'incidence et la prévalence des babésioses et des anaplasmoses chez l'hôte bovin ainsi l'impact sur la santé des animaux dans la région de Chréa.

### **B) La période d'étude**

L'échantillonnage a été réalisé durant la période de Février 2022 jusqu'au mois de juillet 2022 en 5 sorties.

Le présent travail s'est déroulé au niveau du laboratoire d'Eco-Epidémiologie Parasitaire et Génétique des Populations à l'institut pasteur d'Algérie IPA.

La région de Chréa a été choisie d'une part pour sa richesse en matériel biologique (vecteur et hôte) et d'autre part pour exploiter le milieu de cette région vierge.

## **2. Matériels et méthodes**

### **A) Matériels**

Dans cette étude on utilise un matériel de nature diverse et variée réparti en deux parties : biologique et non biologique qui englobe tout le matériel inerte.

#### **a) Matériel biologique**

Le matériel biologique est représenté par :

- Un total de 61 Bovins dans la région (la station) de Chréa (Blida).
- Les tiques dures et le sang prélevées à partir de ces bovins.

#### **b) Matériel non biologique**

Tout le matériel non biologique utilisé lors de notre travail est reporté dans **l'Annex II**.

### **2.1 Méthodes**

#### **2.2.1 Collecte de spécimens (les tiques)**

Les tiques ont été récoltées de façon mensuelle dans la région de Chréa. Les bovins ont été choisis au hasard, et les tiques ont été prélevées après examen minutieux et complet du corps de l'animal de façon qu'il soit complètement détiqué. Les tiques ont été prélevées à l'aide d'une pince, de façon mécanique sans qu'aucune substance ne soit appliquée sur ces parasites, ainsi à garder le rostre et le capitulum intacts (Deux éléments de base pour l'identification). Les

échantillons ont ensuite été conservés dans des tubes contenant de l'alcool éthylique (70°). Ces derniers sont étiquetés et munis d'informations telles que, la date du prélèvement, l'hôte et le nombre de tiques prélevées.

### 2.1.1 Identification morphologique :

L'identification des stades adultes a été réalisée au laboratoire à l'aide d'une loupe binoculaire. La manipulation est faite dans des boîtes de pétri, en utilisant des pinces fines. On commence par identifier le genre puis l'espèce.

La diagnose des genres a été basée sur une clé d'identification de **Mouliner, (2003)** et les caractères morphologiques de certaines parties du corps de la tique (rostre, yeux, festons).

- Le rostre : sa longueur et sa forme.
- Les yeux : s'ils existent.
- Les festons : présence ou absence et l'aspect du feston médian.
- L'aspect externe du pore génital femelle.
- La hanche I : sa longueur est présence de 1 ou 2 épines.
- Plaques ventrales males : présence, nombre, et forme.

La diagnose des espèces a été réalisée en utilisant la clé de **Walker, (2003)** et en se basant sur certains détails morphologiques (ponctuation du scutum, coloration des pattes, forme des stigmates, caractères des sillons, des festons et des yeux).

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

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

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

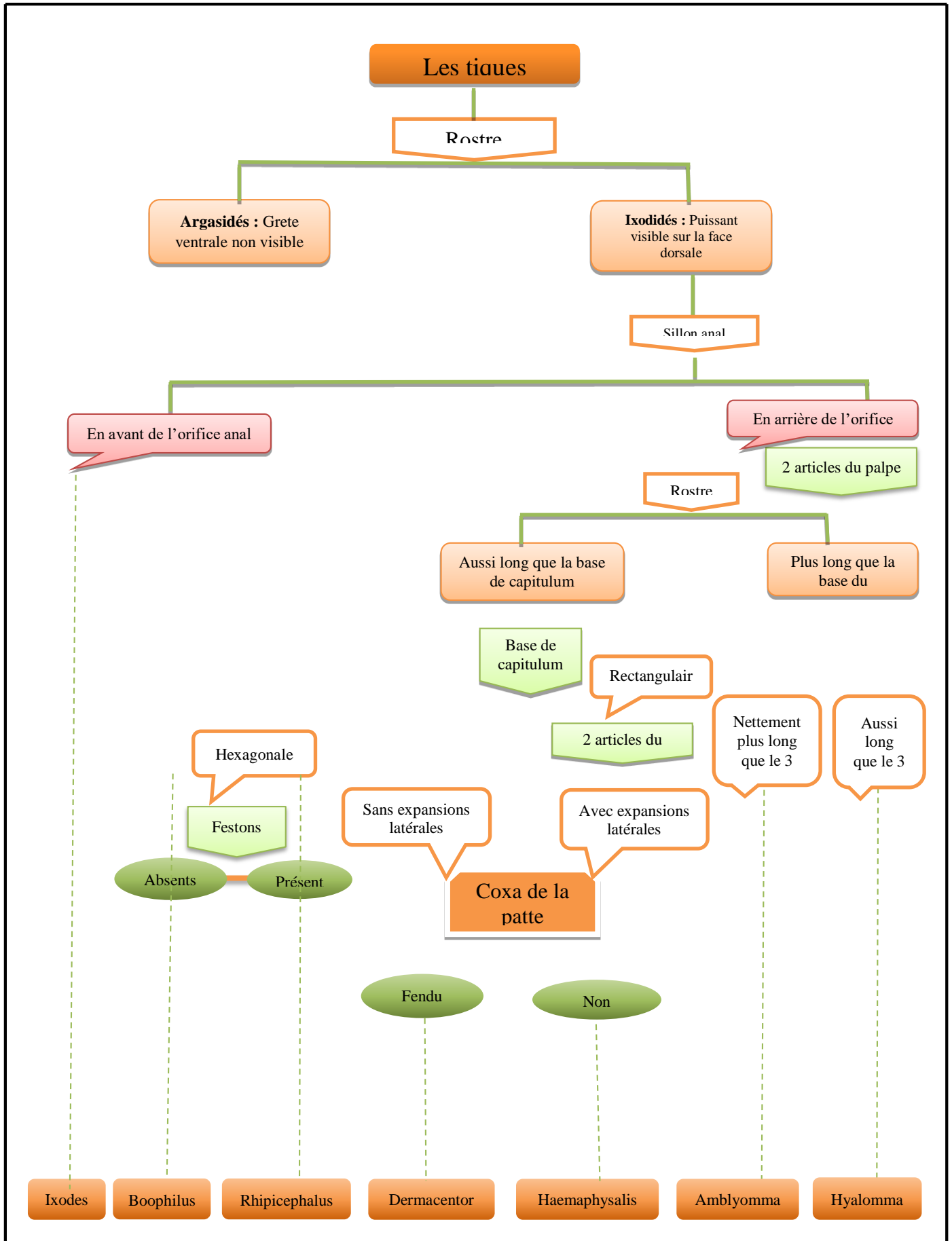
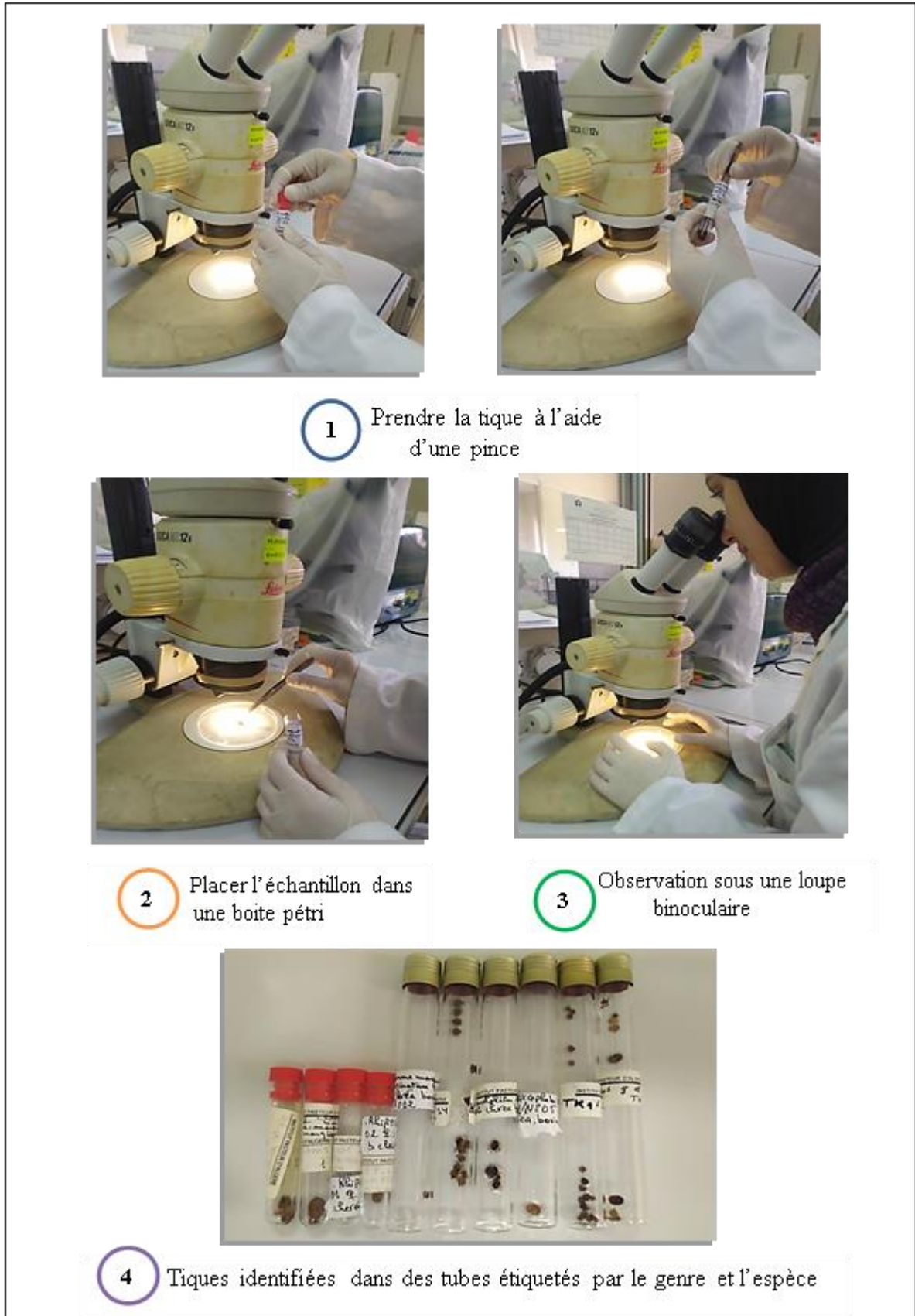


Figure 20 : Clé d'identification des tiques (Moulinier, 2003).



**Figure 21** : les étapes d'identification des tiques prélevées à partir des bovins (Originale, 2022).

### 2.1.2 Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN à partir de tiques est considérée comme difficile (**Hubbard et al., 1995 ; Mauel et al., 1999 ; Sparagano et al., 1999 ; Hill et al., 2003**). Les difficultés rencontrées lors de l'extraction à partir des tiques sont dues à la présence d'une cuticule rigide qui rend difficile l'accès aux tissus internes colonisés par les agents pathogènes mais aussi à la présence d'inhibiteurs de Polymérase Chain Reaction dans les tissus de la tique (**Hubbard et al., 1995 ; Sparagano et al., 1999**).

**Principe :** La technique consiste à désorganiser les membranes cellulaires en émulsionnant leurs lipoprotéines à l'aide d'un détergent, ensuite faire précipiter l'ADN et enrouler les filaments (**De Vroey, 2002**). L'extraction d'ADN est réalisée à l'aide d'un Kit spécial QIA amp (Kit QIAGEN® ,Hilden, Germany) sous une hotte à flux laminaire. Ce Kit est un système générique utilisant la technologie QIA amp pour extraire et purifier l'ADN génomique, selon le protocole ci - dessous :

#### La lyse

- Rincer à deux fois à l'eau distillée stérile le matériel biologique (les tiques) pour éliminer toute trace d'alcool.
- Couper les échantillons en petit morceaux et les introduire dans des tubes Eppendorf préalablement numérotés et codés.
- Ajouter 180µl d'ATL (Broyage chimique), puis à l'aide des tiges broyer les échantillons mécaniquement.
- Ajouter 20µl de la protéinase K, puis agiter rapidement à l'aide du vortex.
- Incuber les échantillons dans un bain à sec à 37 ° C pendant une nuit.
- Faire une centrifugation rapide à 8000 tr / min pendant 4 secondes
- Ajouter 180µl d'AL, puis agiter 15 secondes au vortex.
- Mettre les échantillons au bain sec à 70 ° C pendant 10 minutes, et centrifuger rapidement.
- Ajouter 200µl d'éthanol, et agiter pendant 15 secondes.
- Verser le mix dans les tubes collecteurs à filtre.
- Centrifuger les tubes pendant 1 minute à 8.000 tr / min.

### Purification

- Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- Faire un premier lavage avec 500µl d'AW1.
- Centrifuger 1 minute à 8.000 tr / min.
- Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- Faire un deuxième lavage avec 500µl d'AW2.
- Centrifuger 4 minutes à 14.000 tr / min.
- Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- Centrifuger une nouvelle fois 1 minute à 14.000 tr / min.

### Elution

- Placer le filtre dans un nouveau tube Eppendorf.
- Ajouter 200µl de tampon AE.
- Incuber 1 à 5 minutes à température ambiante
- Centrifuger une dernière fois pendant 1 minute à 8.000 tr / min.
- Récupérer l'éluât qui contient l'échantillon d'ADN.
- Conserver le résultat à + 4 ° C.



## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

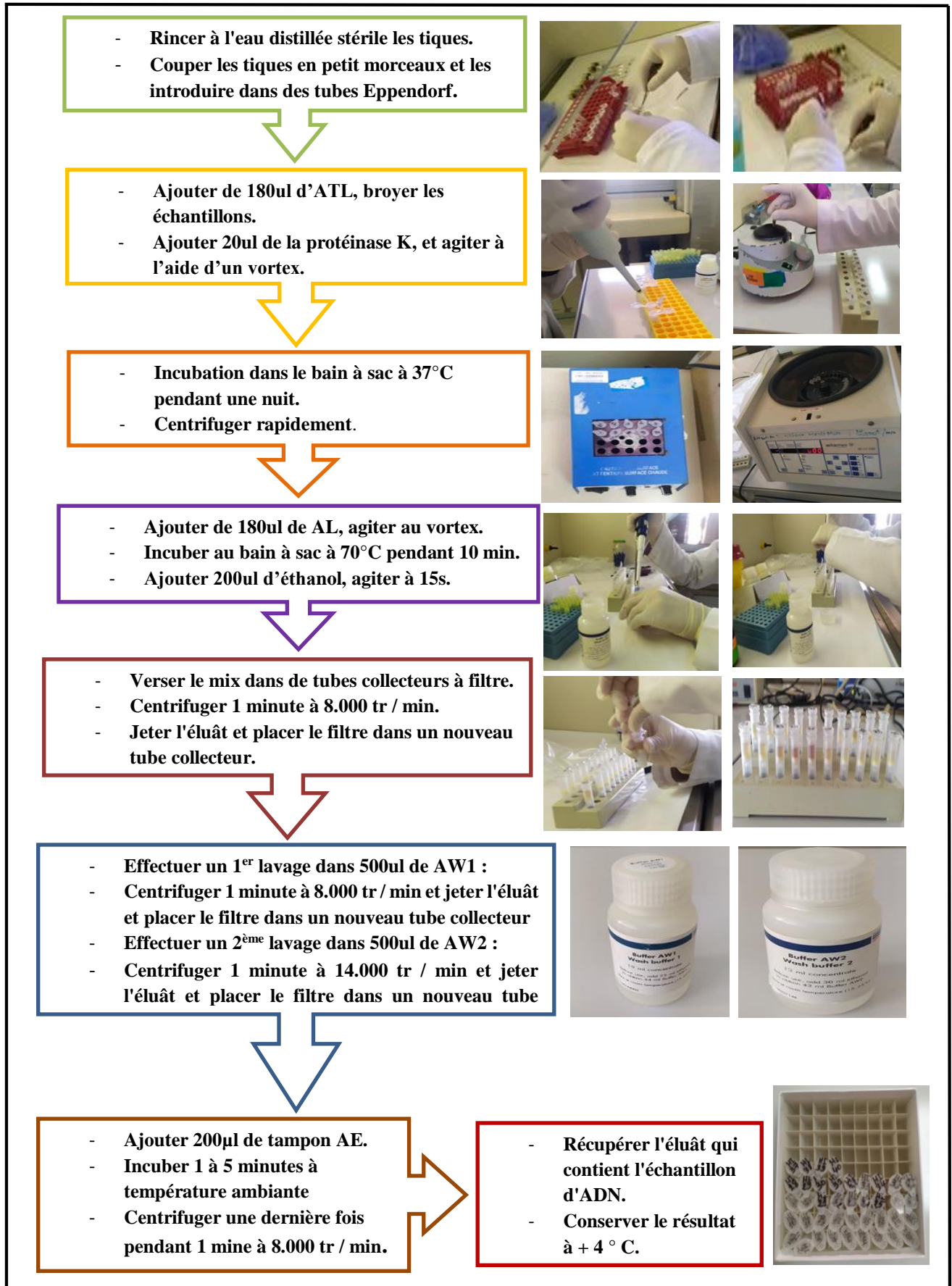


Figure 22 : Protocole de l'extraction d'ADN des tiques (Originale, 2022).



### 2.1.3 Contrôle

La qualité d'ADN extrait est contrôlée avec la technique d'électrophorèse sur gel d'agarose.

**Principe :** L'électrophorèse est une méthode de séparation et de révélation des fragments d'ADN chargés négativement. Les fragments d'ADN amplifiés sont séparés en fonction de leur taille sur un gel d'agarose. L'analyse des produits de la PCR est faite comme suit (**Lee, 2012**) :

#### Préparation du gel d'agarose à 0,8%

- Peser 0,8g d'agarose et le mettre dans 100ml de TBE 1X (Tris Borate EDTA).
- Chauffer le mélange au micro-onde jusqu'à l'obtention d'un liquide limpide.
- Refroidir sous l'eau courante puis ajouter 8µl de BET.
- Couler le gel dans la cuve après avoir positionner le peigne.
- Après polymérisation du gel retirer soigneusement le peigne et placer le gel dans la cuve d'électrophorèse préalablement remplie du tampon TBE 0,5X.

#### Dépôt des échantillons

- Mélanger 3µl d'ADN avec 2µl de tampon de charge puis les déposer dans les puits de gel.
- Réserver les deux derniers puits pour le témoin négatif et le témoin positif.
- Brancher les électrodes de la cuve à l'alimentation de manière à ce que les dépôts soient de côté cathode. Appliquer une tension de 120V correspondant 1h de migration.
- Couper l'alimentation quand le colorant de charge à proximité du bord du gel.

#### Révélation des bandes d'ADN par Trans illuminateur

Il s'agit d'une simple Visualisation des bandes d'ADN sous U.V. du Trans illuminateur dans une chambre noire.

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

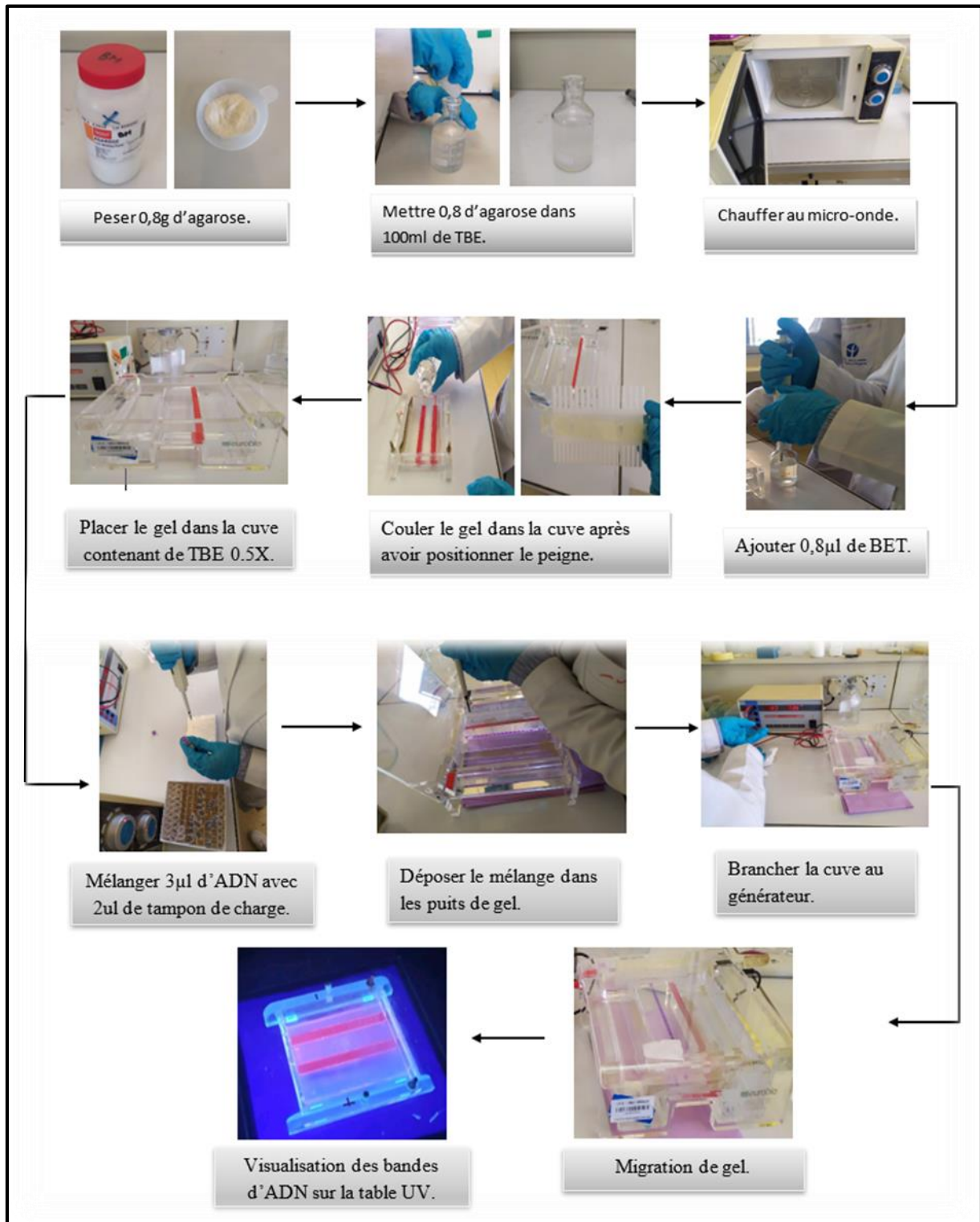


Figure 23 : Protocole d'électrophorèse sur gel d'agarose 0,8% (Originale, 2022).

### 2.1.4 Amplification par PCR en temps réel

Le principe de la PCR en temps réel repose sur la possibilité de suivre la quantité d'ADN présente dans la réaction à tout instant et non à la fin de la PCR, des sondes fluorescentes se fixent (Tse et Capeau, 2003) :

- Soit sur ADN double brin (technologie Cyber).
- Soit sur une séquence d'ADN précise (Taqman et Beacon).

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

Cette opération se déroule dans une pièce isolée et sous une hotte pour éviter toute contamination du mix (Figure 25).

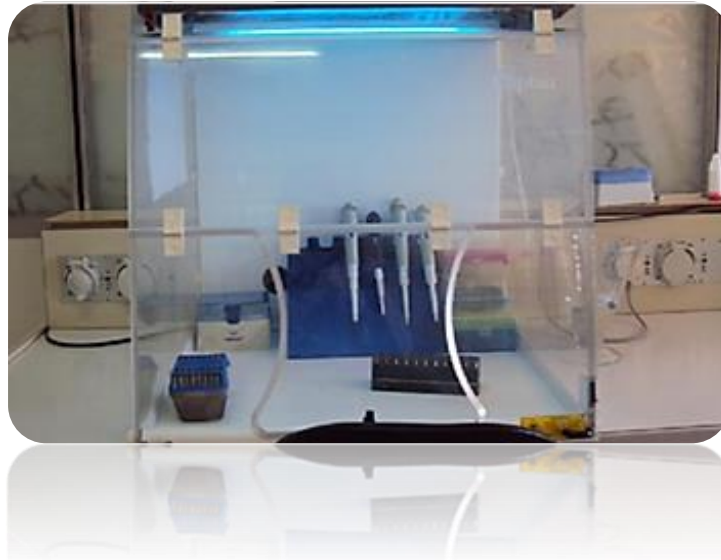


Figure 24 : Stérilisation de matériel (Originale, 2022).

#### ✓ Préparation de mix

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

La préparation doit être effectuée dans des conditions aseptiques, sous une hotte bio cap, avec le port des gants pour éviter toute contamination (Figure 26).

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

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

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

Chaque constituant de ce mix est multiplié par le nombre d'échantillons étudiés (78 échantillons), 15  $\mu$ l de ce mix sont distribués dans chaque tube smart PCR stériles.

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

Tube	Volume
T-	5 $\mu$ l d'ADN négatif + 1 $\mu$ l de mix
T+	5 $\mu$ l d'ADN positif + 15 $\mu$ l de mix
Echantillons	5 $\mu$ l d'ADN extrait + 15 $\mu$ l du mix
Volume total	20 $\mu$ l par échantillon

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

### ✓ Amplification par Smart Cycler :

Trois technologies de la PCR en temps réel sont en cours d'utilisation (TaqMan<sup>®</sup>, Plexor<sup>®</sup> et le SYBR green<sup>®</sup>). Ces récentes avancées dans le domaine de la PCR ont révolutionné le diagnostic et portent sur la quantification des produits obtenus. La technique de la PCR en temps réel devient de plus en plus populaire dans différents secteurs d'activité. Étant donné qu'elle utilise généralement des systèmes en tubes fermés et que la quantification ne requiert aucune manipulation Post-PCR. Les problèmes de contamination post PCR par les amplicons sont significativement réduits. Le processus complet est automatisé du début à la fin rendant cette technologie très performante pour des applications d'analyses à grande échelle. Cette technologie repose sur la possibilité de suivre au cours du temps (« en temps réel ») le

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

processus de PCR à l'aide de la fluorescence. Les données de fluorescence sont collectées à chaque cycle de la PCR et représentent la quantité de produits amplifiés à cet instant. Plus l'échantillon est concentré en molécules cibles à l'origine, moins il faudra de cycles pour atteindre un point pour lequel le signal fluorescent est significativement supérieur au bruit de fond. Ce point est défini comme le Ct « Cycle threshold » et apparaît en début de phase exponentielle (Poitras E et Houde A., 2002).

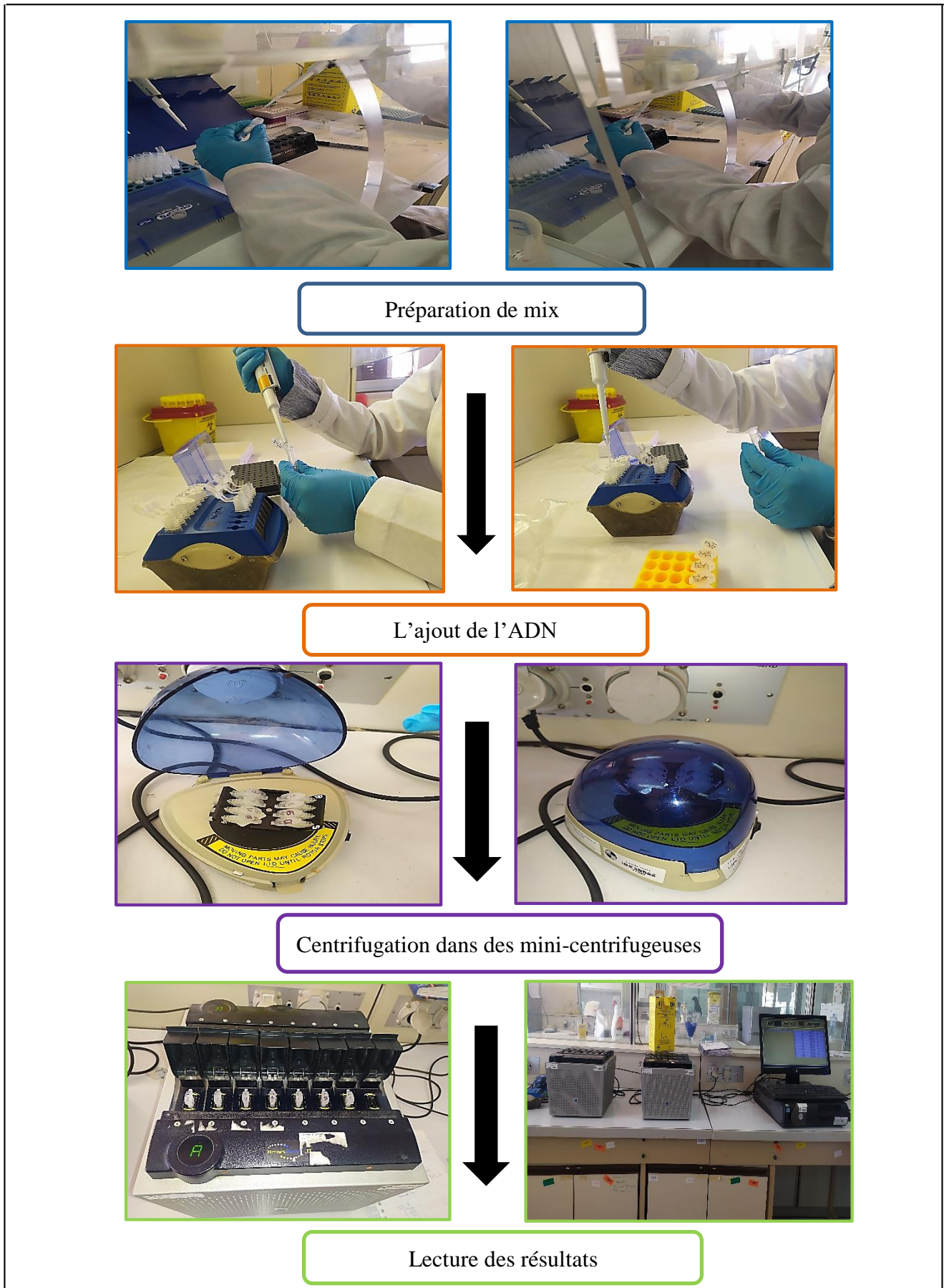
La PCR en temps réel utilisée au cours de notre étude est basée sur la technologie TaqMan mise en œuvre sur des prélèvements biologiques. Les amorces utilisées sont précisées dans le tableau V.

**Tableau V : Sonde et amorce utilisés en RT PCR.**

	Primers sondes	et Séquences
<i>Babesia spp</i>	TT Bab-550F	5'- GTA-GGG-AAT-TGG-CCT-ACC-G-3'
	TT Bab-550R	5'- TTC-TTG-TCA-CTA-CCT-CCC-TGT-G-3'
	TT Bab-550P	6-FAM-CAT-CTA-AGG-AAG-GCA-GGC-GGC-GG-TAMRA
<i>Anaplasma</i>	Aph-apaGF	5'-TAA-GCG-CAG-TTG-GAA-GAT-CA-3'
	Aph-apaGR	5'-CGG-CAC- ATC-CAC-ATA-AAA-A-3'
	Aph-apaGP	6-FAM-TGA-TGA-ACG-GCT-GGT-ATC-AG-TAMRA



## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes



**Figure 25** : Protocole expérimentale de la PCR en temps réel (Originale, 2022).

### 2.1.5 La recherche des hémoparasites à partir du sang des bovins

La recherche des hémoparasites (*Babesia* et *Anaplasma*) par observation direct (frottis sanguin) a été faite à partir du sang prélevé des bovins vivants.

#### 2.1.5.1 Prélèvement de sang

Le prélèvement sanguin a été effectué sur seulement 40 bovins (parmi les 61 bovins). Ce choix a obéi d'une part aux fortes infestations des bovins par les tiques et d'autre part à l'accessibilité aux animaux et l'acceptation des vétérinaires pour la réalisation des prélèvements sanguins. Sur chaque animal, 5ml de sang ont été prélevés à la veine jugulaire à l'aide d'une seringue de 5 ml montée d'une aiguille (Figure 27). Le sang aspiré est directement introduit à l'intérieur d'un tube EDTA, afin d'éviter sa coagulation. Les échantillons collectés ont été conservé au frais (de préférence 4°C) et livré au laboratoire d'analyse rapidement (dans les heures qui suivent la collecte) dans une glacière.



**Figure 26** : Prélèvement sanguin à partir de la veine jugulaire (Originale, 2022).

#### 2.1.5.2 Coloration des frottis sanguins

Le frottis sanguin est l'examen de base et de référence pour l'identification et le comptage des piroplasmes intra érythrocytaires. Sa réalisation est simple et rapide et peut apporter de nombreuses informations qualitatives et quantitatives. La préparation des frottis sanguin a été réalisée selon le protocole ci - dessous :

- Déposer une petite goutte de sang à 1 cm du bord de la lame à l'aide d'une pipette pasteur.
- Placer le bord de l'étaleur (une autre lame) en contact avec la lame, puis entrer en contact avec la goutte de sang (incliner l'étaleur à 45 °).

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

- Laisser le sang s'étaler le long de l'arête de l'étaleur.
- Pousser l'étaleur rapidement, régulièrement, et sans trop appuyer, tout en gardant la même inclinaison.
- Soulever progressivement l'étaleur, en fin d'étalement.
- Le frottis doit s'arrêter à environ 1 ou 2 cm de l'autre extrémité de la lame.
- Sécher immédiatement le frottis, par agitation à l'air.
- Un numéro de référence se rapportant à l'animal prélevé est gravé dessus de la lame.



**Figure 27 : Réalisation des frottis sanguins (Originale, 2022).**

La coloration doit avoir lieu le plus tôt possible après la réalisation du frottis. La technique utilisée est la coloration de May-Grunwald-Giemsa (MGG) qui comporte plusieurs étapes (Figure 29) :



## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes



1. Les Réactifs utilisés pour la coloration des frottis



2. Recouvrement des frottis par le réactif Fix-RAL pendant 5s.



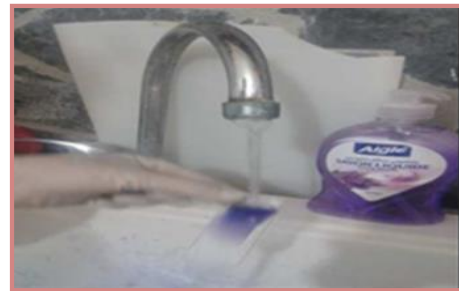
3. Rinçage des lames avec de l'eau du robinet



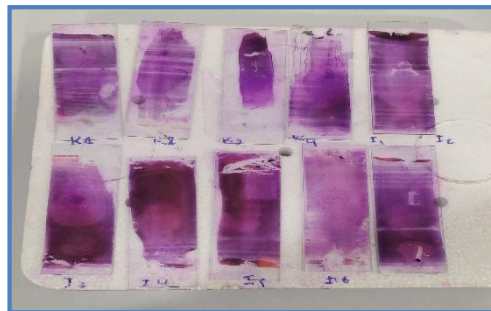
4. Recouvrement des frottis par le réactif Eosin-RAL pendant 5s.



5. Recouvrement des frottis par le réactif Blue-RAL pendant 5s.



6. Rinçage des lames avec de l'eau du



7. Séchage des lames

**Figure 28** : les étapes de la coloration des frottis par May-Grunwald-Giemsa (Originale, 2022).

### 2.1.6 Analyse des résultats par des indices écologiques et parasitaires

#### A. Indices écologiques

##### a) Richesse totale

La richesse est l'un des paramètres fondamentaux caractéristiques d'un peuplement (**Ramade, 1984**). D'après **Blondel (1979)** la richesse totale S est le nombre des espèces du peuplement pris en considération.

##### b) Abondance relative

L'abondance relative correspond au pourcentage des individus d'une espèce (ni) par rapport au nombre total des individus N, toutes espèces confondues (**Dajoz, 1971**). Selon **Fontier (1983)**, l'abondance relative des espèces dans un peuplement ou dans un échantillon, caractérise la diversité faunistique d'un milieu donné. Elle est calculée par la formule suivante :

$$AR (\%) = ni \times 100 / N$$

**ni** : Nombre des individus de l'espèce prise

**N** : Nombre total des individus de toutes les espèces confondues

#### B. Indices parasitologiques

##### a) Prévalence d'infestation des bovins (%)

(Nombre des bovins infestés / nombre total des bovins examinés pendant la période d'étude)  $\times 100$  (**Boukabol, 2003**).

##### b) Intensité d'infestation des bovins

(Nombre total des tiques récoltées / nombre des bovins infestés) (**Boukabol, 2003**).

## **Chapitre 3 : Résultats et Discussion**

### 1. Résultats

#### 1.1. Données sur les tiques collectées

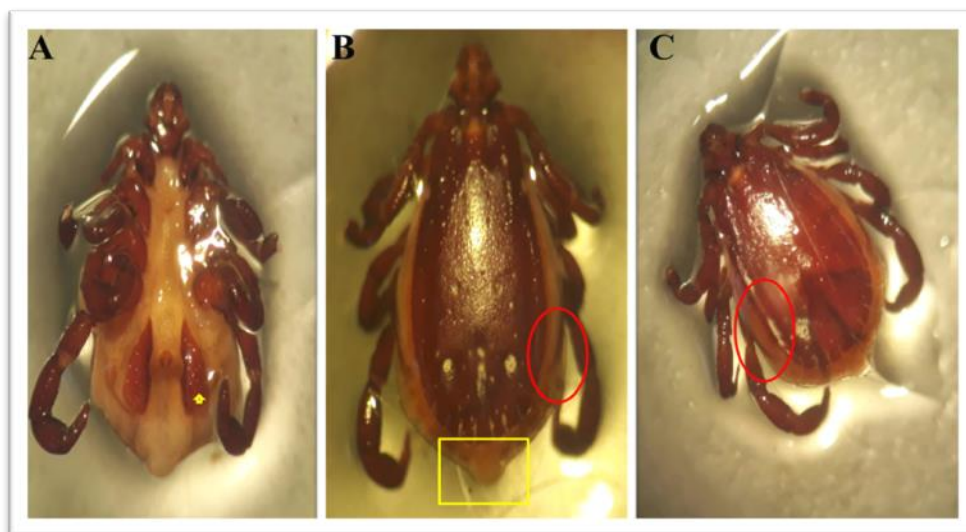
##### 1.1.1. Espèces identifiées

Au cours de la période allant du début février 2022 jusqu'au fin juillet 2022 un total de 266 tiques a été collecté, dont 127 mâles et 139 femelles. Les tiques ont été prélevées sur 61 bovins de la région de Chréa à raison d'une sortie par mois (à l'exception du Mois d'Avril).

Sur les 266 tiques collectées, cinq (5) espèces appartenant aux deux (2) genres : *Rhipicephalus* sp et *Hyalomma* sp, ont été identifiées à savoir :

- *Hyalomma marginatum marginatum*
- *Hyalomma anatolicum excavatum*
- *Rhipicephalus sanguineus*
- *Rhipicephalus turanicus*
- *Rhipicephalus bursa*

✓ *Rhipicephalus turanicus* (Pomerantsev, Matikasvili, Lototzki, 1940)

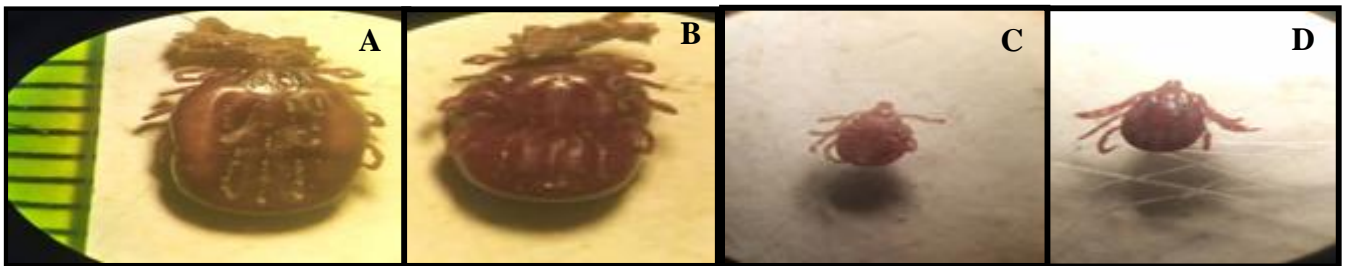


**Figure 29 :** *Rhipicephalus turanicus* mâle. (A) : face ventrale, absence d'orifice génital (plaque ventrale à ça place). (B) : face dorsale totalement recouverte de la chitine, festons allongés. (C) : coxa de la patte non fondue (G x40) (Originale, 2022).



Figure 30 : *Rhipicephalus turanicus* femelle adulte (Vue dorsale), GX40 (Originale, 2022).

✓ *Rhipicephalus bursa* (Canestrini et Fanzago, 1878)



Figur 31 : *Rhipicephalus bursa* (GX 40). (A) : femelle adulte face dorsale ; (B) : femelle adulte face ventrale ; (C) : mâle adulte face ventrale ; (D) : mâle adulte face dorsale (Originale, 2022).

✓ *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)

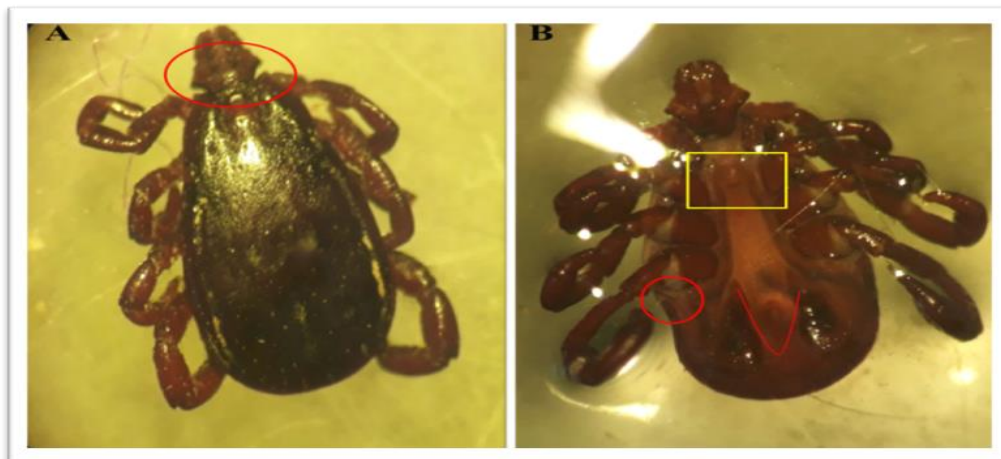
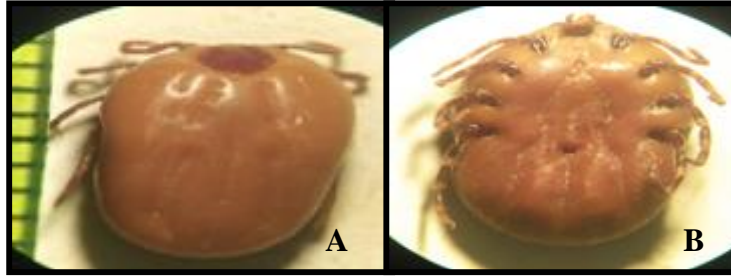
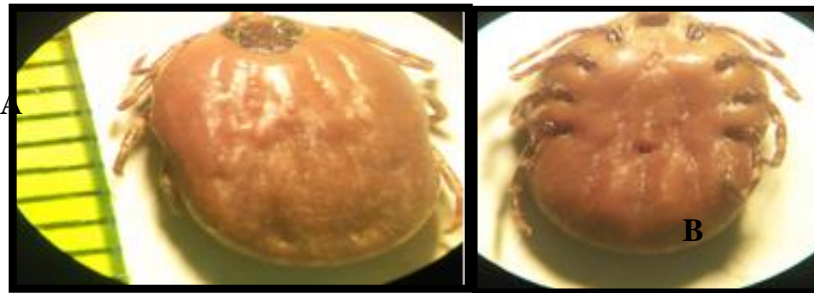


Figure 32 : *Rhipicephalus sanguineus* mâle. (A) : face dorsale totalement recouverte de la chitine, présence de festons, base capitulum hexagonale. (B) : absence d'orifice génital, sillon anal en arrière de l'orifice anal, coxa de la patte fondue (G x40) (Originale, 2022).



**Figure 33** : *Rhipicephalus sanguineus* femelle adulte. (A) : Face Dorsale ; (B) : Face ventrale. Gx40 (Originale, 2022).

✓ *Hyalomma marginatum marginatum* (Koch, 1844)



**Figure 34** : *Hyalomma marginatum marginatum* femelle adulte. (A) : Face Dorsale ; (B) : Face ventrale. Gx40 (Originale, 2022).

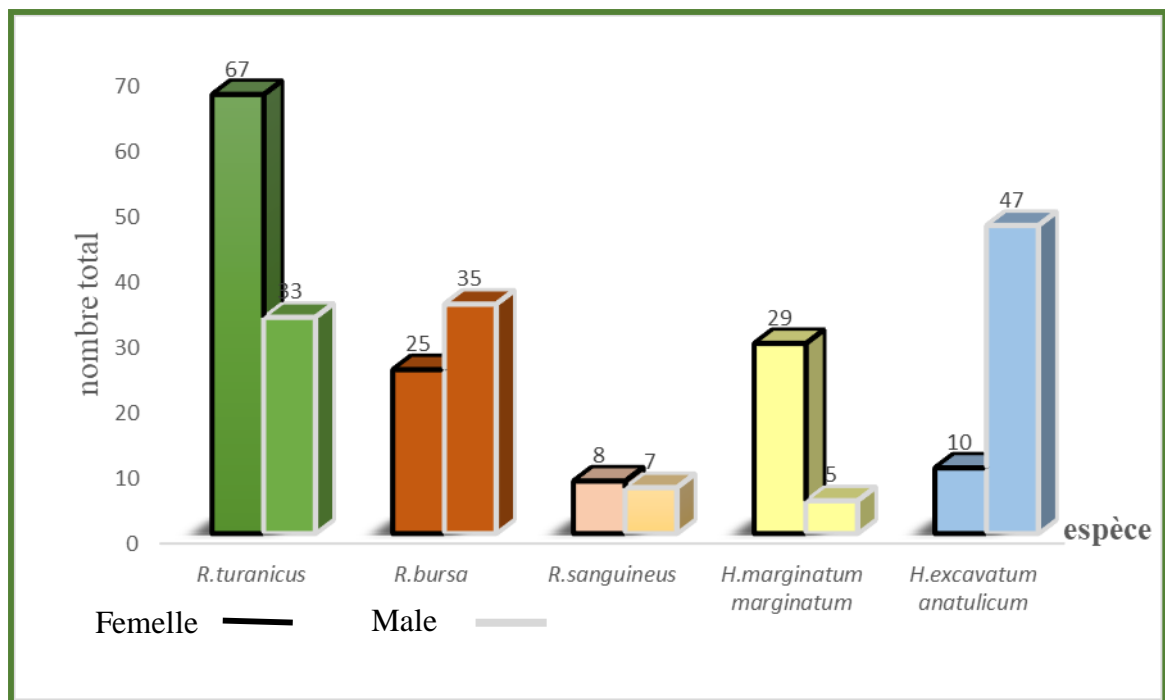
La répartition et la fréquence d'apparition des différentes espèces recensées en fonction des mois sont représentées dans le Tableau VI :

## Chapitre 3 : Résultats et Discussion

**Tableau VI :** Liste des espèces collectées chez les bovins dans la région de Chéra.

Espèce	Sexe	Nombre d'individus	Total	Abondance relative (AR)
<i>Rh. turanicus</i>	Femelle	67	100	37,57%
	Male	33		
<i>Rh. bursa</i>	Femelle	25	60	22,55%
	Male	35		
<i>Rh. sanguineus</i>	Femelle	8	15	5,64%
	Male	7		
<i>H. marginatum marginatum</i>	Femelle	29	34	12,78%
	Male	5		
<i>H. anatolicum excavatum</i>	Femelle	10	57	21,43%
	Male	47		

Une lecture du Tableau VI montre une dominance de l'espèce *Rh. turanicus* avec un total de 100 tiques, soit une (AR) de 37,59%, suivie de *Rh. bursa* avec un total 60 soit 22.55% et *H. anatolicum excavatum* (21.43%). Les abondances relatives les plus faibles ont été remarquées respectivement chez *H. marginatum marginatum* et *Rh. Sanguineus* avec avec un pourcentage de 12,78% et 5,64%.



**Figure 35 :** Le nombre de tiques collectées en fonction des espèces.



### 1.2 Le Sex-ratio des espèces récoltées dans la région de Chréa durant l'année 2022

La détermination de sexe a pu montrer une dominance des femelles avec 139 individus par rapport aux mâles avec 127 tiques (tableau VII).

Cette abondance n'a pas été respectée chez les deux espèces *Rh. bursa* et *H. excavatum anatolicum* où le nombre des mâles était nettement supérieur à celui de femelles (Figure 44).

**Tableau VII :** Résultats de sex-ratio des différents échantillons récoltés durant 07 mois d'étude 2022 dans la région de Chréa.

Male	Femelle
127	139

D'après le calcul de sex-ratio de nos échantillons qui est de valeur 0.91 nous avons noté que pour 100 éclosions de femelles, nous avons eu 91 éclosions de mâles.

### 1.3 La richesse totale (S)

Les valeurs des richesses totales (S) des espèces de tiques échantillonnées durant 07 mois :

$$S = 05 \text{ espèces.}$$

La richesse totale des espèces de tiques collectées dans la région de Chréa durant le mois de février jusqu'à juillet. Elle est de 05 espèces.

### 1.4 La prévalence d'infestation des bovins par les tiques

L'effectif total des bovins (Race locale) examinés pendant la période d'étude a été de 61 têtes. L'effectif des bovins locaux infestés a été de 50 têtes d'où une prévalence d'infestation de 81,96 %. Donc plus de 80 % des bovins examinés sont infestés.

### 1.5 Identifications des agents pathogènes portés par les tiques par la méthode de PCR en temps réel

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



### Chapitre 3 : Résultats et Discussion

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

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

- **Résultats de détection de *Babesia sp* et *Anaplasma sp***

Les analyses menées sur nos échantillons sont avérées toutes négatives pour *Babesia sp* (figure 36).

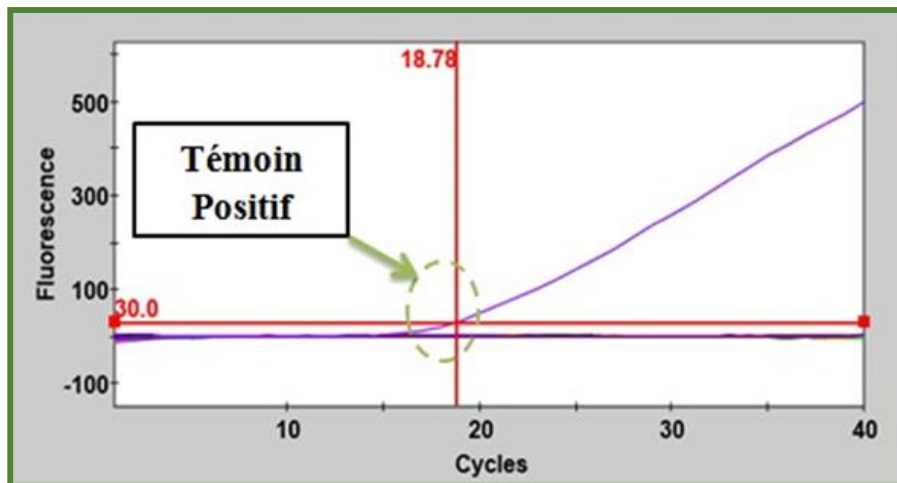


Figure 36 : Tracé de *Babesia sp* par PCR en temps réel

Les analyses menées sur nos échantillons sont avérées toutes négatives, et aucun positif à *Anaplasma sp*, sur tous les échantillons testés n'a été pas détecté (Figure 37).

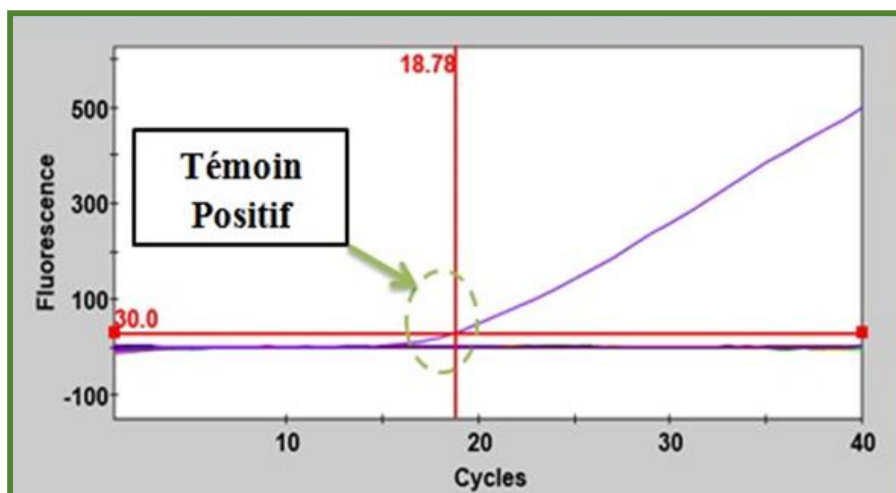


Figure 37 : Tracé d'*Anaplasma sp* par PCR en temps réel.

### 2. Discussion

L'étude des espèces de tiques collectées dans la région de Chréa en 2022, nous a permis de mettre la lumière sur les principales tiques inféodées à la région et de connaître quelques indices écologiques représentés par la richesse totale et moyenne ; l'abondance relative ; La prévalence d'infestation ainsi que le sex-ratio des populations. Les résultats de la PCR en temps réel.

#### ❖ Discussion de l'identification des tiques dans la région de Chréa en 2022

La collecte effectuée dans la région d'étude a révélé l'existence de cinq espèces de tiques réparties en famille des Ixodidae (*Hyalomma marginatum marginatum* ; *Hyalomma anatolicum excavatum* ; *Rhipicephalus sanguineus* ; *Rhipicephalus turanicus* ; *Rhipicephalus bursa*).

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

#### ❖ Discussion sur Les Abondances relatives de différentes espèces des tiques collectées à Chréa

Les Abondances relatives des différentes espèces des tiques collectées dans la région de Chréa varient entre 5,64% et 37,57%. Ce sont les *Rhipicephalus turanicus* qui dominent en abondance relative, avec un pourcentage de 37,57%, elles sont suivies par les *Rhipicephalus bursa*, avec 22,55%, *Hyalomma anatolicum excavatum* avec 21,43%, *Hyalomma marginatum marginatum* avec 12,78%, puis l'espèce de *Rhipicephalus sanguineus* avec un pourcentage de 5,64%. Nos résultats concordent avec une étude réalisée par **Abdul Hussain et al., (2004)** qui ont réalisées un inventaire des différentes espèces des tiques Ixodidae dans la plaine de la Mitidja montrant des abondances variantes entre 0.82% et 96.13%, *Rhipicephalus sp.* Étaient les espèces dominantes en abondance relative avec un pourcentage de 96.13%, suivies par l'espèce *Hyalomma sp.* Avec un pourcentage de 1.55%. L'abondance la plus faible enregistré

est chez l'espèce *Ixodes sp.* Avec un pourcentage de 0.82%. Par ailleurs **Benchikh-Elfegoun et al., (2007)**, dans une recherche sur l'identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de Taher (Jijel), ont trouvé des abondances relatives varient entre 80% et 2.5%, *Boophilus annulatus* était l'espèce la plus abondant avec un pourcentage de 80%, suivis par l'espèce *Rhipicephalus bursa* avec un pourcentage de 10% et *Hyalomma lusitanicum* avec un pourcentage de 5%, enfin l'espèce *Rhipicephalus turanicus* et *Hyalomma detritum detritum* avec un pourcentage de 2.5% chacun.

### ❖ Discussion sur la Richesse totale des espèces de tiques collectées à la région de Chréa en 2022

**Hautier et al., (2003)** définissent la richesse comme le nombre d'unités systématiques présentes dans un écosystème donné. L'évaluation de cette dernière montre qu'elle est différente. La richesse totale des espèces des tiques collectées s'élève à 5 espèces. Une valeur proche signalée par **Abdul Hussain et al., (2004)** dans la plaine de Mitidja dans ses études sur les bovins, les chiens, les tortues et sur végétation avec une richesse totale de 4 espèces.

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

# Conclusion

**A** L'issue de ce travail consacré essentiellement à l'étude de la diversité parasitaire des Ixodidés et le suivi de l'infestation des bovins (race locale) par ces derniers dans le Parc National, Il ressort que :

- La présence de 5 espèces de tiques dures dans la région de chréa, réparties en deux genres de la famille ixodidae. Le genre *Rhipicephalus* est le mieux représenté en espèces, il totalise 3 espèces. Alors que le genre *Hyalomma* est représenté que par deux espèces.
- L'espèce la plus abondante dans la région de chréa est *Rhipicephalus turanicus* avec une abondance de (37,57%).
- La région de chréa héberge des vecteurs de babésiose et de anaplasmoses (*Rhipicephalus* et *Hyalomma*).
- Plus de 80% des bovins examinés étaient infestés par les tiques, avec une prévalence d'infestation de 81,96 %.
- La recherche préliminaire des ectoparasites par examen direct des frottis sanguins des bovins à révéler l'absence des parasites chez les bovins.
- L'examen direct des frottis sanguins et les analyses moléculaires par la PCR en temps réel sont avérés tous négatifs à *Anaplasma* sp et *Babesia* sp.
- Il serait intéressant de poursuivre l'étude prospective sur d'autres zones pouvant être infestées par ces tiques.
- Enfin, en termes de prophylaxie il est recommandé de réaliser des campagnes régulières de désinfection de tout endroit pouvant héberger les hôtes porteurs de vecteurs afin d'éviter d'éventuelles épidémies de maladies vectorielles dues aux piqûres des tiques.

# Références

**A**bdul Hussain et Cozma., 2004. Inventaire des différentes espèces des tiques Ixodidae dans la plaine de la Mitidja – Algérie pour la période avril-septembre 2003-2004. *Scientia Parasitologica*, 1-2, pp: 104-110.

**Aeschlimann A., Brossard M., Quenet G. (1975).** Contribution à la connaissance des piroplasmés. *Acta Tropica*, v : 32 (4). : 282-289.

**Aubry - Roces M. C., Beauvalley Y., Coequelin A., Farret D., Fournaud C., Huang M., Laurence V., Poulain P., et Racape J, 2001.** Lutte contre les ectoparasites et agents nuisibles au milieu hospitalier Guide de bonne pratique. Centre de coordination de la lutte contre les infections Nosocomiales de l'Interrégion. Paris Nord. (C. CLIN Paris Nord), pp : 278-279.

**Aubry P. et Geale D.W., 2011a.** A Review of Bovine Anaplasmosis. In : *Transboundary and Emerging Diseases*. 1 février 2011. Vol. 58, n° 1, pp : 1-30.

**B**abes V. (1888). Sur l'hémoglobinurie bactérienne du bœuf. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*. 107, pp : 692–694.

**Balashov V.V., Kabachnick N.M., Sazhina I.P. and Strakhova S.L, 1976** .In *Autoionization Phenomena in Atoms* , Moscow University Publishing House , Moscow.92 p.

**Barker SC. et Murrell A., 2004.** Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology* 2004 ;129 Suppl : S15-S36.

**Barré N et Uilenberg G., 2010.** Ticks biology. In *Infections and parasitic disease of livestock*, Lefevre P.C, Blancou J, Chermette R, Uilenberg G, ed. *Lavoisier, Paris*, 1 , pp :93-128.

**Baumgartner W., Schlerka G., Fumicz M., Stoger J., Awad-Masalmeh M., Schuller W., Weber P., 1992.** Seroprevalence survey for *Anaplasma marginale*-infection of Austrian cattle. *Zentralbl Veterinarmed B* 1992, 39(2), pp : 97-104.

**Benchikh-Elfegoun M., Benakhla A., Bentounsi B., Bouattour A., Piarroux R., 2007.** Identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de taher (Jijel) Algérie, *Ann. Méd. Vét.*, 151, pp :209-214.

**Blondel J. (1979).** *Biogéographie et écologie*. Ed. Masson, Paris, 173p.

**Bonnet S.I., et Nadal C. (2021).** Experimental Infection of Ticks: An Essential Tool for the Analysis of *Babesia* Species Biology and Transmission. *Pathogens*. 11 : 1403.

**Bouattour M., Darghouth A., Daoud A., 1999.** Distribution and ecology of ticks (Acari:Ixodidae) infesting livestock in Tunisia: an overview of eight years field collection. *Parassitologia*, 41 (Suppl. 1), pp : 5-10.

**Boulanger N. et McCoy, K. D. 2017.** Chapitre 25. Les tiques (Acari : Ixodida). *Entomologie médicale et vétérinaire*. Marseille : IRD. Pp : 553-596.

**Boukabout A., 2003.** Parasitisme des tiques (Ixodidae) des bovins à Tiaret, Algérie. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* 56 : (3-4), pp : 157-162.

**Boukabout A., 2003.** *Etude des tiques (Ixodidea) hôtes des bovins dans la région de Tiaret (Algérie) : Identification et activité parasitaire.* Thèse pour l'obtention de Diplôme de Magister en Biologie, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, 46p.

**Boulouis H.J, 2007-2008.** Bactériologie Systématique, Première année S6, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité de pathologie générale, microbiologie, immunologie, 158 p.

**Boyard C., 2007.** *Facteurs environnementaux de variation de l'abondance des tiques Ixodes ricinus dans des zones d'étude modèles en Auvergne.* Thèse de l'Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé, Université d'Auvergne, France, 232 p.

**Brenner D., Krieg N., Staley J-T., Garrity G., Bergey D., 2005.** Bergey's manual of Systemic Bacteriology, Volume 2 part. C, The alpha-, beta-, delta-, and epsilonproteobacteria, Springer.

**Bussieras J., Chermette R. (1992).** *Abrégé de parasitologie vétérinaire. Fascicule II : protozoologie.* Service de parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (Ed), Maisons-Alfort, 186 p.

**C** **aeiro V, 1999.** General review of tick species present in Portugal. *Parassitologia*, 41 Suppl 1, pp : 11-15.

**Camicas J.L., Hervy J., Adam F., Morel PC., 1998.** Les tiques du Monde (Acarida, Ixodidea) : nomenclature stades décrits, hôtes, répartition. Orstom Paris ,233 p.

**Camus E et Uilenberg G., 1996.** Anaplasmose bovine, Principales maladies et parasites du bétail, Europe et régions chaudes, 1996, 1099-1107.

**Camus E. et Uilenberg G., 2003.** Anaplasmose bovine. *In Principales maladies infectieuses et parasites du bétail. Europe et régions chaudes.* Tome 2, 1ère édition, Paris : Lavoisier, 1099-1107.

**Ceci L et Carelli G, 1999.** Tick-borne diseases of livestock in Italy: general review and results of recent studies carried out in the Apulia region. *Parassitologia*, 41 Suppl 1, p : 25-29.

**Chermette R., Guillot J., Polack B., Blaga R. 2010.** Acarologie-Entomologie : Les tiques et leurs rôles pathogènes, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité de Parasitologie et maladies parasites, 163p.

**Chartier C., Itard J., Morel C., Troncy P.M. (2000).** *Précis de parasitologie vétérinaire tropicale, TEC et DOC.* Lavoisier, Editions médicales internationales, 774 pp.



**Collot M.E. (2010).** *La babesiose bovine, une zoonose à risque pour l'homme*. Thèse de doctorat de l'université Henri Poincaré. Pharmacie, pp : 53-54.

**Crosby.F.L., Brayton. K.A., Magunda F, Munderloh.U.G., Kelley. K.L.,Barbet A.F., 2015.** Reduced Infectivity in Cattle for an Outer Membrane Protein Mutant of *Anaplasma marginale*. In : *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 81, n° 6, pp : 2206-2214

**Daniel M et Dusbabek F, 1994.** Micrometeorological and microhabitats factors affecting maintenance and dissemination of tick-borne diseases in the environment. In : Sonenshine DE, Mather TN eds. *Ecological dynamics of tick-borne zoonoses*. New York: Oxford University Press, pp. 91-138.

**Dellac , 1999.** Maladies transmises aux bovins par les tiques. *L'Action Vétérinaire*. 1478, pp : 19-24.

**De la Fuente, J., Estrada-Pena, A., Venzal, J.M. Sonenshine, D.E., 2008.** Overview : Ticks as Vectors of Pathogens That Causes Diseases in Humans and Animals. *Frontiers in Bioscience*, 13, pp : 6938-6946.

**Devos J., Geysen D. (2005a).** La babesiose bovine à *Babesia divergens*. *Bull. Group tech. vét.* (31): 55-59.

**Dajoz R. (1971).** *Précis d'écologie*. Ed. Dunod, Paris, 343 p.

**Dumler J.S., Barbet A.F., Bekker C.P, Dasch G.A., Palmer G.H., Ray S.C., Rikihisa Y., Rurangirwa F.R., 2001.** Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 51(6), pp : 2145-65.

**Estrada-Peña A., Bouattour A., Camicas J-L., Walker AR, 2004.** Ticks of domestic animals in the Mediterranean region. A guide to identification of species University of Zaragoza, Spain.

**Euzeby J., Bourdoiseau G., Chauve C.M. (2005).** *Dictionnaire de parasitologie médicale et vétérinaire*. Editions TEC et DOC, Paris, Editions Médicales internationales, Cachan et Lavoisier, Paris. 504 p.

**FAO, 2016.** Estimation de la valeur économique et sociale des services rendus par les écosystèmes forestiers méditerranéens Parc National de Chréa – Algérie, 52p :

**Figueroa J. et Camus E. (2003).** Babésioses, In: *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail*. Europe et régions chaudes. 2 Maladies bactériennes, Mycoses, Maladies parasitaires. Ed TEC&DOC,1, pp :1569-1583.

**Fontaine M. (1992).** Anaplasmose, In : *Formulaire vétérinaire de pharmacologie, de Thérapeutique et d'Hygiène*, OPU 15ed, pp : 1228.

**François J.B. (2008).** *Les tiques chez les bovins en France*. Thèse de doctorat de l'université Henri Poincaré. Pharmacie, 128 p.

**Frontier S. (1983).** L'échantillonnage de la diversité spécifique. In *Stratégies d'échantillonnage en écologie*. Ed. Paris (Coll. D'Ecologie), XVII : 494 p.

**G**anzinelli S., Schnittger L., Florin-Christensen M., Rodriguez A. (2018). Babesia in Domestic Ruminants. In *Parasitic Protozoa of Farm Animals and Pets*. Springer International Publishing AG, part of Springer Nature M. Florin-Christensen, L. Schnittger, pp: 215-239.

**Genouvrier J.B. (2013).** *Etude épidémiologique des maladies transmises aux bovins par les tiques : Prédiction de la Répartition des tiques dans les pâtures de 4 élevages des monts du lyonnais*. Thèse de doctorat de l'université CLAUDE-BERNARD - Lyon I : Médecine – Pharmacie, 138 p

**Gharbi M. et Uilenberg G. (2004).** Les Rickettsioses des Ruminants domestiques transmises par les tiques : Eléments taxonomiques et diagnostiques de laboratoire. *Archs. Inst. Pasteur Tunis*, 2004. 81: (1-4). pp: 5-11.

**Gourreau J.M., F. Bendali, 2009.** Institut de l'élevage. Maladies des bovins. 4ème éd., Ed France Agricole, .797p. 106 ; 152-153.

**Gray J.S., De Vos A.J. (1981).** Studies on a bovine Babesia transmitted by *Hyalomma marginatum rufipes* Koch 1841. *Onderstepoort J. Vet.* 48: (4). pp: 215–223.

**Grech-Angelini S, 2020.** *Tiques et agents pathogènes transmis en Corse, milieu insulaire méditerranéen*. Thèse de doctorat de Sciences de la Vie et de la Santé de l'Université Paris-EST, 256 p.

**Guiguen et Degeilh, 2001.** Les tiques d'intérêt médical: rôle vecteur et diagnose de laboratoire. *Revue Française des Laboratoires*, 338, pp: 49 –57.

**H**autier L., Patiny S., Thomas-Odjo A., Gaspar C., 2003. Evaluation de la biodiversité de l'entomofaune circulante au sein d'associations culturelles au Nord Bénin, *Notes fauniques de Gembloux*, (52), pp: 39-51.

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

**Hofmann-Lehmann R., Meli ML., Dreher UM., Gonczi E., Deplazes P., Braun U., Engels M., Schupbach J., Jorger K., Thoma R., 2004.** Concurrent infections with vector-borne pathogens associated with fatal hemolytic anemia in a cattle herd in Switzerland. *J Clin Microbiol*, 42(8), pp: 3775-3780.

**Hornok S., Elek V., de la Fuente J., Naranjo V., Farkas R., Majoros G., Foldvari G., 2007.** First serological and molecular evidence on the endemicity of *Anaplasma ovis* and *A. marginale* in Hungary. *Vet Microbiol*, 122(3-4), pp :316-322.

**Hubbard M.J., Cann K.J., Wright D.J. (1995).** Validation and rapid extraction of nucleic acids from alcohol-preserved ticks. *Exp. Appl. Acarol.* 19(8), pp :473-478.

**Hunter, 1994.** La santé animale. Ed. Quae. Versailles, France. Vol. 2, 310 p.

**Inokuma H., Terada Y., Kamio T., Raoult D., Brouqui P., 2001.** Analysis of the 16S rRNA gene of *Anaplasma centrale* and its phylogenetic relatedness to other Ehrlichiae, *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8 (2), p :241-244.

**KERNIF T, 2009.** Contribution à l'étude des vecteurs des agents de rickettsioses et de la piroplasmose dans la région d'Alger. Mémoire de magistère. Ecole Nationale vétérinaire.

**Kocan K., De la fuente J., Gugliemone A., Melendez R., 2003.** Antigens and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle, *Clinical Microbiology Reviews*. 16: (4), pp: 698–712.

**Kocan K.M., de la Fuente J., Blouin E.F., Garcia-Garcia J.C., 2004.** *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host-pathogen adaptations of a tick-borne rickettsia. *Parasitology* ,129 Suppl: S285-300.

**Kocan K., De la Fuente J., Blouin E., Coetzee J., Ewing S-A., 2010,** - The natural history of *Anaplasma marginale*, *Veterinary Parasitology*.167, (2-4) , pp : 95–107.

**La Fuente J., Vicente J., Hofle U., Ruiz-Fons F., Fernandez De Mera IG., Van Den Bussche RA., Kocan KM., Gortazar C., 2004.** *Anaplasma* infection in free-ranging Iberian red deer in the region of Castilla-La Mancha, Spain. *Vet Microbiol* 2004, 100(3-4):163-173.

**Laha R., Das M, Sen A, 2015,** - Morphology, epidemiology, and phylogeny of *Babesia*: An overview. *Trop Parasitol.* 5, pp : 94-100.

**Lee, P.Y., Costumbrado, J., Hsu, C.Y., Kim, Y.H., 2012.** Agarose Gel Electrophoresis for the Separation of DNA Fragments. *J. Vis. Exp.* (62), e3923, 5 p.

**Lefèvre P-C., Blancou J., Chermette R., 2003.** Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail-Europe des régions chaudes. *Ed. TEC & Doc et médicale internationales*.2, pp : 1824.

**Marchal C, 2011.** *Campagne d'éradication de la babésiose bovine en Nouvelle-Calédonie (2008-2010)*. Thèse de doctorat de l'école Nationale Vétérinaire d'Alfort : vétérinaire, 119 p.

**M**aslin J., Beugnet F., Davoust B., Klotz,F., 2004. Babésioses.*EMC.Maladies Infectieuses*, 1, (4,) November, pp :281-292.

**Mauel MJ., Carlton SJ., Mather TN. 1999.** Polymerase chain reaction detection efficiency of the human granulocytic ehrlichiosis agent (Rickettsiaceae: Ehrlichiae) in ticks (Acari: Ixodidae) is dependent on the DNA extraction method. *J Med Entomol.* 36(6):649-652.

**McCoy K. D. et Boulanger N. 2015.** *Tiques et maladies à tiques : biologie, écologie évolutive, épidémiologie*. Marseille : IRD. 344p

**Moulinier C. 2003.** -Parasitologie et mycologie médicale, éléments de morphologie et de biologie. *Editions médicales internationales, Europe Media Duplication*, Lassay-les-Châteaux, 796 p.

**O**IE, 2008. Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres. Volume 2. 6ème éd., Paris., pp :564-573.

**OIE, 2008a.** Anaplasmose bovine Manuel terrestre. 655-666.

**Olivier J. L., 1986.** *Relationship among feeding, gametogenesis, mating, and syngamy in ticks*. In Borosvsky D., Spielman A. (eds): Host regulated developmental mechanisms in vector arthropods, Vero Beach, University of Florida Press IFAS, pp: 93-99.

**P**ailley J.,2007. Les bactéries hémotropes des ruminants transmis par les arthropodes hématophages en France, Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort.

**Parola P et Raoult D., 2001.** Tick-borne bacterial diseases emerging in Europe. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.*;7(2), pp :80-83.

**Parola P. et Raoult D., 2001** Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 32(6), pp :897-928.

**Pérez-Eid C. et Gilot B., 1988.** Les tiques : cycles, habitats, hôtes, rôle pathogène, lutte, *Médecine et Maladie Infectieuse*, 28, pp : 335-343.

**Pérez-Eid C., 2007.** Les Tiques : Identification, Biologie, Importance Médicale et Vétérinaire. Paris: Lavoisier. 339p.

**Piesman J et Eisen L., 2008.** Prevention of tick-borne diseases. *Annu. Rev. Entomol.* 2 ; 53, pp : 323–343.

**Poitras E. et Houde A., 2002.** La PCR en temps réel principe et applications. *Reviews in biology and biotechnology by the Moroccan Society of Biology in Canada.* 2(2): 2-11.

**Rakover P., 2018.** *La piroplasmose : parasites, vecteurs et traitements.* Thèse d'exercice de doctorat de l'université Clermont Auvergne : Pharmacie, 129 p.

**Ramade F., 1984.** - Eléments d'écologie-Ecologie fondamentale. *Ed, mc Graw-Hill, Paris,* 379 p.

**Rikihisa, Y., Zhang, C., Christensen, BM, 2003.** Caractérisation moléculaire d'*Aegyptianella pullorum* (Rickettsiales, Anaplasmatocées). *J. Clin. microbiol.* 41, pp :5294-5297.

**Ristic M. et Kreier JP., 1974.** Family Anaplasmatocaceae. In: Buchanan RE, Gibbons NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* 8ed. Baltimore. Williams & Wilkins, pp : 906-914.

**Roshdy M. A., Banaja A. A., Wassef H. Y., 1982.** The subgenus *Persicargas* (Ixodoidea: Argasidae: Argas). 34. Larval respiratory system structure and spiracle formation in pharate nymphal *Argas (P.) arboreus*. *Journal of Medical Entomology,* 19, pp: 665-670.

**Rossi Paul, Demennois Ph., 1952.** Anaplasmosse bovine, In: *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France tome,* 105 (8), pp : 343-347.

**Sahibi H., Rhalem A-B., Berrag B., GoffW-L., 1998.** Seroprevalence of bovine anaplasmosis in Morocco. *Ann. NY. Acad. Sci.,* 849, pp : 427–429.

**Sacca L, 1984.** Les tiques ( *Amblyomidae* ) Parasite des bovins en république populaire du Bénin *ed Agence de coopération culturelle et technique,* pp : 15-26.

**Sauget B., 2005.** Maladies bactériennes transmises par les tiques en Europe et leurs particularités, Thèse de Doctorat Vétérinaire, Nantes, ( 2), 147 p.

**Sergent E., Donatien A, Parrot L, Lestoquard F., 1945.** Etudes sur les piroplasmoses bovines. Institut Pasteur d'Algérie, Alger, 816 p.

**Socolovschic c., Doudier B., Pages F., Parola p., 2008.** Tiques et maladies transmises à l'homme en Afrique, *Médecine Tropicale.* 68 : 119-133.

**Sonenshine D. E., 1970.** A contribution to the internal anatomy and histology of the bat tick *Ornithodoros kelleyi* Cooley and Kohls, 1941. II. The reproductive, muscular, respiratory, excretory, and nervous systems. *Journal of Medical Entomology*, 7, pp : 289-312.

**Sonenshine, D.E., Roe R.M. (Eds.). 2014a.** 2nd Revised edition. *Biology of Ticks*, I. New York : Oxford University Press. 557p.

**Suarez C.E et Noh S., 2011.-** Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. *Vet. Parasitol.*, Special Issue: Towards good management practises in parasite control 180, p :109-125.

**Sparagano OA, Allsopp MT, Mank RA, Rijpkema SG, Figueroa JV, Jongejan F. 1999-** Molecular detection of pathogen DNA in ticks (Acari: Ixodidae): a review. *Exp Appl Acarol.* 23(12), pp : 929-960.

**T**issot Dupont et Raoult, 1993 - Maladies transmises par les tiques . *Rev Med Interne* ,14, pp : 300-306.

**Toudert, Y., Khelflaoui, A., Ziam, H. 2003.** Evolution et impact économique de la théileriose tropicale à *Theileria annulata* dans une étable d'élevage laitier moderne. XVII Congrès National Vétérinaire. Alger le 8-9 octobre 2003.

**Tse C. et Capeau J., 2003.** Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative en temps réel. *Ann Biol Clin*, 61, pp : 279-93.

**U**ilenberg G., 2006. Babesia-A historical overview, *Veterinary Parasitology*. 138, (1-2), pp: 3-10.

**V**ial HJ et Gorenflot A., 2006.- Chemotherapy against babesiosis. *Vet. Parasitol.*, Babesiosis 138, pp : 147-160.

**W**alker A.R., Bouattour A., Camicas J.L., Estrada-Pena A., Latif A.A., Pregram R.G., Preston P.M., 2003. Ticks of domestic animal in Africa : a guide to identification of species. *Biosciences reports*, Edinburgh 105qr, Scotland, u.k, 221p.

**Z**intl A., Mulcah G., Skerrett H-E., Taylor S.M., Gray J.S., 2003. Babesia divergens, a Bovine Blood Parasite of Veterinary and Zoonotic Importance. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, p : 622-636.

## **Références Sites web :**

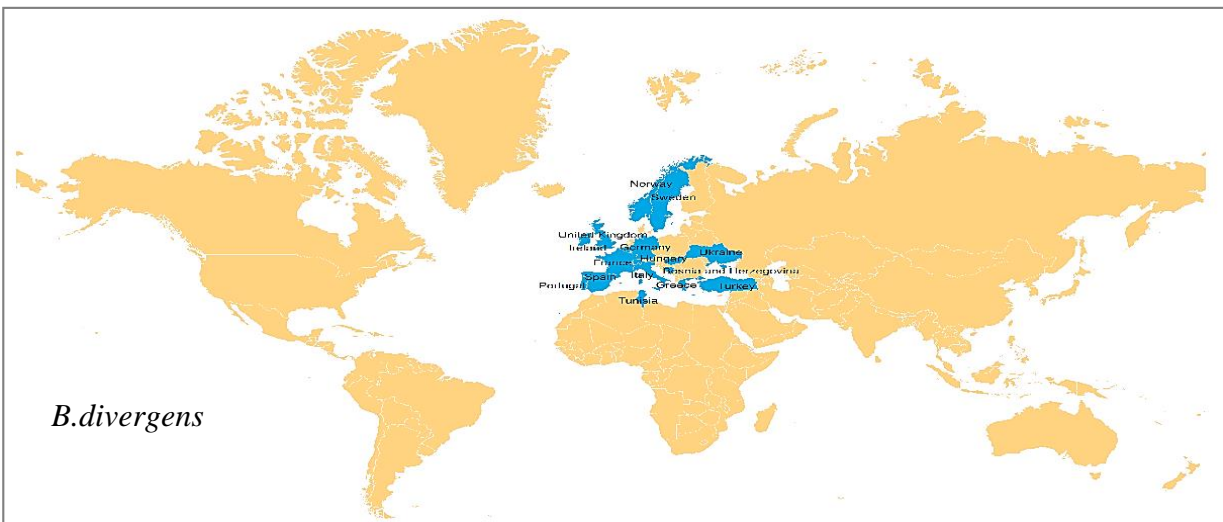
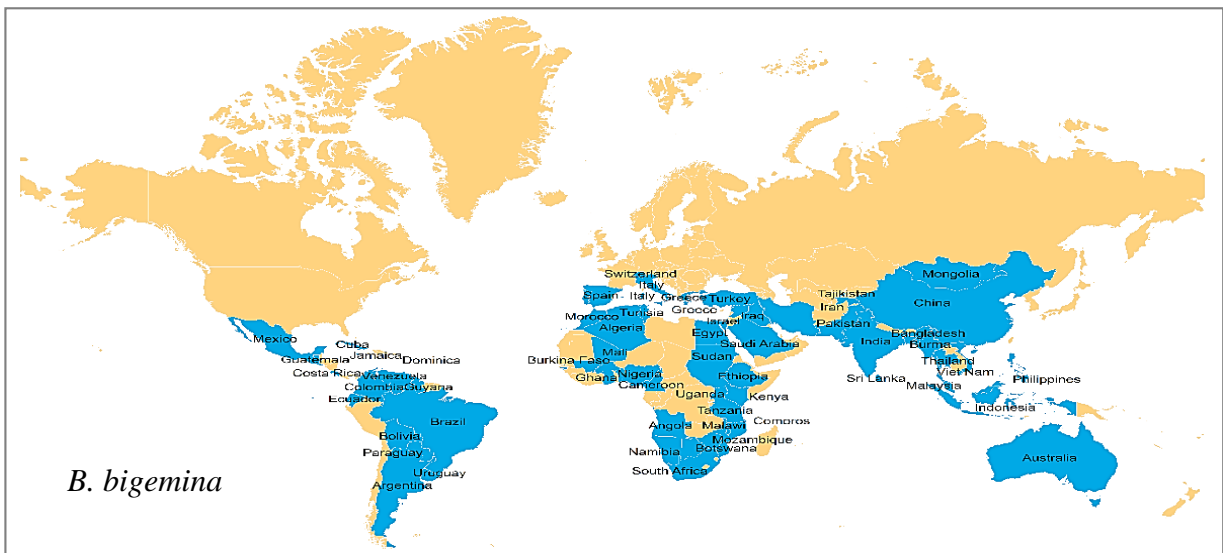
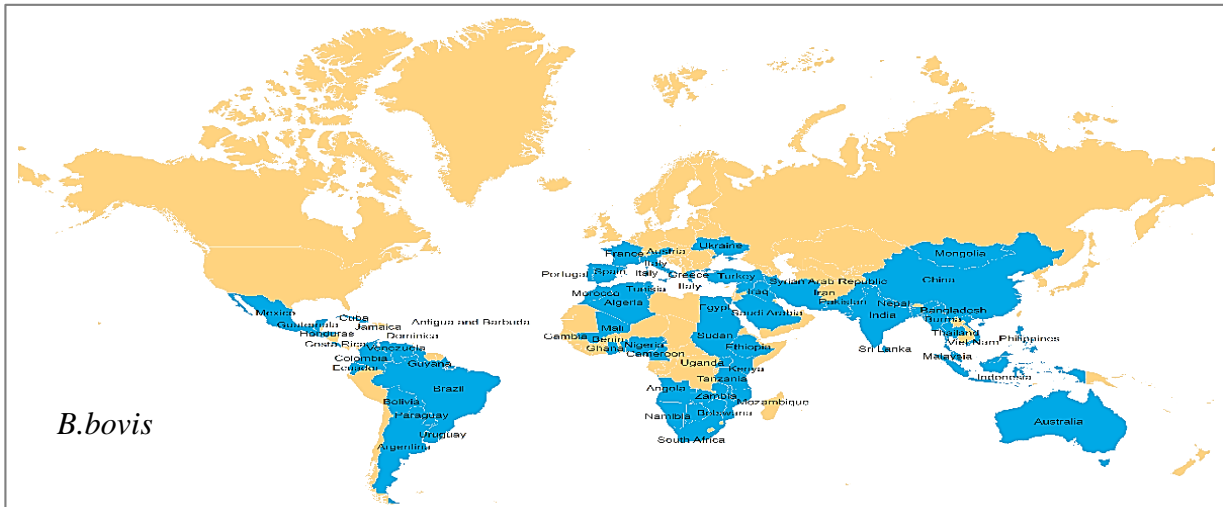
**Caribvet., 2011.** CARIBBEAN ANIMAL HEALTH NETWORK. Disponible sur :  
<http://www-old.caribvet.net/fr/diseases/anaplasmosis/distribution-%C3%A9ogographique>,  
(15/08/2022).

**National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture  
and Veterinary Medicine.** Disponible sur :  
<https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/oie-rl-bb-bb>, (25/08/200).

# **Annexes**

## Annexes

**Annexe I :** Cartographie épidémiologique de la babésiose bovine. Les pays dans lesquels *B.bovis*, *B. bigemina*, *B.divergens* ont été détectés, sont surlignés en bleu. Disponible sur : <https://www.obihiro.ac.jp/facility/protozoa/en/oie-rl-bb-bb>





## Annexes

### Annexe II : Matériels non biologique utilisés

- Appareillages :



Hotte à flux laminaire



Vortex



Bain à sec



Hotte



Minicentrifugeuse



Loupe binoculaire



Microscope Photonique

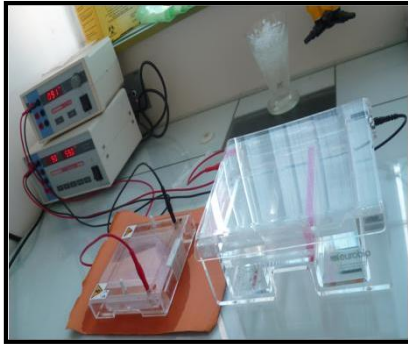


Micro-onde



Générateur

## Annexes



Cuve à Electrophorèse



Balance



Micropipettes



Tubes Smart Cycler



Colonne à filtre



Embouts bleu



Emboutsjaune

## Annexes



Lame en verre

- Réactifs :



Kit Extraction d'ADN



Kit pour PCR



Sonde fluorescente