

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE - EL HARRACH
المدرسة الوطنية للبيطرة

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Magistère en
Sciences Vétérinaires.
Option : Zoonoses Parasitaires.

ETUDE DE LA LEISHMANIOSE CANINE DANS LA WILAYA D'ALGER

Réalisé par : Dr. DJERBOUH AMEL

Président :	HAMRIOUI B.	Professeur	C.H.U. Mustapha
Promotrice :	AISSI M.	Maître de conférences	E.N.V. - Alger
Co-promoteur :	HARRAT Z.	Maître de recherche	I.P. d'Algérie
Examineurs :	BENAKHLA A.	Professeur	C.U. - El Tarf
	ADJMI H.	Professeur	H.C.A Ain-Nâadja
	ADEL A.	Chargée de Cours	E. N. V. - Alger

Remerciements

*Un grand merci, au Professeur **GUEZLANE L.**, Directeur de l'E.N.V.- Alger, d'avoir initié ce Magistère.*

*Au Docteur **AISSI M.**, pour avoir accepté de me diriger avec beaucoup de patience et une grande gentillesse. Qu'elle trouve ici l'expression de ma reconnaissance.*

*Au Docteur **HARRAT Z.**, qui nous a initié au diagnostic de la leishmaniose et avoir fait preuve de patience. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance.*

*Au Professeur **HAMRIOUI B.**, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury et juger mon travail, qu'il trouve ici, l'expression de mon profond respect.*

*Au Professeur **BENAKHELA A.**, qui nous a fait l'honneur d'accepter de juger notre travail. Hommages et respects.*

*Au Docteur **ADJMI H.**, qui nous a fait l'honneur de juger notre travail, Hommages et respects.*

*Au Docteur **ADEL A.**, qui nous a fait l'honneur de juger notre travail, qu'elle trouve ici l'expression de ma haute considération*

*Au Docteur **HARHOURA K.**, pour tous ces conseils judicieux, sa patience et ses recommandations précieuses, qu'il reçoit tout mon respect et ma gratitude.*

*A toute l'équipe de Centre Nationale de Référence de Leishmania, en particulier à **MEZAI Ghania**, pour son aide tout au long de ce travail, et pour son soutien morale.*

*Madame **BENIKHLEF**, pour sa gentillesse et sa patience.*

*Madame **EDAIKRA** pour ces conseils.*

*A Monsieur **BITAM**, remerciements et gratitude*

*Au Docteur **ZEBOUDJ**, pour son aide précieuse.*

*Nous remercions également Docteurs : **TOUJINE, AYAD, YAKOUBI, HAFIZ, ABDELAOUI, YAKOUBI, KERNIF**, pour leur disponibilité et leur participation effective dans notre travail.*

*Au Docteur **SAIDI**, et tout le personnel de la fourrière canine, qu'ils reçoivent nos vifs remerciements pour leur aide inestimable.*

A toute l'équipe du laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur d'Alger (Les Annassers)

*A toute l'équipe de la brigade cynotechnique de la protection civile, en particulier à messieurs **SILEM**, **SAMIR**, **FARID** et au Docteur **GHRARM**, qu'ils reçoivent nos très vifs remerciements*

*A Monsieur **MEHDAOUI**, A **Fatiha**, Madame **ABED Faîza** du service informatique de l'Ecole Nationale Vétérinaire - Alger*

*A Monsieur **SAADI A.** de laboratoire de parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire - Alger*

*Au Docteur **LASNAMI K.** et toute son équipe,
Qu'ils reçoivent nos remerciements et notre reconnaissance.*

*A **Samia**, **Nachida**, de la bibliothèque de l'ENV-Alger.*

*A Monsieur **Chérif**, de l'I.P.A., un grand merci.*

Enfin nous aimerions témoigner notre sincère reconnaissance à nos ami (es) et toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

*Que les personnes dont les noms n'ont pas été mentionnés,
veuillent trouver l'expression de notre reconnaissance.*

Dédicaces

A la mémoire de mon grand père

A la mémoire du Dr. Nedjari M. T.

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents pour tout l'amour et l'affection,
un merci ne suffit pas pour vos sacrifices, et votre patience*

*A mes très chères sœurs : Nour El Houda, Naziha,
Sabrina, Chahira, Hayat.*

A mes très chères frères : Mohamed, Hakim.

*A mes amis : Abdelkader, Walida, Nouredine,
Abdelkrim*

*A tous mes enseignants du primaire, du C.E.M., du
Lycée, et de l'Ecole Nationale Vétérinaire - Alger.*

*A toute ma promotion de Magistère « Zoonoses parasitaires »
de l'E.N.V. — Alger.*

ABREVIATIONS

B.A.: Berger allemand

D.I.A. : NADH diaphorèse

E.L. I. S.A : Enzyme Linked Immuno Essay

F.H. : Fumarate hydratase

g : Gramme

Gr : Grossissement

GPD : 6 phosphogluconate déshydrogénase

G6PD : glucose -6- phosphate déshydrogénase

GLUD : glutamate déshydrogénase

GOT1 : Glutamate oxalo- acitate transaminase

GOT2 : Glutamate oxalo- acitate transaminase

GPI : Glucose phosphate isomérase).

H.U.R.B.A.L. : Hygiène Urbaine d'Alger.

H.C. : hémoculture

h : heure

M.E. : Enzyme malique

MDH : Malate déshydrogénase

ICD : Isocitrate déshydrogénase

I.F.I. : Immunofluorescence indirecte

IgG : Immunoglobulines G

I.N.M.V.: Institut National de la Médecine Vétérinaire.

I.P.A. : Institut Pasteur d'Alger

J : Jour

Kg : Kilogrammes

L.C.: Leishmaniose cutanée

L.V.: Leishmaniose viscérale

L : Litre

M : Mole

Mg : milligramme

MP1 : mannose phosphate isomérase

min : Minutes

ml : Millilitre

NNN: Novy Nicolle Mac Neal.

NP1 : purine nucléoside phosphorylase

NP2 : purine nucléoside phosphorylase

P.G. : Ponction ganglionnaire

PGM : phosphoglucomutase

tr : Tour

UI : Unité Internationale

U.V. : Ultra violet

W.L. : Witness *leishmania*.

µm : Micromètre

µg : microgramme

♂ : Mâle

♀ : Femelle

SOMMAIRE

<u>CHAPITRE I : INTRODUCTION</u>	5
PARTIE PRATIQUE	8
<u>CHAPITRE II : ETUDE DU PARASITE</u>	11
II. Morphologie	11
III. Classification	12
IV. Cycle évolutif	13
 <u>CHAPITRE III : ETUDE DU VECTEUR DE LA LEISHMANIOSE (LES PHLEBOTOMES)</u>	15
I. Définition	15
II. Morphologie	15
III. La biologie	18
VI La transmission	20
V. Répartition géographique	20
 <u>CHAPITRE IV: ETUDE DU RESERVOIR DE LA LEISHMANIOSE</u>	23
I. Le réservoir principal	23
II. Les réservoirs occasionnels :	23
II.1. La leishmaniose féline :	23
II.2. Leishmaniose chez le cheval :	23
II.3. La leishmaniose vulpine	24
II .4. Le rôle de la volaille	24
 <u>CHAPITRE V : LES MANIFESTATIONS CLINIQUES DE LA LEISHMANIOSE CANINE</u>	25
Le chancre d'inoculation.	25
II. Les manifestations dermiques.	25
III. Les manifestations oculaires.	29
IV. L'Insuffisance rénale.	30
V. L'adénopathie.	30
VI. La splénomégalie.	31
VII. L'atteinte musculaire.	31
VIII. Autres atteintes.	31
IX. L'évolution de la maladie	32

<u>CHAPITRE VI : LES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC DE LA LEISHMANIOSE CANINE..</u>	33
I. Le diagnostic clinique	33
II. Les techniques de diagnostic sérologique	33
II.1. Le diagnostic sérologique	34
II.1.1. L'Immunofluorescence indirecte.....	34
II.1.2. L'E.L.I.S.A.	34
II.1.3. Immunoprécipitation.....	35
II.1.4 Immunoelectrophorèse.....	35
II.1.5Eléctrosynerese	35
II.1.6. Test d'agglutination direct (D.A.T.)	36
II.1.7. Le test d'agglutination au latex.....	36
II.1. 8. Western Blot ou Immuno- Empreinte.....	37
II.1.9. La P.C.R. (Polymérase Chain Réaction) :.....	37
III. Les examens complémentaires	38
III.1. Le test de formol- leuco - gélification (F.L.G.)	38
III.2. Dosage des protéines sérique par l'électrophorèse	38
III.3. Examens hématologiques	39
III.4. Examens biochimiques	39
III.5. Le typage iso enzymatique	39
<u>CHAPITRE VII : L'IMMUNITE DURANT LA LEISHMANIOSE.....</u>	40
I. L'immunité humorale.....	40
II. L'Immunité cellulaire	40
<u>CHAPITRE VIII : LA VACCINATION CONTRE LA LEISHMANIOSE.....</u>	42
<u>CHAPITRE IX : LE TRAITEMENT DE LA LEISHMANIOSE CANINE.....</u>	43
I - L'amphotéricine B	43
II - Pentamidine	43
III - Les antimoniés pentavalents	43
IV - L'aminosidine	44
V - L'Allopurinol	44

<u>CHAPITRE X : LES LEISHMANIOSES HUMAINES EN ALGERIE</u>	46
<u>CHAPITRE XI : LUTTE ET PREVENTION</u>	47
PARITE PRATIQUE	49
OBJECTIFS	50
<u>CHAPITRE I : MATERIELS UTILISES DANS NOTRE ETUDE</u>	51
I. La durée de l'étude	51
II. La région d'étude	51
II. L'effectif canin	51
- Le sexe	51
- Les races	52
<u>CHAPITRE II : METHODES UTILISEES DANS NOTRE ETUDE</u>	53
I. Méthodes de prélèvements	53
I.1.1. Sang prélevé sur tube sec	53
I.1.2. Sang prélevé sur tube citraté	53
II. Méthodes utilisées pour le diagnostic sérologique de la leishmaniose	53
II.1. Le test de l'immunofluorescence indirecte	54
II.1.1. Préparation de l'antigène figuré pour l'I.F.I.	54
II.1.1.1. Les étapes du test	54
II.2. Witness <i>Leishmania</i>	59
II.2.1. Réalisation du test et résultats	59
III. Méthodes utilisées pour le diagnostic parasitologique de la leishmaniose	61
III.1. Isolement des leishmanies	61
III.1.1. Hémocultures	62
III.1.2. La culture du suc ganglionnaire	64
III.2. Le typage iso enzymatique	64
III.2.1. Culture en masse des formes promastigotes	65
III.2.2. Isolement des leishmanies	65
III.2.3. La récolte des leishmanies	65
III.2.4. La lyse cellulaire et l'extraction protéique (confection des perles)	66
III.3. Electrophorèse sur gel épais d'amidon	66
III.3.1. Préparation des solutions tampons	66
III.3.2. Préparation du gel d'amidon	67
III.3.3. Introduction des extraits protéiques dans le gel	67

III.3.4. La migration électrophorétique	68
III.3.5. La révélation enzymatique	68
III.3.6. Lectures des zymogrammes	89
CHAPITRE III : RESULTATS DU TRAVAIL EXPÉRIMENTAL.....	70
I. Resultats du diagnostic clinique de la leishmaniose canine	71
II. Résultat selon le sexe	78
III. Résultat selon les races	79
IV. Résultat selon l'age	80
V. Résultat selon l'origine des chiens	81
V I. Resultats du diagnostic de laboratoire	84
II.1. Resultats du diagnostic serologique	84
II1.1. L'immunofluorescence indirect	84
II1.2. Witness <i>Leishmania</i>	84
VII. Resultats du diagnostic parasitologique	85
VII.1. Les cultures	85
VII.2. Le typage iso enzymatique.....	85
CHAPITRE IV : DISCUSSION.....	89
I. Le diagnostic sérologique.....	89
II. Le diagnostic parasitologique	90
III. Le typage isoenzymatique	90
IV. L'age	93
V. Races	93
VI. Les symptômes	94
VII. Région.....	95
CHAPITRE V.: CONCLUSION ET PERSPECTIVES	97
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	99
ANNEXES.....	124
Annexes I.....	125
Annexes II.....	143
Annexes III.....	153
Annexes IV	154
Annexes V.....	165
Annexes VI.....	170
RESUMES (français, Anglais, Arabe).....	174

CHAPITRE I : INTRODUCTION

Les leishmanioses sont des parasitoses dues à l'infection de l'homme par un protozoaire flagellé appartenant au genre *Leishmania*. Parasites principalement zoonotiques, les *Leishmania* affectent de très nombreuses espèces de mammifères domestiques ou sauvages et sont transmises par la piqure infectante d'un vecteur ; le phlébotome femelle.

Il est à présent reconnu que les leishmanioses humaines affectent 88 pays répartis sur quatre des cinq continents et le nombre annuel de nouveaux cas se chiffre entre 1.5 millions à 2 millions de cas (Desjeux ,1996)

Dans toute la région méditerranéenne, le réservoir principal est constitué de chiens domestiques (Bettini et Gradoni, 1986). Ce constat a été confirmé par des études ponctuelles réalisées dans la région d'Alger par des équipes de l'Institut Pasteur d'Algerie (Belazzoug, 1987, Harrat et coll., 1995 a , Harrat et Belkaid ,2002) .

L'étude de la leishmaniose canine est importante, car comme révélée par les nombreux travaux, la connaissance et la maîtrise du cycle de développement du parasite et des différents facteurs favorisant son apparition et son maintien dans une région donnée, est la clé de la réussite des moyens de lutte contre cette maladie.

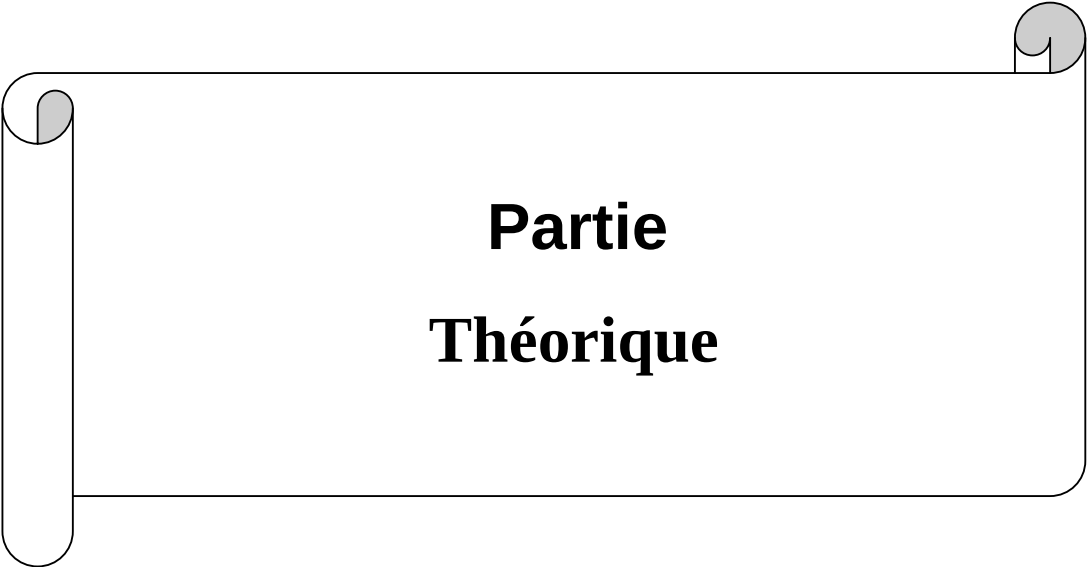
Aussi, la connaissance précise de la leishmaniose canine a un double intérêt :

- ❖ Dans le domaine épidémiologique, pour la surveillance et le contrôle de la leishmaniose viscérale humaine et même cutanée, parce que le chien représente le principal réservoir de l'infection
- ❖ Dans le domaine animal, pour un meilleur suivi de la clinique de la leishmaniose canine par les vétérinaires.

L'objectif du présent travail est d'apporter une modeste contribution à l'étude de l'épidémiologie de la leishmaniose canine dans la région d'Alger.

A travers une étude bibliographique, nous apprécierons l'importance de l'apport de certaines méthodes de diagnostic à l'étude épidémiologique de la leishmaniose canine, comme le diagnostic clinique, sérologique, et le diagnostique parasitologique.

Dans un deuxième temps, nous allons présenter les différents moyens et méthodes que nous avons utilisés pour réaliser notre étude séro-épidémiologique de la leishmaniose canine, sur un effectif de 305 chiens, de Décembre 2004 à Avril 2006.



Partie Théorique

Historique :

Parmi les évolutions de toutes les parasitoses, celle de la leishmaniose est une de celles qui remonte le plus loin dans l'histoire de l'humanité. En effet, une tablette d'argile, découverte par Bossier en 1894, dans le palais de Nivive, (600-700 ans avant Jésus-Christ). Cette tablette évoque une ulcération indolore au niveau de la gorge. (In Dedet, 1999).

Au X^{ème} siècle, El Boukhari, décrit cette infection cutanée et l'attribue à une piqûre de moustique. (In Dedet, 1999).

La première description clinique moderne est celle de Mc. Naught en 1882. (In Dedet, 1999).

En examinant des coupes histologiques pratiquées à partir d'un «bouton d'orient», et collaborateurs en sont les premiers à observer le parasite (Cunningham D, 1885).

En 1889, Boravsky établit la nature protozoaire du parasite dans un prélèvement d'ulcère. (In Dedet, 1999).

En 1903, Ross établit le genre *Leishmania* (Ross, 1903).

En 1908 Charles Nicolle nomma *Leishmania infantum* l'agent pathogène de la leishmaniose viscérale, observé dans les pays méditerranéens.

En 1912, Sergent, Lombard et Quilichini, ont démontré, dans l'entourage d'un garçon atteint de leishmaniose viscérale, l'infection chez un chien de 2 ans et un chat de 4 mois. Tous les trois vivaient dans le cadre étroit d'une maisonnette, située dans un ravin isolé, près d'Alger. La mort du chien de garde survenue après une longue maladie, suggéra que cet animal était la cause de l'infection de l'autre chien et du Chat, prouvons ainsi l'identité de la leishmaniose humaine et canine. (Sergent et coll., 1912).

En 1925, Adeler et Théodor en Palestine, induirent avec succès trois volontaires avec des promastigotes, obtenues par dissection de phlébotomes. (In Dedet, 1999).

En 1921, Sergent et ses collaborateurs apportent la preuve cruciale du rôle vecteur des phlébotomes, ceci après avoir piqué un sujet sain à Alger, par des phlébotomes, récoltés à Biskra. (Sergent Ed et coll., 1921).

En 1944 Latyslev et Kioukova (In Dedet. 1999), font apparaître l'importance des rongeurs gerbilles *mériones*, dans les complexes pathogènes des leishmanioses cutanées zoonotiques.

Chance (1974) a mis au point la caractérisation iso-enzymatique des souches de leishmanies.

Les premiers cas de co-infection VIH - leishmanioses ont été signalées en 1985 par De la loma et ses collaborateurs. En Algérie, 13 cas de co-infection VIH-leishmaniose viscérale ont été diagnostiqués en 1997. (In Bachi, 2001).

CHAPITRE I : ETUDE DU PARASITE.

I. Définition

Les Leishmanies sont des protozoaires parasites, qui se présentent sous deux stades morphologiques principaux : Les promastigotes, et les amastigotes.

II. Morphologie du parasite :

II.1. Les promastigotes :

Ce sont des parasites extracellulaires, mobiles, vivant dans le tube digestif du phlébotome, mesurant 5 à 20 μm de longueur et 1 à 4 μm de largeur (a). Ils sont prolongés par un flagelle qui peut atteindre 20 μm de longueur (b).

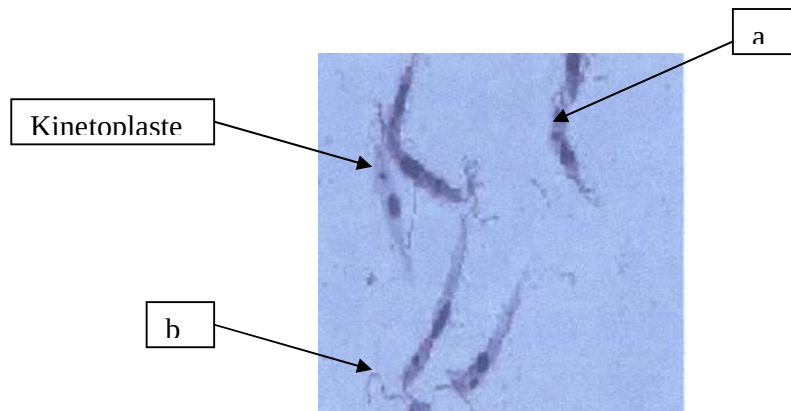


Figure n°1 : Les formes promastigotes (Garni, 2001)

II.2. Les amastigotes :

C'est sont des parasites intracellulaires. Ils sont localisés à l'intérieur des macrophages des mammifères. Ils présentent un corps plus ou moins ramassé de 3 à 5 μm de long sur 3,22 μm de large (Gardner et coll., 1977).

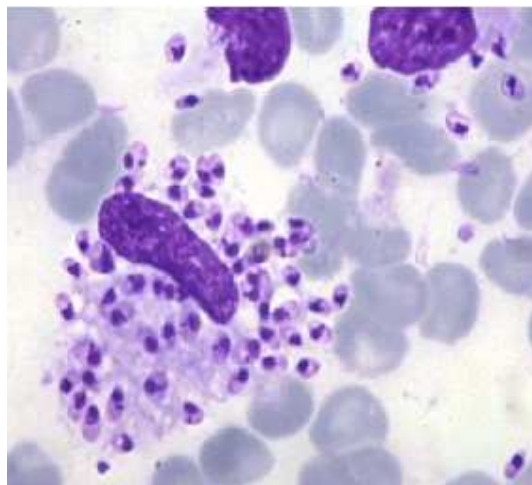


Figure n°2 : Les formes amastigotes. Coloration MGG X 1000.

Photo P. Marty (ERLEISH)

En microscopie électronique, l'ultra structure de la forme amastigote montre, des microtubules sub-pelliculaires sous la membrane cellulaire tri lamellaire. Le cytoplasme contient les composants classiques des cellules eucaryotes : réticulum endoplasmique, ribosomes, appareil de golgi et vacuoles.

La particularité importante, de l'amastigote est : existence d'une seule mitochondrie de grande taille, contenant le kinétoplaste, organite composé d'acide désoxyribonucléique (ADN). Le noyau est sphérique et possède une double membrane. Le flagelle de structure fibrillaire prend naissance dans le corps basal, entouré par la poche flagellaire dont l'ouverture est assurée par les desmosomes situés à la partie apicale (Dedet, 1999).

III. Classification de *Leishmania* sp. :

La classification des leishmanies proposée par Levine et collaborateurs (1980) est la suivante:

Règne : *Protista* (Haeckel, 1866)

Sous règne : *Protozoa* (Goldfuss, 1817 Ememd et Siebold, 1848)

Embranchement: *Sarcomastigophora* (Hohigberg et Balamuth 1963)

Sous embranchement : *Mastigophora* (Diesing ,1866)

Classe : *Zoomastigophora* (Calkins, 1909)

Ordre : *Kinetoplastida* (Honigberg, 1963 Emend Vickerman ,1976)

Sous ordre : *Trypasonomatidae* (Kent ,1880)

Famille : *Trypanosomatidae* (Doflein, 1901 Emend, Grobben 1905)

Genre : *Leishmania* (Ross ,1903)

Sous genre : *Leishmania infantum* (complexe phylogénique *L. infantum*)(Dedet, 1999)

La taxonomie du sous genre *Leishmania* est basé sue l'analyse iso-enzymatique du parasite (Dedet, 1999)

IV. Le cycle évolutif de *Leishmania sp.* :

Le cycle des leishmanioses est un cycle hétéroxène présentant deux hôtes; un hôte invertébré (phlébotome) et un hôte vertébré (homme, chien).

IV.1. Chez le vecteur :

C'est au cours du repas sanguin pris sur un animal ou un sujet infecté, que le phlébotome absorbe les leishmanies sous forme amastigote, parasite intracellulaire du système réticulo histiocytaire.

Chez les insectes, le repas sanguin est rapidement entouré par la membrane péritrophique sécrétée par les cellules intestinales abdominales.

En effet, c'est au cours des 24 heures à 48 heures suivant le repas sanguin, que les leishmanies se multiplient une ou deux fois dans l'intestin du phlébotome sous la forme amastigote.

Ainsi, ce n'est qu'après ce temps de latence que les formes promastigotes apparaissent et se multiplient. (Wéby ,1995)

Au bout de 3 à 4 jours, elles s'échappent de la membrane péritrophique qui est déchirée et gagnent leur lieu de multiplication qui varie en fonction de l'espèce de leishmanie ; soit de part et de d'autre du pylore (Péripylaria), soit au niveau de l'intestin antérieur et moyen (Suprapylaria).

Les leishmanies gagnent ensuite les pièces buccales.

La durée du cycle chez le phlébotome est de 4 à 7 jours. Le vecteur peut alors transmettre le parasite à un autre animal ou à l'homme.

IV.2. Chez l'hôte vertébré :

Les promastigotes "injectés", seront transformés en amastigotes lors de leur passage dans le phago lysosome du macrophage, dans lequel, ils se multiplieront ; la destruction de la cellule hôte provoque la dissémination dans le sang et la lymphe des parasites qui seront à leur tour phagocytées par de nouvelles cellules. (Wéby ,1995)

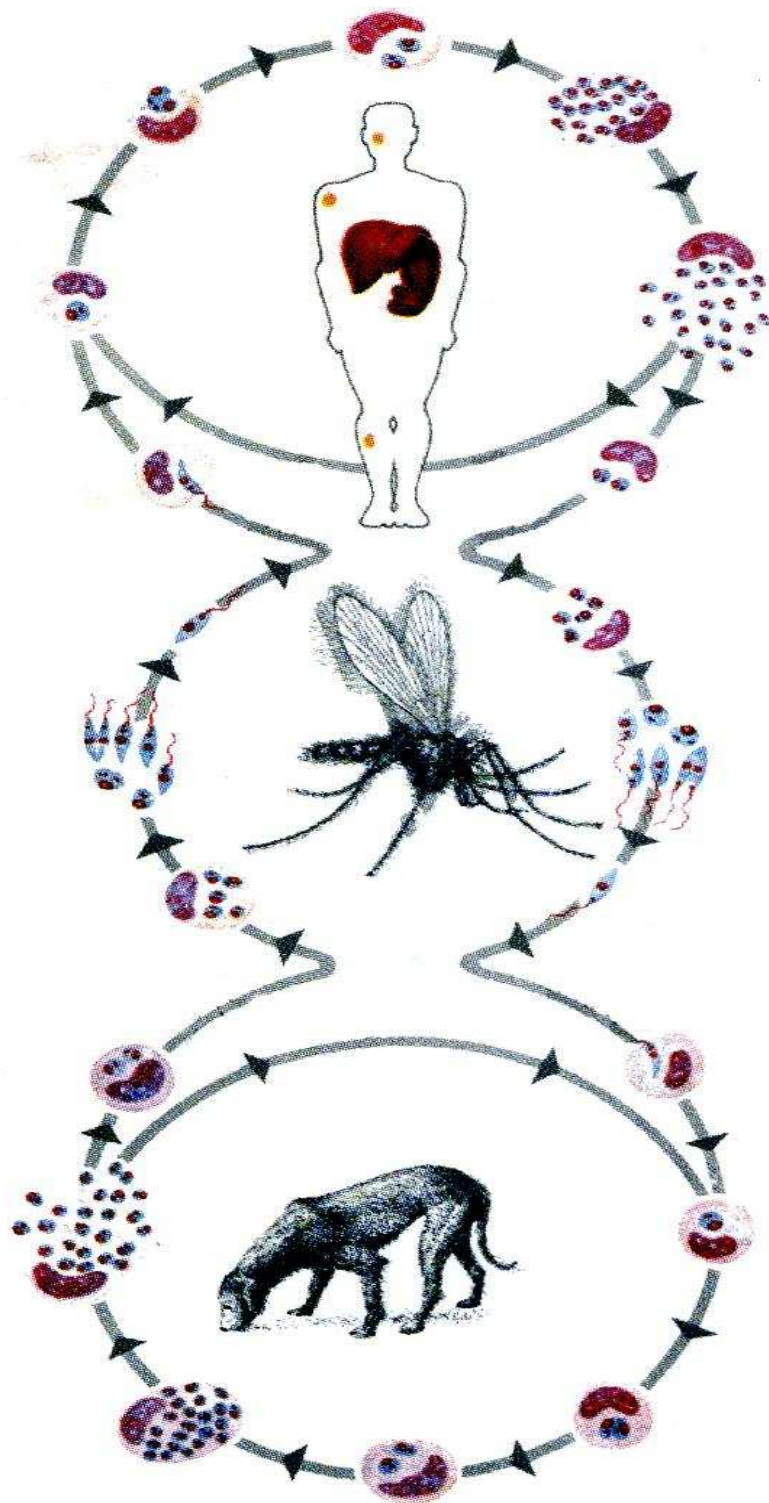


Figure n° 3: Le cycle évolutif de la leishmaniose (Davidson, 1999)

CHAPITRE II : ETUDE DU VECTEUR DE LA LEISHMANIOSE (LES PHLEBOTOMES).

I. Définition :

Les phlébotomes sont des diptères hématophages, de petite taille mesurant 2 à 5 mm,. Ils constituent au sein de la famille des *Psychodidae*, la sous famille des *Phlébotominae* qui comporte actuellement, environ 700 espèces décrites.

II. Morphologie du phlébotome :

Les phlébotomes possèdent un corps grêle et allongé, recouvert d'une fine pilosité répartie également sur les ailes.

II.1. L'adulte :

C'est un insecte de petite taille : 1 à 4 mm de couleur pale (jaune, grisâtre ou brunâtre), fortement velu chez la femelle , d'aspect bossu, très fragile. (Rodhain et Pérez. 1985).

Les **Antennes** comportant 16 segments velus, portant souvent (du 3^e au 15^e segments) des "ascoïdes " ou épines géniculées plus ou moins transparentes. Des palpes maxillaires formées de 5 segments; pièces (labres, mandibules, maxilles, hypopharynx, labium) formant un proboscis assez court. Une armature interne du pharynx (cibarium) parfois utilisé en systématique. Des yeux généralement gros et sombres.

Les **ailes**, très velues, de forme lancéolée, et habituellement relevées chez l'insecte au repos. Elles présentent sept (07) nervures longitudinales et des nervures transverses toujours situées près de la base; Des pattes longues et grêles.

Un **Abdomen** composé de dix segments dont les trois derniers, modifiés, constituent les organes génitaux. Ceux –ci (coxites et styles) sont très développés chez le mâle (Rodhain et Pérez., 1985).



Photo n°1 : Morphologie du phlébotome mâle. (Photo Aissi M., ENV-Alger, 2004).



Photo n°2 : Morphologie du phlébotome femelle. (Photo Aissi M., ENV-Alger, 2004).

II.2. Les œufs :

Ils sont elliptiques, légèrement incurvés et mesurent 0,4 mm de long. A la ponte, l'œuf est de couleur blanchâtre ou jaune clair qui vire au brun foncé en 5 à 6 jours.



Photo n°3 : Les œufs de phlébotomes.
(killick-kendrik R., and killick-kendrik M., 1999)

II.3. La larve :

Il existe 4 stades larvaires ; La larve de phlébotome est de type éruciforme, avec une tête chitineuse et des pièces buccales broyeuses. Le thorax comporte 3 segments et l'abdomen 9 segments.



Photo n°4 : La larve du 4^{ème} stade.
(killick-kendrik R., and killick-kendrik M., 1999)

II.4. La nymphe :

Elle mesure 3 mm de long, comprend un céphalothorax, et un abdomen composé de neuf segments. (Abonnenc ,1972).



Photo n°5 : La nymphe de phlébotome.
(killick-kendrik R., and killick-kendrik M., 1999)

IV. La biologie des phlébotomes :

La copulation à lieu peu de temps après l'éclosion des adultes. Elle dure une quinzaine de minutes. La maturation des œufs s'effectue en même temps que la digestion du sang.

Le stimulus qui provoque l'oviposition, est le contact avec une surface humide.

Les œufs se développent ensuite en larves sur le sol, dans les terriers, les nids, ou les fissures dans les murs.

La larve du 1^{er} stade qui sort de l'œuf, mesure environ 01 mm et atteint au 4^{ème} stade 3 à 4mm.

Des phénomènes de diapause peuvent intervenir avant la nymphose.

Le développement total de l'œuf à l'adulte dure de 35 jours à 60 jours (Dedet, 1999).

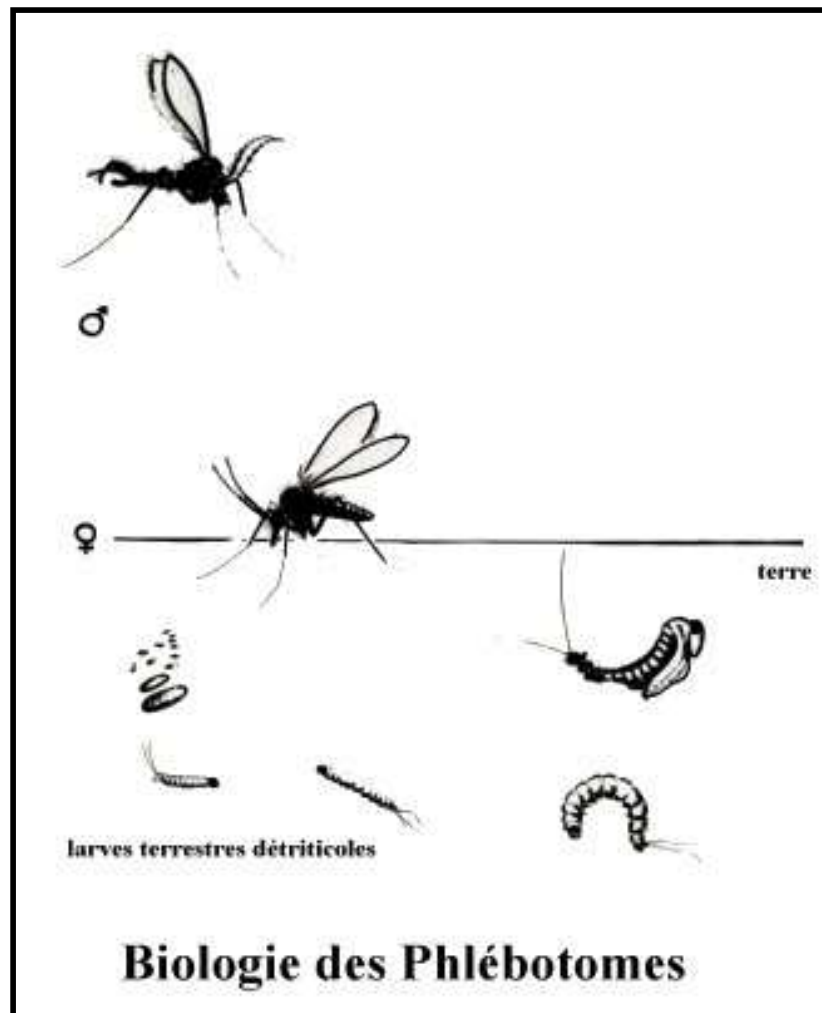


Figure n°4 : Schéma du cycle biologique des phlébotomes. (Anonyme, www.pasteur.fr)

V. La transmission des leishmanies :

Le cycle se déroule chez l'hôte invertébré, suivant un schéma bien établi. Les parasites se trouvant sous forme amastigote, au lieu de la piqûre, sont absorbés et arrivent avec le sang dans l'intestin moyen. Ils se transforment alors en promastigotes flagellés, enfermés dans la membrane péritrophique. La phase suivante conduit alors les parasites à migrer vers l'avant pour gagner l'œsophage et le pharynx.

Les leishmanies atteignent les pièces buccales de l'insecte vers le 9^e - 10^e jour après le repas infectant, sans toutefois constituer un réel obstacle à l'absorption du sang. Il semble que les parasites fixés à ce niveau entraînent des repas incomplets, et donc de multiples tentatives de gorgement, ce qui pourrait augmenter les risques de contamination par les phlébotomes infectés.

Les leishmanies sont alors probablement libérées et déposées passivement au niveau de la plaie de piqûre. (Rodhain et Pérez, 1985).

VI. Répartition géographique des phlébotomes :

VI.1. Les phlébotomes dans le monde :

La densité des vecteurs est souvent parallèle à la fréquence des infestations canines et humaines.

L'activité saisonnière des phlébotomes varie selon les espèces. A titre d'exemple, en France *Phlébotomus ariasi* est monophasique avec un pic au début de Juillet pendant que *Phlébotomus perniciosus* est di-phasique avec deux pics en Mai et en Août (Rioux et Golvan, 1969).

VI.2. Les phlébotomes en Algérie :

En Algérie et en particulier dans la région d'Alger : *Phlébotomus perniciosus* vecteur prouvé de la leishmaniose viscérale et *Phlébotomus longicuspis* dont le rôle vecteur reste à démontrer sont prédominants. (Harrat et Belkaid, 2002)

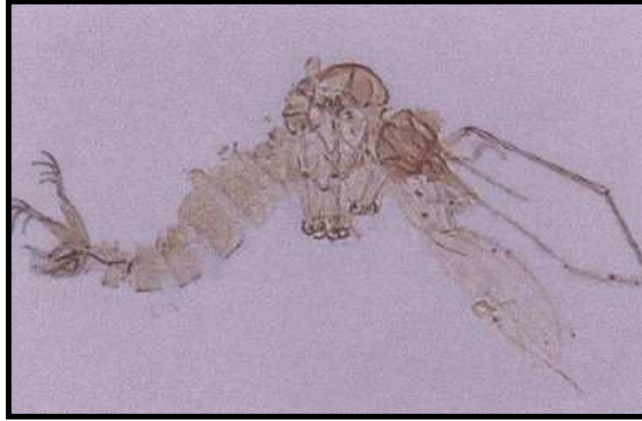


Photo n°6 : *P. perniciosus* (♂). (Garni, 2001)

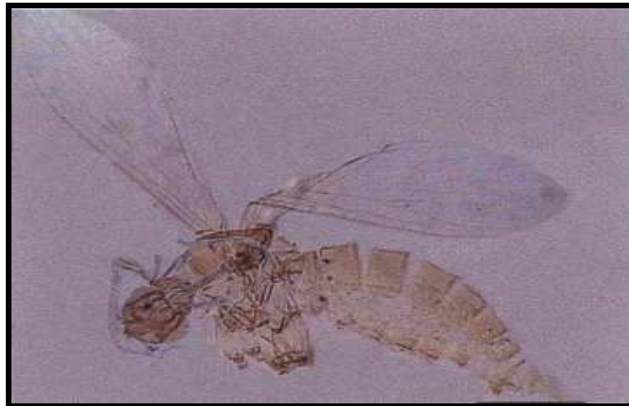


Photo n°7 : *P. perniciosus* (♀). (Garni , 2001)

V.3. Rôle vecteur de *Rhipicephalus sanguineus* dans la transmission de *Leishmania chagasi* (L.V.) :

La compétence des tiques comme vecteurs de la leishmaniose canine a été étudiée sur 39 spécimens (6 femelles, 11 mâles, 22 nymphes) de *Rhipicephalus sanguineus* isolées de 21 chiens leishmaniens. Sur six (06) tiques (15,4%), la méthode de P.C.R. a permis de détecter le gène *leishmania*.

Des broyats de tiques infectées ont été inoculées à des hamsters, qui ont développés une leishmaniose 06 mois plus tard ; Confirmés par l'I.F.I. et la P.C.R.

Cette étude suggère que les tiques ont une capacité vectorielle pour la leishmaniose et ouvre des nouvelles perspectives dans l'épidémiologie de la leishmaniose canine (Coutinho et coll., 2005).

CHAPITRE IV : ETUDE DU RESERVOIR DE LA LEISHMANIOSE.

I. Le réservoir principal :

Le réservoir principal de *Leishmania infantum*, est essentiellement un réservoir canin à Tunis (Nicolle et Comte, 1908).

Dans la région méditerranéenne, le réservoir principal semble être constitué par les chiens domestiques (*Canis familiaris*) (Bettini et Gradoni, 1986, Bachi, 1997).

Une étude séro-épidémiologique en Algérie a mis en évidence une séroprévalence de la leishmaniose canine de 37.5% (Belazzoug, 1987). En France, elle est de 26.5% (Neogy et coll., 1992), et en Espagne elle est de 10.2% (Fisa et coll., 1997). Dans les autres pays du Maghreb, elle est de 6% en Tunisie (Ben Said et coll. ; 1992) et de 8.6% au Maroc (Neijar et Coll., 1998).

II. Les réservoirs occasionnels :

II.1. La leishmaniose féline :

Le chat est un hôte inhabituel de la leishmaniose. Seuls quelques cas sporadiques de leishmaniose féline ont été rapportés.

En 1912, Sergent et Collaborateurs ont euthanasié un chaton de 4 mois vivant dans la maison d'un enfant atteint de la leishmaniose viscérale. Ces auteurs ont isolé des amastigotes dans la moelle osseuse de l'animal.

Ces dernières années le diagnostic sérologique indique des prévalences allant de 0,6% sur un total de 174 chats (Bez, 1992) et de 12,4% sur un total 97 chats (Ozon et coll., 1999).

Pour Pennisi (1999), l'atteinte du chat par la leishmaniose est en relation avec l'infection du F.I.V. (Feline Immunodeficiency Virus)

Sur un total de 89 chats, Pennisi en 1999 a observé un taux élevé positifs (61%). Les signes cliniques les plus fréquents étaient : une lymphadénite (29%), des troubles cutanés (28%), une stomatite (27%), des troubles oculaires (17%), et des troubles respiratoires (16%).

II.2. Leishmaniose chez le cheval :

Cette maladie est décrite pour la première fois chez 3 chevaux en Espagne, Elle se manifeste par la présence de nodules de 3 à 30 millimètres de diamètre, localisés au niveau de la face, de la région inguinale et au niveau des membres. Le rôle du cheval en tant que réservoir de l'affection ne peut être ignoré (Salano-Gallegol et coll., 2003).

II.3. La leishmaniose vulpine :

La leishmaniose du renard (*Vulpes vulpes*) a été découverte en France en 1968, lors d'une enquête sérologique qui a établi une prévalence de 2,5% sur un total de 99 renards. (Rioux et Albert, 1969).

On rencontre ainsi chez le renard, les mêmes formes cliniques que chez le chien, avec une forme aiguë rapidement fatale, ou une évolution chronique lente précédée d'une longue période de latence (Rioux et Albert, 1969).

La leishmaniose vulpine provoque également la production d'anticorps circulants. Ainsi, la leishmaniose canine et vulpine semble s'exprimer de manière peu différente tant sur le plan clinique que biologique. (Lanotte, 1975).

II.4. Le rôle de la volaille :

Le rôle des volailles n'est pas encore défini dans l'épidémiologie des Leishmaniose (Alexander et coll., 2002).

CHAPITRE V : LES MANIFESTATIONS CLINIQUES DE LA LEISHMANIOSE CANINE.

Les manifestations cliniques de la leishmaniose canine à *L. infantum* sont polymorphes. (Euzeby, 1984, Roze, 1986, Amara. et coll., 2003).

I. Le chancre d'inoculation :

La leishmaniose canine débute par une réaction locale qui (Adler et Theodor en 1932). Les lésions peuvent être uniques ou multiples, localisées soit au niveau de la truffe, et du chanfrein, soit sur la face interne des oreilles. (Vidor et coll., 1991).

Ce chancre survient 1à 6 mois après la fin de la période d'activité des phlébotomes avec une moyenne de 3 mois.



Photo n°8 : Chancre d'inoculation. (Ferrer M., 1999).

II. Les manifestations cutanées :

Les lésions cutanées sont les manifestations les plus fréquemment rencontrées (Ferrer et coll., 1999). Elles se manifestent par une sévère atteinte dermique. Ces lésions sont symétriques et non prurigineuses. Le signe le fréquent est une alopecie avec une intense desquamation sèche. Elle débute toujours par la tête, puis se prolonge vers le reste du corps.

D'autres animaux développent une ulcération chronique se localisant surtout au niveau de la tête et les membres.

Des lésions nodulaires, parfois ulcérées, très riches en parasites ont été décrites. Ce sont des cas rares de dermatite nodulaire leishmanienne. Ces nodules sont d'aspect et de taille variables allant d'une noisette à une pomme, mobilisables en région lombaire pré crurale et la région scapulaire. (Amara, 2000).



Photo n°9 : Ulcération au niveau des pattes. (Ferrer M., 1999)



Photo n°10 : Alopécie. (Ferrer M., 1999)

La perte de poils est diffuse, le pelage prenant un aspect mité. Certaines parties du corps sont touchées préférentiellement : la tête, avec apparition de «lunettes» autour des yeux, le cou, le poitrail, et les articulations distales des membres. (Cabassu et coll., 1988)

La peau est sèche, grise dans les cas avancés. Le furfur amiantacé est un symptôme très connu de la maladie : de nombreuses squames parsèment le corps du chien et réapparaissent immédiatement après un traitement par un shampoing. (Cabassu et coll., 1988).



Photo n°11 : Furfur. (Ferrer M., 1999).

La peau prend progressivement un aspect cartonné. L'épaississement de la peau touche surtout les lèvres, les paupières, le bord des oreilles. Cette hyper-kératose peut être très marquée au niveau des coussinets plantaires. (Cabassu et coll., 1988).



Photo n°12 : Hyperkeratose. (Ferrer., 1999).

Les ongles peuvent être anormalement longs. Cette onychogribose peut créer une gêne dans la démarche et même la rendre bruyante sur sols durs.



Photo n°13 : Onychogribose (Ferrer., 1999)

III. Les manifestations oculaires :

Les dépilations des paupières, bilatérales, présentent un aspect "en lunette" avec des nombreuses squames, une dermatite furfuracée. Une forme granulomateuse peut aussi être observée (Rose, 1988).

L'atteinte oculaire est polymorphe. La conjunctivite muco-purulente est le signe prédominant et le plus précoce des manifestations oculaires de la leishmaniose classique. (Rose ,1988). Elle est souvent associée à une kératite. Le chemosis par son intensité, peut constituer un bon signe d'appel dans les régions d'endémie où la conjunctivite est littéralement boursouflée et l'animal extériorise une souffrance oculaire annonciatrice, la plus part du temps, d'une uvéite (Rose,1988).

Dans 72% des cas, les lésions oculaires sont bilatérales (Amara et coll., 2003). La conjunctivite muco-purulente est la lésion la plus fréquente (61%). Une kératite est observée dans 33% des cas. Parfois une dépilation autour des yeux , un oedème conjonctival (33%) et un chémosis dans 5% des cas sur un total de 18 chiens. (Amara, A et coll., 2003).



Photo n° 14 : Oedème conjonctival. (Amara et Coll., 2003)

(1 : chémosis ; 2 : kératite ; 3 : Dépilation autour des yeux

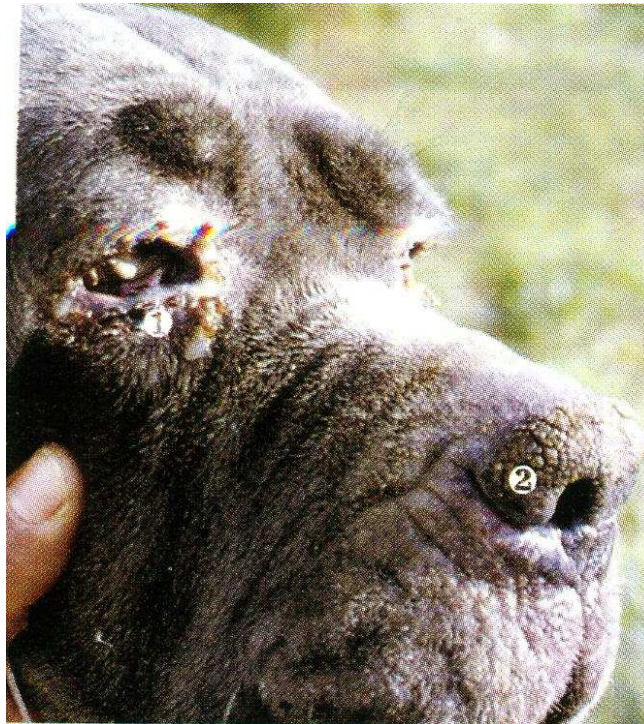


Photo n°15 : Conjonctivite muco-purulente (1) associée une hyperkeratose de la truffe (2)
(Amara et Coll., 2003)

Ces signes cliniques, sont pour Amara A et coll., (2003) rattachées à la symptomatologie générale de la leishmaniose, et sont des formes oculaires isolées pour Ettinger (1989), Pena et coll., (2000) et Rose (1986).

IV. L'Insuffisance rénale :

L'insuffisance rénale, a été Longtemps considérée comme une forme rare ou simplement une complication terminale de la leishmaniose (Naskidachvili et Perox, 1988).

Mais bon nombre de chiens leishmaniens présentent une insuffisance rénale qui constitue le symptôme d'appel permettant de diagnostiquer l'affection parasitaire (Naskidachvili et Perox, 1988).

L'infection s'accompagne du dépôt d'immuns complexe sur les glomérules, à l'origine de glomérulonéphrite et du passage d'immunoglobulines dans les urines (Naskidachvili et Perox, 1988).

V. L'adénopathie :

Cette adénopathie est plus fréquente chez les chiens leishmaniens symptomatique (68,7%) que chez les chiens asymptomatiques (12,5%) (Mylonakis et coll., 2005).

Le parasitisme par *L. infantum* s'accompagne d'une très forte réaction proliférative des organes lymphoïdes (Keenan et coll.; 1984). Une adénomégalie souvent généralisée, montre des ganglions mobiles (Cabassu et coll., 1988).

Sur un total de 95 cas, Slappendel indique en 1988, que 89% des chiens malades ont une atteinte cutanée et 90% ont une atteinte ganglionnaire.

VI. La splénomégalie et l'hépatomégalie :

Une splénomégalie assez fréquente mais souvent difficile à détecter a été observée par Keenan et collaborateurs en 1984. Cabassu et collaborateurs (1988) ont décrit une hépatomégalie.

VII. L'atteinte musculaire :

Une fonte musculaire qui pouvant être reliée à la maladie par une malnutrition ou à la déviation de la synthèse orientée vers la fabrication de gammaglobulines est observée. Cette fonte musculaire est responsable d'une diminution de la quantité de créatine (Cabassu et coll., 1988). Elle peut invoquer la diminution de la synthèse protéique (Keenan, 1984).

La fonte des muscles crotaphites, creuse les fosses temporales, et est associée aux dépilations. Cette amyotrophie très fréquente donne un faciès sénile à l'animal (Cabassu et coll., 1988).

VIII. Autres atteintes :

1. La leishmaniose canine peut être associée à une atteinte génitale au niveau de l'épididyme, du pénis et au niveau de prépuce, pouvant ainsi renforcer l'hypothèse de la transmission vénérienne de la leishmaniose canine (Diniz, 2005).
2. Il a également été démontré l'existence de lésions pulmonaires de type pneumonie interstitielle.
3. Une atteinte du myocarde et des muscles ont également été observés.
4. L'ostéomyélite est associée à la leishmaniose canine (Souza, 2005).
5. Les symptômes généraux comprennent une hyperthermie (Giraud et Cabassu, 1982).
6. Les muqueuses sont fréquemment atteintes ; en s'ulcérant, la muqueuse nasale est à l'origine d'épistaxis récidivants uni ou bilatéraux. (Photo n°16)



Photo n°16 : Epistaxis. (Ferrer M, 1999)

IX. L'évolution de la maladie :

La leishmaniose canine évolue souvent, sous forme chronique aboutissant à la mort (Lanotte et coll, 1974). La maladie peut évoluer sous la forme latente, sous la forme d'une insuffisance rénale brutale et conduire à la mort en quelques jours. Une telle dégradation de l'état rénal peut aussi se manifester chez des chiens non traités. Les individus se débilitent à des vitesses très variables chez certains animaux. Les signes cliniques se développent en quelques années ou restent parfois focalisés.

Enfin, on rencontre des cas de rechutes ou de nouvelles atteintes chez des individus cliniquement guéris et sérologiquement négatifs. Certaines maladies associées peuvent par ailleurs rendre le diagnostic plus difficile : la surinfection bactérienne des lésions cutanées qui deviennent suppurées est fréquente. Il y a aussi des mycoses modifiant l'aspect des dépilations (Cabassu et coll., 1988)

CHAPITRE VI : LES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC DE LA LEISHMANIOSE CANINE.

I. Le diagnostic clinique :

Le diagnostic de la leishmaniose canine basé sur les signes cliniques n'est pas fiable. En effet, à l'examen clinique, plus de 50% des chiens infectés sont apparemment sains «chiens asymptomatiques». (Gradoni, 2002)

Le tableau clinique est polymorphe (Tableau n°1) et les techniques de diagnostic, les plus largement utilisées, ont montré l'existence de formes atypiques : dermatite localisée, colite chronique, troubles cardiovasculaires, troubles respiratoires, et troubles musculo-squelettiques qui rendent le diagnostic clinique impossible. (Blavier et coll.2001)

Le tableau I révèle l'incidence relative des différents signes communément associés à la maladie (Ciaramella et coll., 1997). (Koutinas et coll., 1999) (Gradoni, 2002).

Tableau I : Incidence relative des signes cliniques associés à la leishmaniose canine (%):

Signe clinique	Ciaramella et coll. 1997 (N°150)	Koutinas et coll. 1999 (N°158)
Lymphadénopathie	88.7	65.2
Troubles cutanés généralisés	56	81
Perte de poids	32	25.3
Griffes anormales	24	30.5
Splénomégalie	53.3	9.5
Trouble oculaire	16	24.1
Epistaxis	10	3.8
Anorexie	18	16.5
Diarrhée	3	3.8

II. Les techniques de diagnostic :

De nouvelles techniques de diagnostic ont vu le jour ces dernières années. Certaines de ces techniques sont réservées aux laboratoires spécialisés. D'autres existent sous forme de kits utilisables en clientèle. (Gradoni., 2002).

II.1. Le diagnostic sérologique :

II.1.1. L'Immunofluorescence indirecte :

Elle a été utilisée pour la première fois en 1963, dans le diagnostic des leishmanioses humaines par Oddo et Cascio (Oddo et Cascio, 1963), puis adaptée au dépistage de la leishmaniose canine par Quillici et collaborateurs en 1969.

C'est la technique sérologique de référence, recommandée par l'Office International des Epizooties. (O.I.E. ; 2000).

Le principe de la technique :

L'I.F.I. repose sur la mise en évidence de complexes Ag.-Ac., grâce au marquage des réactifs immunologiques (Ag.) par une substance fluorescente.

Dans la méthode indirecte, les anticorps recherchés dans le sérum sont fixés sur l'antigène, lui même fixé sur une lame, puis mis en évidence par l'ajout d'anti-gamma-globulines spécifiques d'espèce.

I.F.I. est facile à réaliser, assez rapide et surtout ne nécessite pas de gros investissements.

Sa sensibilité est de 99%. En effet, au cours d'une enquête épidémiologique, Lanotte et Collaborateurs (1974), ont obtenu 107 chiens positifs à l'I.F.I. sur 108 chiens leishmaniens.

L'I.F.I. possède également une bonne spécificité : elle est de 95% (Dunan et Toga 1988)

Pour le praticien l'I.F.I. reste un examen sérologique de choix pour confirmer une leishmaniose mais son inconvénient majeur est qu'il est indispensable de passer par un laboratoire habilité qui regroupe généralement le traitement des prélèvements sanguins un jour par semaine. Ce qui abouti à un délai de réponse d'une semaine (Bianchi, 2001).

II.1.2. L'E.L.I.S.A. : (Enzyme – Linked – Immuno – Sorbent- Assay).

L'E.L.I.S.A. été développée en médecine humaine pour le diagnostic de la leishmaniose humaine en 1978.

Le laboratoire départemental vétérinaire des Alpes Maritimes, l'a ensuite mis au point pour la leishmaniose canine en 1981.

Elle est depuis, très souvent utilisée conjointement à l'I.F.I. (Hass et Ozon., 1994.) (Rachamin et coll., 1999).

Le principe de la technique :

L'E.L.I.S.A. est réalisée avec des antigènes solubles directement fixés par adsorption sur un support en polystyrène.

On fait ensuite incuber les sérums à tester, et on révèle la réaction par une anti-globuline couplée à des enzymes détectables à d'infimes concentrations. L'ajout du substrat de l'enzyme s'accompagne de l'apparition d'une substance classiquement chromogène. La

réaction est quantifiée par la lecture au spectrophotomètre. Les résultats sont donc donnés en valeurs de densité optique. Une réaction positive correspond à une réaction colorée apparaissant après l'ajout du substrat révélateur (Ambroise et coll., 1994).

Le grand avantage de cette technique est l'automatisation permettant la lecture rapide d'un grand nombre de sérums (Bianchi, 2001).

Sa sensibilité est comparable à celle de l'I.F.I., sa spécificité reste relativement bonne même si elle a été mise en défaut par l'existence de réactions croisées avec la toxoplasmose. (Hass, 1988), ce test présente de nombreux avantages : facilité de réaction, faible consommation d'antigène, possibilité de traiter un grand nombre de sérums et rapidité d'exécution (Bianchi, 2001).

Son principal défaut reste la variation de la sensibilité selon l'origine et la préparation de l'antigène dont l'importance du choix et la préparation de l'antigène utilisé. Une meilleure sensibilité lors de l'utilisation d'antigènes issus de la même souche que celle infectant les sujets testés. (Badaro et coll., 1986).

II.1.3. Immunoprécipitation :

Le principe de la technique : (Charrol, 1989 et Dunan et Toga, 1988).

Il s'agit d'une réaction de précipitation, visible macroscopiquement, entre l'antigène soluble (somatique ou métabolique) et l'anticorps.

Cette technique utilise un antigène soluble qui se trouve en milieu gélosé dans lequel, il est mis en contact avec les anticorps à tester. Il y a alors formation d'arcs de précipitations qui révélés par coloration.

Deux méthodes dérivent de l'immuno précipitation : l'immunoélectrophorèse et l'électrosynérèse.

L'immunoélectrophorèse :

Cette technique consiste dans un premier temps à appliquer un champ électrique à un gel contenant un mélange d'antigènes déposés dans des puits. Dans un deuxième temps, le sérum à tester est déposé dans une gouttière préalablement creusée parallèlement au sens de la migration. La diffusion des anticorps, suivie de leur précipitation en présence de l'antigène reconnu, produit des arcs.

L'électro-synérèse :

Cette technique consiste à faire migrer simultanément dans le gel, les antigènes et les anticorps déposés dans des puits.

II.1.6. Test d'agglutination direct (D.A.T.) :

La première référence à l'agglutination des leishmanies (promastigotes) par des anticorps, remonte à Nicolle en 1909 (Nicolle et Manceaux, 1909). Elle ne fut appliquée au diagnostic de la leishmaniose canine qu'en 1989 par Harith et collaborateurs.

Le principe de la technique :

L'agglutination est provoquée par la réunion des anticorps et des antigènes qui ont une structure particulière.

La réaction est positive lors de l'agglutination sous forme de voile des promastigotes au fond du puit réactionnel de la palque.

Une sédimentation des leishmanies en "bouton" détermine une réaction négative (Charrol, 1989).

Elle a une sensibilité de 95% et une spécificité de 100% (Monjour, 1993). Elle a également une sensibilité supérieure à l'I.F.I., (De Korte et Coll., 1990).

C'est une méthode simple, rapide et spécifique, très utile dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques (Bianchi, 2001).

Elle présente certains inconvénients; Elle nécessite l'utilisation de leishmanies vivantes ou le taux d'agglutination est variable d'une souche à l'autre. De plus elle nécessite une quantité importante de parasites (Charrol, 1989).

Cette technique a été développée par la réaction de Dog-DAT utilisant un antigène stable à température ambiante. La spécificité et la sensibilité sont excellentes (Oskman et coll., 1996).

II.1.7. Le test d'agglutination au latex:

Le principe de la technique: (Grezel et coll., 1994).

Les antigènes leishmaniens sont fixés de façon covalente sur des billes de latex.

On fait réagir pendant 5 minutes, ces billes avec les sérums de chien à tester.

La réaction est positive, c'est à dire formation du complexe billes- antigènes- anticorps, s'il y a précipitation sous forme d'agglutination jaunâtre.

La réaction est négative si il y a présence d'un voile jaunâtre homogène. Ce test a une sensibilité de 95% et une spécificité de 94% (Grezel, et coll., 1994). La sensibilité de ce test par rapport à l'I.F.I. est de 93.4%.(Dereure, 1998).

Cette technique est simple, rapide, sensible et spécifique. Elle peut être utilisée dans les enquêtes de "terrain" pour l'animal et pour l'homme. (Dereure, 1998).

II.1. 8 Western Blot ou Immuno- Empreinte:

Cette technique est utilisée en médecine vétérinaire (Miquel, 1997). Son utilisation se justifie dans la leishmaniose humaine dans les cas de sérologies douteuses et particulièrement chez les sujets immunodéprimés (Bianchi, 2001).

Le principe de la technique :

Les antigènes sont séparés selon leur poids moléculaire par un gel d'électrophorèse avant leur transfert sur une membrane de nitrocellulose.

Les anticorps se fixent spécifiquement sur l'antigène reconnu et caractérisé par un poids moléculaire particulier.

Les antigènes de poids moléculaire 14 -16 Kd sont considérés comme les plus spécifiques pour le diagnostic de la leishmaniose canine. Cette technique a une sensibilité de 100% et une spécificité de 98% (Miquel,1997).

II.1.9 La P.C.R. (Polymérase Chain Réaction) :

La P.C.R. est une technique de biologie moléculaire mise au point par Mullis (Mullis, 1990).

Le Principe de la technique :

Elle consiste en une amplification de courtes séquences d'ADN situées entre deux amorces d'oligo-nucléotides, grâce à une enzyme la Taq polymérase (Angut ,1991).

Les fragments d'ADN sont visualisés, par l'électrophorèse sur gel d'agarose associé à une coloration au bromure d'éthidium, faisant apparaître une bande d'ADN homogène après une transillumination aux rayons U.V. (Ambroise - Thomas et Golvan, 1994).

Ashford et ses collaborateurs ont comparé la P.C.R. et la sérologie chez le chien parasité par *L. infantum*:

La P.C.R. s'est avérée sensible à 100% des cas testés et très spécifiques alors que la sérologie ne permettait le diagnostic que dans 63% des cas. (Ashford et coll ,1995). Berrahal et collaborateurs (1996), ont recherché le parasite dans des biopsies cutanées provenant de 30 chiens sains vivant en zone de forte transmission : La P.C.R. a permis la détection du parasite chez 80% de ces chiens asymptomatiques alors que la sérologie était négative chez tous les animaux.

Real et coll. (1999) ont recherché le parasite dans les sucs des nœuds lymphatiques et dans le sang. La P.C.R. a donné une spécificité, une sensibilité et une positivité de 100%, au niveau des nœuds lymphatiques, par contre les résultats étaient respectivement 80% de spécificité, 85% de sensibilité et 95% de positivité, en recherchant le génome leishmanien dans le sang.

- La sensibilité de la P.C.R. est élevée juste après l'infection (88%), puis diminue jusqu'à 50% dans les mois qui suivent l'infection. Inversement, la sensibilité de la sérologie est faible en début d'infection (41%), puis devient très élevée par la suite (93% -100%). (Quinell et coll., 2001).

L'avantage majeur de cette technique est sa sensibilité. La détection d'un seul parasite est théoriquement possible mais la sensibilité réelle est de l'ordre de 5 à 100 parasites (Qiao et coll., 1995).

La P.C.R. permet, en outre de réaliser un typage moléculaire des souches sans passer par la culture. Ce typage est basé sur l'analyse de séquences moins conservées de l'ADN kinétoplastique de gènes codant pour la petite sous unité du RNA ribosomal (Gramiccia et coll., 1992) (Lee et coll., 1995).

III. Les examens complémentaires :

III.1. Le test de formol- leuco - gélification (F.L.G.) :

C'est un test rapide qui permet de mettre en évidence une hyperprotidémie, et l'inversion du rapport albumine / globuline. Ce rapport est de 0.1 (Giaffret, 1976). Mackie et Napier avaient signalé dès 1924, l'intérêt de la formol - leuco - gélification dans le diagnostic du kala-azar de l'homme. En 1929, Donatien et Lestquard l'ont appliqué au diagnostic de la leishmaniose canine. (Mahine et Coll., 1985).

Principe de la technique :

Il consiste en l'addition de deux gouttes de formol à 1 ml de sérum. Si au bout d'une heure on observe une gélification et une opalescence du mélange ; la réaction est dite positive. (Mahine et Coll., 1985).

Ce test n'est pas spécifique de la leishmaniose même s'il reste la référence pour de nombreux pays (Népal, Bangladesh, etc...). Ce test a une spécificité de 87% et une sensibilité de 98%. (Bourdeau., 1996).

III.2. Dosage des protéines sériques par l'électrophorèse :

L'électrophorèse des protéines permet d'affiner l'approche d'une hyperprotéïnémie de 80 à 90 g/l ou parfois de 100 à 130 g/l (Groulade, 1977).

Chez un chien leishmanien, le tracé électrophorétique montre une baisse de l'albumine couplée à une élévation des globulines bêta et gamma (Denerolle, 1996).

Cette perturbation est variable suivant le stade d'évolution de la maladie, précède les symptômes cliniques plusieurs semaines (Groulade et Bourdeau ., 1988). Néanmoins, en phase terminale, les lésions rénales provoquent une fuite protéique, ce qui peut masquer la dysprotéïnémie, car les protéines totales reviennent dans les normes (Giaffret et coll.1976).

Chez le sujet traité, une augmentation progressive des albumines et une baisse des gammaglobulines est constatée. (Groulade, 1977).

III.3. Examens hématologiques :

- L'anémie chez le chien se définit par un taux d'hémoglobine inférieur à 12 g/l (Tvedten, 1981).

L'anémie est normochrome, normocytaire,. Elle semble relever essentiellement d'un mécanisme d'hémolyse extra - corpusculaire parfois auto-immun dont le siège est splénique. (Cabassu, et coll., 1988). Une leucocytose peut être associée à une leishmaniose débutante ou stabilisée. La leucopénie est par contre liée à l'apparition des symptômes ou l'ancienneté de la maladie et résulte d'une lymphopénie (chute des lymphocytes B et T). La monocytose est fréquente mais pas systématique. On peut rencontrer une éosinophilie (Bourdoiseau b et coll.1997).

III.4. Examens biochimiques :

Ces examens concernent la fonction rénale. Chez le chien leishmanien, il y a une élévation du taux de créatinine tardive par rapport à celle du l'urée. Ce phénomène serait lié à la fonte musculaire. (Cabassu et coll.1988).

III.5. Le typage iso enzymatique :

La première application aux leishmanies a été faite par Gardener et collaborateurs en 1974. Ils ont utilisé la mobilité électrophorétique de la malate déshydrogénase pour différencier plusieurs groupes.

Grâce à l'étude parallèle d'un nombre suffisant de systèmes enzymatiques choisis, il est possible de caractériser divers souches par leur "profil enzymatique" respectif et de les regrouper en unités homogènes au plan électrophorétique : **Les zymodèmes** (Godfrey, 1979). L'électrophorèse des iso enzymes constitue la méthode la plus courante pour l'identification des souches de *Leishmania*.

A partir du travail de Lanotte et collaborateurs en 1981, l'électrophorèse des iso enzymes est utilisée à des fins taxonomiques.

Comme application de l'analyse des iso enzymes c'est l'étude éco - épidémiologique des foyers leishmaniens pour déterminer les vrais vecteurs, et aussi peut être, une aide au diagnostic clinique par l'identification de l'agent pathogène en cause (Pratlong et coll, 1995)

En dépit de l'apparition de nouvelles techniques et de l'amélioration des performances des techniques classiques, le diagnostic de la leishmaniose canine et loin d'avoir trouvé un test facile, économique, rapide et de 100% sensible et spécifique. (Gradoni, 2002).

CHAPITRE VII : L'IMMUNITÉ DURANT LA LEISHMANIOSE.

L'immunité humorale :

L'immunité chez le chien est la conséquence de la prédisposition pour le développement d'une immunité humorale mais non protectrice (Lanotte et coll., 1979). Les principaux anticorps produits sont des IgG (Martinez et coll ; 1995).

Dans l'infection expérimentale, ces anticorps, apparaissent 1 à 4 mois après l'infection. (Abranches, 1991 ; Nieto et coll., 1999, Reira et coll 1999).

Il a été démontré que les IgG1 sont associés au développement de la maladie et les IgG2 sont liés à une infection asymptomatique (Bourdoiseau et Coll ., 1997a, Deplazes et coll., 1995).

Dans le cas de traitement de cette maladie, l'amélioration de l'état clinique est souvent accompagnée d'une diminution du taux d'Ac. spécifiques (Lanotte et coll ; 1979, Mancianti et Meciani ; 1998, Riera et coll 1999). L'amélioration de l'état clinique, n'est pas toujours associée à une diminution des Ac. spécifiques (Ferrer et coll ; 1995).

II. L'Immunité cellulaire :

Chez les chiens à leishmaniose développée, présentent un taux d'anticorps élevé, mais un taux de lymphocytes spécifiques faible et ne développent pas de réaction d'hypersensibilité retardée (Abranches et coll. ; 1991).

Les promastigotes injectés, sont confrontés à une première barrière de protéines du complément. Le promastigote échappe à l'action lytique du complément par la protéine gp63, qui favorise la protéolyse de C3b et sa conversion en molécule inactive C3bi. De plus, les promastigotes possèdent à la surface de leur membrane plasmique une protéine kinase qui inactive le C3 et le C3b. De plus ils sont protégés de la lyse par la présence à leur surface de LPG qui bloque l'accès des complexes C5b-9 à la membrane plasmique (Filippi et Coll., 2001)

Les macrophages phagocytent les leishmanies. Une fois à l'intérieur des cellules, les promastigotes induisent la formation de vacuoles parasitophores ou ils se transforment en amastigotes. Les vacuoles parasitophores bien que présentes un pH acide, les leishmanies sont des organismes acidophiles dont le métabolisme est optimal entre pH4 et pH 5.5. ; Ils résistent aux hydrolases et aux protéases lysosomiales. (Filippi et Coll., 2001)

L'infection des macrophages par les leishmanies va induire la production de cytokines (TNF- α , IL-12, IL-1, IL-6). Les leishmanies bloquent la production des dérivés actifs de l'oxygène et le monoxyde d'azote (NO) produit par les macrophages infectés, via le LPG et la gp63 qui inhibent la production des dérivés oxygénés en agissant sur la protéine kinase. (Filippi et Coll., 2001)

Les cellules dendritiques qui ont migré dans le derme (Langerhans) phagocytent les antigènes leishmaniens ou les leishmanies ayant échappés à la destruction, puis migrent vers les ganglions satellite pour activer les lymphocytes T. (Filippi et Coll., 2001)

Les macrophages infectés par les leishmanies ne produisent que peu ou pas d'IL -12, une cytokine déterminante dans le developement d'une immunité protectrice de par son rôle d'activateur puissant des cellules NK. Elle agit directement sur les cellules T CD4+ naïves en activant la transcription du gène de l'INF γ et inhibe celle du gène de l'IL-4. qui a un rôle dans la transformation des cellules naïves en Th2. (rôle dans la production d'anticorps)(Fig.5).

L'expansion des lymphocytes T anti-parasites dans le ganglion est maximale 3 jours après l'infection, puis sont retrouvés dans la circulation sanguine, la rate et dans le foie. Une fois activés les lymphocytes se différencient en cellules effectrice (Th1) productrices de cytokine (INF γ) qui est indispensable au contrôle de la multiplication du parasite.

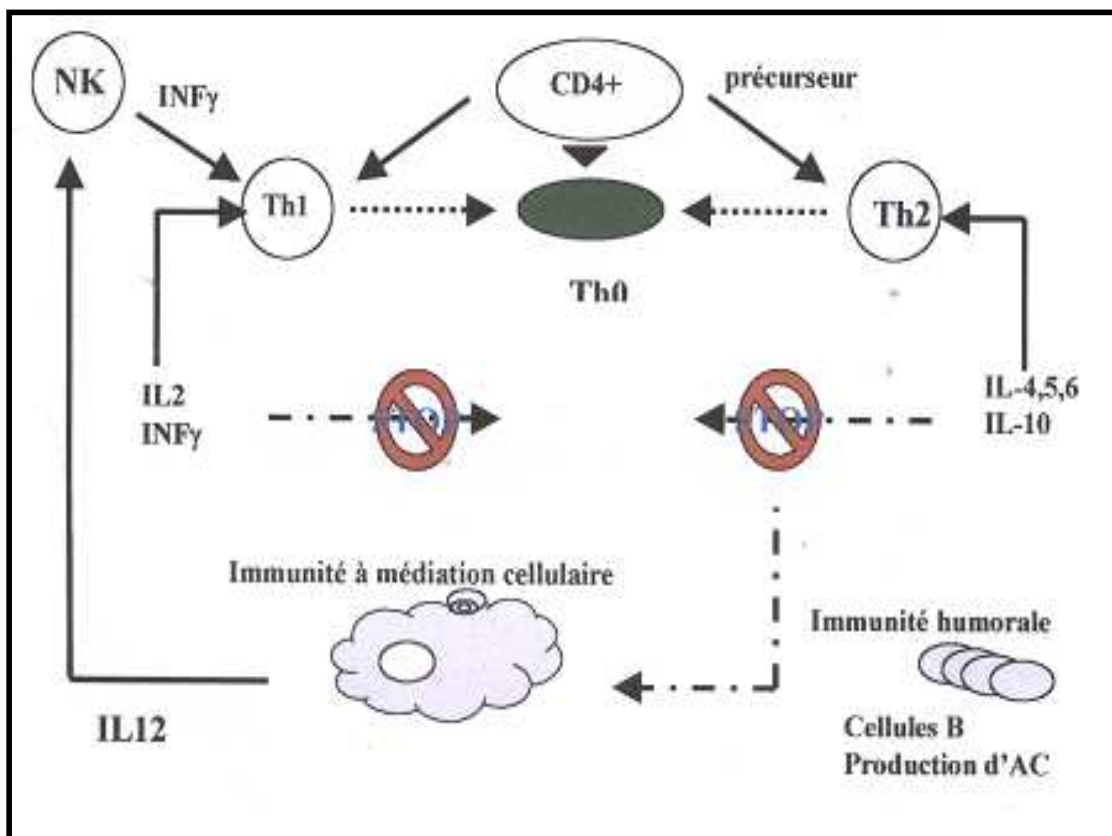


Figure n°5 : Schéma de la régulation de TH1/TH2. (Locksley et Reiner, 1995)

CHAPITRE VIII : La vaccination contre la leishmaniose canine

Le chien est le principal réservoir de la leishmaniose viscérale humaine causée par *L. infantum*. Les traitements existant ont une efficacité limitée, et les études préliminaires suggèrent la vaccination contre la leishmaniose canine (Jaffe, 1999). Des essais notables de vaccination ont été réalisés, notamment ;

1) La vaccination à base de parasites tués ou inactivés : L'étude réalisée par Mayrink et collaborateurs en 1996 sur 10 chiens a donné de bon résultats. En effet, 9 chiens ont été immunisés contre *L. braziliensis*, et ne présentent aucun signe clinique.

2) Un autre essai vaccinal, utilisant la partie purifiée 67 - 94 KDa de *L. infantum* des fractions de promastigotes LiF2 (Dunan et coll ; 1989), n'a pas donné de résultats encourageants.

3) Un nouveau vaccin, composé uniquement de protéines excrétées par le parasite a été testé. D'après les premiers essais sur 18 chiens, 12 d'entre eux ont reçu des doses croissantes de protéines excrétées par le parasite (sit 50, 100, 200 microgrammes) formulés avec un adjuvant. Les 06 autres chiens ne recevant aucun traitement. Après deux injections à trois semaines d'intervalles, tous les chiens ont été infectés avec *L. infantum* puis suivis pendant deux années afin d'étudier la progression de la maladie.

Le mélange de protéines parasitaires s'est avéré particulièrement efficace. En effet, une protection de 100% a été obtenue pour les doses de 100 microgrammes (06 chiens sur 06) et 200 microgrammes (03chiens sur 03) (Lemestre et coll, 2005)

Les chercheurs se sont également penchés sur les modifications immunitaires induites par la vaccination chez les animaux. Des expériences montrent que l'efficacité du vaccin se traduit par une activation de certaines cellules du système immunitaire, comme les lymphocytes T de type Th1.

Ceux ci, induisent la production, par les macrophages infectés, d'un véritable poison cellulaire : l'oxyde nitrique. Ce processus absent chez le chien non traité, permet ainsi au macrophage de se débarrasser des parasites qui les infectent. L'animal est ainsi protégé à long terme contre la leishmaniose (Holzmuler et coll.; 2005)

Bien que ce vaccin n'ait fait ses preuves que sur un nombre limité d'animaux, il constitue un pas vers la protection des chiens contre cette maladie. Il offre également de nouvelles pistes pour la mise au point d'un éventuel vaccin humain.

CHAPITRE IX : LE TRAITEMENT DE LA LEISHMANIOSE CANINE.

Le principe de la thérapeutique de la leishmaniose canine repose sur la destruction des parasites, et le traitement des symptômes et des lésions déterminées par le parasitisme des leishmanies. (Euzéby, 1982)

Les traitements de la leishmaniose permettent souvent une amélioration clinique chez les chiens leishmaniens, mais ils ne suffisent cependant pas à éliminer le portage parasitaire (Banath, 2002)

1 - L'amphotéricine B :

L'amphotéricine B est un macrolide produit par *Streptomyces*. C'est avant tout un antifongique, présentant également une activité contre les protozoaires. Il présente, une certaine toxicité pour le chien par vasoconstriction rénale entraînant une chute de filtration glomérulaire (Banath, 2001)

L'amphotéricine B inhibe la glycolyse des leishmanies, et la respiration des parasites. Il est utilisable sous forme libre, hautement néphrotoxique (Lamothe, 1997).

Un traitement avec l'amphotéricine B (3 -3.3 mg/kg) chez 13 chiens naturellement infestés par *Leishmania infantum*, a donné une amélioration clinique, mais les chiens restent positifs en parasitologie avec des rechutes après l'arrêt de traitement (Oliva, 1995).

2 - Pentamidine :

La pentamidine inhibe la synthèse d'ADN parasite par blocage de thymidine synthétase et par fixation de l'ARN de transfert. L'utilisation de la pentamidine semble donner d'excellents résultats selon Rhalem et collaborateurs (1999). Leur étude a porté sur 08 chiens traités au diméthasulfonate de pentamidine en deux cures séparées de trois semaines : chaque session de traitement consiste en 08 injections intramusculaires de 4 mg /kg, avec un interval de 03 jours entre chaque injection. Les chiens présentent une amélioration clinique et une baisse du taux d'anticorps. Un examen parasite par mise en culture post traitement sur deux chiens donne des résultats négatifs six mois après arrêt du traitement. (Rhalem et coll., 1999).

3 - Les antimonies pentavalents :

L'antimoine à une action inhibitrice sur de l'ATP et sur l'oxydation glycolytique et sur celle des acides gras des leishmanies (Berman et coll., 1988). Ils sont hépato-toxique et néphrotoxique (Joliffe, 1985), mais ils ont aussi une certaine cardiotoxicité à forte dose. La mort survient par collapsus cardiaque (Thakur, 1986).

Le protocole le plus employé en pratique consiste à administrer 100mg / kg de glucanthine par jour pendant 04 semaines : soit en intra musculaire soit en sous cutané (Banath, 2002). La thérapeutique utilisant l'antimoine est coûteuse et difficile à utiliser dans les régions moins favorisées. Elle engendre l'apparition des souches résistantes. (Gramiccia et coll., 1992).

4 - L'aminosidine :

C'est un antibiotique de la famille des aminoglycoside utilisé pour le traitement de la leishmaniose viscérale chez l'homme en Afrique et en Europe (Chang et coll., 1990). Son utilisation dans le traitement de la leishmaniose canine a donné des résultats défavorables. Une étude employant l'aminosidine à la dose 10mg /kg /j par voie sous cutanée pendant 04 semaines sur 12 chiens, 11 chiens présentent une amélioration clinique dans les trente jours. Les 04 chiens prélevés pour la mise en culture à partir des nœuds lymphatiques avant traitement demeurent positifs en parasitologie (Poli et coll, 1997).

5 - L'Allopurinol :

C'est un analogue structural de la purine (Davis, 1987), métabolisé par le parasite et incorporé dans son ARN engendrant une désorganisation de l'acide nucléique et l'interruption de la synthèse protéique (Looker ,1986)

L'allopurinol est largement utilisé, seul ou en association dans le traitement de la leishmaniose canine.

Un essai thérapeutique a été entrepris avec l'allopurinol à la dose de 10mg/kg/j per os, sur 10 chiens, a montré une guérison clinique chez 09 animaux après 02 à 06 mois de traitement, sans rechutes pendant les vingt mois suivants l'observation. Un certain nombre de chiens ont rechuté dès l'arrêt du traitement, pour voir leur état s'améliorer de nouveaux à la reprise du traitement. La plus part des chiens sont restés porteurs du parasite (méthode PCR et culture) (Cavaliero et coll, 1999).

Une étude sur 11 chiens, a obtenue après un traitement à la dose de 5 mg/kg per os, toutes les huit heures, une guérison clinique en deux mois. Les auteurs observent une baisse du taux d'anticorps anti-leishmanies chez 09 chiens, mais la plus part demeurent séropositifs. (Vercammen et coll., 1995)

L'étude de Slappendel et teske (1999) utilisant l'allopurinol à la dose de 20 mg/kg /l, révèle un taux de survie à quatre ans de 78%, à condition que les chiens ne présentent pas d'insuffisance rénale lors de la mise en place du traitement.

Une étude sur 04 chiens leishmaniens, testant la dose de 15 mg /kg/j per os, révèle après l'arrêt du traitement, une nette amélioration clinique, sérologique et parasitologique. Il n' y a pas eu de rechute deux ans après l'arrêt de traitement (Djerbouh et coll., 2005).

L'allopurinol est également utilisé en association avec la méglumine. Une étude menée sur 15 chiens leishmaniens ayant reçus un traitement initial basé par l'administration simultanée d'antimoine de méglumine 100mg/kg/j et d'allopurinol 30 mg/kg/j.

Une fois la rémission clinique obtenue, le maintien du traitement à l'allopurinol 20 mg/kg/j administré à une semaine par mois, a été instauré. Ces chiens ont maintenu leur statut de rémission jusqu'à 44 mois, contrairement au groupe ne recevant pas d'allopurinol en maintenance. (Ginel et coll., 1998).

En résumé, la leishmaniose canine n'a pour l'instant pas trouvé de remède idéal. Afin d'obtenir une guérison parasitaire, de nouvelles molécules et de nouvelles voies d'administration sont nécessaires pour améliorer le traitement de la leishmaniose canine (Banath, 2002)

CHAPITRE X : Les leishmanioses humaines en Algérie :

Les leishmanioses sont connues en Algérie pour y sévir depuis très longtemps. Trois formes y sont rencontrées : deux formes cutanées et une forme viscérale :

1. La forme cutanée zoonotique :

La première forme cutanée a été rapportée à Biskra en 1860, par Hamel (1860). Depuis, elle s'est étendue aux régions steppiques voisines, notamment M'sila et Bou Saada, où plusieurs milliers de cas ont été recensés. (Belazzoug, 1982). Le parasite incriminé est *Leishmania major* Mon - 25 (Belazzoug, 1984). Son vecteur le plus connu est *Phlébotomus papatasi* (Belazzoug, 1986 b). Le réservoir qui assure l'entretien du parasite est un rongeur *Gerbillidae* "*Psammomys obesus* " (Belazzoug, 1983). Le "*Meriones shawi*" a été également trouvé naturellement infesté par *leishmania sp.* (Bellazoug, 1986 a).

2. La leishmaniose cutanée du nord :

Elle fût décrite pour la première fois en 1909, par Cambillet à Tenés (Cambillet, 1909) et par Gros en Kabylie, la même année.

Ce variant appartient au zymodème Mon-24 (Belazzoug et coll, 1985)

La transmission du parasite est assurée par *Phlébotomus perfiliewi*, trouvé naturellement infesté par le variant enzymatique *Leishmania infantum* Mon – 24, dans la localité de Ténès, foyer actif de la leishmaniose cutanée du nord (Izri et Bellazoug, 1993)

3. La leishmaniose viscérale :

Cette forme fut décrite pour la première fois en Algérie, par Lemaire en 1911. Elle atteint aussi bien l'enfant que l'adulte, bien qu'elle soit plus fréquente chez l'enfant (Harrat et coll, 1995b). Elle sévit à l'état endémique au nord du pays à l'étage bioclimatique sub-humide et semi aride. Le nombre annuel de nouveaux cas est estimé à 400. (Harrat et coll, 1995 b)

Leishmania infantum zymodème Mon–1 est l'agent pathogène le plus fréquentement isolé chez les enfants atteints de Leishmaniose viscérale. Il a pour réservoir le chien (Belazzoug, 1986 b). Cette leishmaniose viscérale à comme vecteur principale *Phelebotomus perniciosus* (Izri et Coll., 1990).

D'autres agents appartenant au même complexe : *Leishmania infantum* Mon–34, et Mon–80, (Harrat et coll., 1995 c), et *Leishmania infantum* Mon – 24, (Benikhlef et coll., 2000), ont été également signalés.

D'autres cas de Leishmaniose viscérale sont signalés dans le Hoggar, et dans le Tassili N'ajjar (Harrat et coll., 1992). Le foyer le plus actif reste celui de la Grande Kabylie qui regroupe à lui seul près de 50 % de cas diagnostiqués. (Harrat et coll., 1992).

CHAPITRE XI : LUTTE ET PREVENTION

I. PROGRAMME DE LUTTE CONTRE LES LEISHMANIOSES VISCERALES ZOONOTIQUES PROPOSES PAR L'OMS (1990) :

I.1. Lutte anti-vectorielle :

Pulvérisation d'insecticides ayant une bonne rémanence, dans les habitations, dans les zones domestiques et peri-domestiques.

I.2. Lutte contre le réservoir (Chien) :

Les chiens constituent le principal réservoir domestique et le dépistage de masse est basé sur la sérologie. Les chiens leishmaniens doivent être abattus lorsqu'on est certain qu'ils sont source d'infection pour le vecteur. Malheureusement la stratégie actuelle d'élimination est décevante car elle ne produit qu'un effet passager.

En Europe (France), les vétérinaires suggèrent de traiter les chiens de façon répétée avec les antimonies pentavalents. Cette méthode n'est pas totalement satisfaisante car ces mêmes médicaments sont utilisés pour traiter la leishmaniose humaine et cela pourrait entraîner l'apparition de parasites résistants. De plus, le traitement des chiens financièrement abordable par les propriétaires, n'a qu'une efficacité partielle, car la plus part des animaux font des rechutes.

II. PROGRAMME DE LUTTE CONTRE LES LEISHMANIOSES VISCERALES ZOONOTIQUES APPLIQUES PAR LES BUREAUX D'HYGIENES EN ALGERIE :

I.1. Lutte anti-vectorielle :

Vu le manque de traitements et des vaccins prophylactiques efficaces (Dunan et coll.; 1989), dans les régions endémiques, la prévention de la maladie est difficile. Elle est dépendante essentiellement du contrôle de l'insecte vecteur.

Les principaux produits utilisés par les bureaux d'hygiène pour la lutte contre le vecteur, sont des sprays utilisés pour pulvériser les murs, les habitations, et les chambres.

La Deltamethrine à 0.025 g/m^2 avec une rémanence de 6 mois, est appliquée tous les six mois (poudre, 25g pour 1L d'eau).(programme de lutte des bureaux d'hygiène, Algérie)

La Permethrine à 0.025 g/m^2 avec une rémanence de 3 mois, est appliquée tous les 3 mois.

I.2. LUTTE CONTRE LE RESERVOIRE (CHIEN) :

La leishmaniose est une maladie à déclaration obligatoire (Loi n° 88-08 du 26 Janvier 1988 relative à la médecine vétérinaire et la protection de la santé animale et le journal officiel n° 64 du 29 Septembre 2002).

Actuellement, il n'existe aucun programme de lutte contre le réservoir de la leishmaniose canine en Algérie.

**Partie
Pratique**

OBJECTIFS :

Le chien est connu pour être le principal réservoir de la leishmaniose canine à *L. infantum*. La leishmaniose canine est actuellement en perpétuelle recrudescence dans notre pays (37,5%)(Harrat et Belkaid, 2002). Cette affection cantonnée il y a une vingtaine d'années dans la région de la kabylie, (Tizi Ouzou), sévit actuellement dans d'autres wilayates, notamment Blida et Alger.

Dans la région d'Alger, des cas ponctuels de leishmanioses canines ont été diagnostiqués, durant les années 80. Actuellement (depuis la fin des années 90) de nouveaux cas sont dépistés en particulier dans certaines communes de la wilaya.

Notre étude se propose d'évaluer la séroprévalence de la leishmaniose canine à travers la wilaya d'Alger. Pour cela, des prélèvements effectués sur 305 chiens, ont été réalisés grâce à la collaboration des vétérinaires privés répartis dans toute la région durant 16 mois (décembre 2004 – Avril 2006), grâce aux collègues de la fourrière canine d'Alger et grâce aux collègues de l'Ecole Nationale Vétérinaire – Alger.

CHAPITRE I : MATERIELS UTILISES DANS NOTRE ETUDE.

I. La durée de l'étude :

Notre étude pratique s'est étalée sur 16 mois (Décembre 2004 à Avril 2006), au cours de laquelle, nous avons procédé à des prélèvements sur chiens et des manipulations de laboratoire (I.P.A. et ENV-Alger).

II. La région d'étude :

Trente sept (37) communes et Daïra ont été concernées par cette étude (Zéralda Staoueli, Bainem Aïn benian , chéraga, bouchaoui , Ouled-Fayet Soudania, Rahmania ,Douéra , Khraicia Birtouta, Ouled- Chebel , Bouzareah ,Beni-Messous, Delly-Ibrahim, El-Achour, Draria Baba-Hassen, Bab-El-Oued, Télémy, El Biar Chevalley, Ben-Aknoun, Hydra, El-Madania, Sidi M'hamed, Kouba, Aïn naâdja, Bach- Djarah, El-Harrach, Baraki, Eucalyptus, Bab-Ezzouar, , Sidi-Moussa, Ain Taya, Rouïba, Bordj-El-bahri, Reghaïa, Heuraoua).

Les différents prélèvements, ont été effectués chez les vétérinaires praticiens, au niveau de la clinique canine de l'Ecole Nationale Vétérinaire – Alger, la fourrière canine d'Alger et sur des chiens à domicile. Cependant, la plus grande partie des prélèvements a été réalisée au niveau des chenils et des centres d'élevages et de dressage des chiens.

Nous avons effectué des visites quotidiennes dans les cabinets vétérinaires afin de réaliser sur les chiens, une prise de sang sur tube sec et sur tube citraté, et une ponction ganglionnaire lorsque l'animal présentait une hypertrophie ganglionnaire.

II. L'effectif canin :

Un total de **305** chiens, provenant de plusieurs communes, et Daïras, ont fait l'objet de notre étude.

- Le sexe :

Sur les 305 chiens prélevés, 210 sont de sexe masculin et 95 sont de sexe féminin. (Tableau I).

Tableau I : Effectif des chiens étudiés selon le sexe

Le sexe	Nombre de chiens	Pourcentage
♂	210	68,85%
♀	95	31,45 %

- Les races :

Les 305 chiens prélevés appartiennent à différentes races, avec une prédominance de Bergers Allemands, et de la race commune. Nous avons comptabilisé un total de 19 races. (Tableau II).

Tableau II : Les différentes races de chiens prélevés.

Les races de chiens	Le nombre de chiens	Le pourcentage
1) Berger Allemand	156	51,14
2) Race commune	65	21,31
3) Rotweiller	9	02.95
4) Doberman	6	01.96
5) Pitbull	10	03.27
6) Caniche	3	00.98
7) Beagle	6	01.96
8) Griffon.	8	02.62
9) Courrant.	11	03.60
10) Basset	5	01.63
11) Berger Belge Malinois	5	01.63
12) Berger belge Hollandais.	1	00.32
13) Schnawsar Grand	2	00.65
14) Schnawsar petit	4	01.31
15) Dog allemand.	8	02.62
16) Berger Belge Tervuren	3	00.98
17) Montagnes des Pyrénées	1	00.32
18) Bleu de Gaston	1	00.32
19) Bruno de jura	1	00.32

CHAPITRE II : METHODES UTILISEES DANS NOTRE ETUDE.

I. Méthodes de prélèvements :

Le prélèvement de sang s'effectue au niveau de la veine saphène de l'avant bras du chien.

Après une désinfection de la région de l'avant bras et son rasage, on pratique un garrot. Le prélèvement est effectué à l'aide d'une aiguille 1.2 x 40 mm montée sur un porte-vacutainer. Le sang est recueilli soit dans un tube stérile de 5 ml, soit dans une seringue stérile. (Tube sec et tube citraté)

C'est une technique de prélèvement difficile à réaliser car elle nécessite une bonne contention de chien, et elle ne permet pas de prélever des volumes importants de sang du fait du petit calibre de la veine.

I.1. Traitement du prélèvement sanguin :

I.1.1. Sang prélevé sur tube sec :

Une fois le sang décanté à la température ambiante, le sérum est récupéré après centrifugation à 2500 t /mn pendant 10 mn et transféré dans un tube de conservation.

Les sérums sont conservés à +4 °C pour être utilisés 3 à 6 jours après pour le test d'immunofluorescence indirecte.

I.1.2. Sang prélevé sur tube citraté :

Le sang est recueilli sur tube contenant 0,5 ml de citrate de sodium et 100.000 U.I. de Pénicilline G.

Après centrifugation à 2500 t/ mn pendant 10 minutes, l'interface composée de globules blancs, est prélevée stérilement etensemencée sur 02 tubes de milieux de culture N.N.N, et 01 tube de milieux S.L.C. additionnés de quelques gouttes d'eau physiologique à 0,9 %.

Incubation des tubes dans l'étuve à 24 °C et contrôle des repiquages tous les 7 jours.

* La culture est considérée négative après 4 repiquages successifs durant 1 mois (Absence de leishmanies : forme promastigote)

* La culture positive seraensemencée sur le milieu C.C.S. pour la culture en masse des leishmanies (culture en masse).

II. Méthodes utilisées pour le diagnostic sérologique de la leishmaniose :

Plusieurs méthodes de diagnostic de la leishmaniose sont utilisées dans ce travail. Elles sont effectuées au niveau du Centre Nationale de Références sur les Leishmanioses de l'Institut Pasteur

Pour le diagnostic sérologique de la leishmaniose canine, le test de l'immunofluorescence indirect (I.F.I.) avec un seuil de positivité de 1/80 est choisie et réalisée au niveau du Centre Nationale de Références sur les Leishmanioses de l'Institut Pasteur. Le test d'immuno-migration rapide de Witness *leishmania*® est réalisée au niveau de laboratoire de parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire - Alger. :

II.1. Le test de l'immunofluorescence indirecte :

Principe :

Révélation de la réaction, antigène figuré (promastigotes) et anticorps par l'adjonction d'anti-globuline marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine, sous la lumière ultra violette (U.V.).

II.1.1. Préparation de l'antigène figuré pour l'I.F.I. :

La culture en masse et la récolte des parasites se font selon le même protocole que celui utilisé pour le typage enzymatique.

Le culot récupéré après la récolte, est mis en suspension dans l'eau physiologique à 0.9‰ à la concentration de 2.000 promastigotes/mm³ (comptage sur cellule de Thomas).

L'antigène est déposé sur une lame à raison d'une goutte par puit et séché dans une étuve ventilée.

Les lames d'antigènes sont stockées au congélateur à -20°C, jusqu'au moment de leur utilisation. La conservation de l'antigène ne doit pas dépasser 6 mois.

Les étapes du test :

Les lames sont décongelées puis séchées à l'étuve à 37° C pendant 15 minutes.

Elles sont ensuite fixées à l'acétone pendant 10 minutes à - 20 °C puis resséchées à 37 °C pendant 10 à 15 minutes.

II.1.2. Réalisation des dilutions des sérums :

A - Les sérums témoins :

Témoin positif : mettre dans un tube 0,1 ml de sérum et 1,9ml de PBS (annexe) pour obtenir une dilution de 1/20.

Témoin négatif : Même principe que pour le témoin positif.

B - Les sérums à tester :

Les sérums subissent des dilutions sériées au 1/20^{ème} pour la première dilution et au 1/2 pour les suivantes. (Fig. 2a)

Pour l'option des différentes dilutions les étapes suivantes ont été réalisées :

► La dilution au $1/20^{\text{ème}}$: Dans un tube, 0,1 µl de sérum total est dilué dans 1,9 µl de P.B.S.

► La dilution au $1/40^{\text{ème}}$: Dans un tube, 0,5 µl de la dilution au $1/20^{\text{ème}}$ est diluée dans 0,5 µl de PBS

► Les dilutions au $1/80^{\text{ème}}$, $1/160^{\text{ème}}$, $1/320^{\text{ème}}$, et $1/640^{\text{ème}}$: Dans un tube, 0,5 µl des dilutions précédentes sont diluées successivement dans 0,5 µl de P.B.S.

II.1.2. Dépôt des sérums :

Des lames spécialement faites pour recevoir plusieurs gouttes de sérums sont utilisées pour ce test. Ces lames sont composées de 18 spots. (Fig.2b)

Une goutte de chaque dilution des sérums est déposée sur le spot correspondant d'une lame.

Les lames sont alors incubées à l'étuve à 37°C pendant 30 minutes, puis lavées au P.B.S. pendant 10 minutes, suivies d'un séchage.

II.1.3. Contact avec l'anti - IgG fluorescente :

- Une goutte de l'anti- Ig G dilué au $1/100^{\text{ème}}$ dans 01 ml de PBS, puis une goutte du système révélateur est distribuée dans chaque spot.

- La lame est incubée à 37°C à l'étuve pendant 30 minutes, suivies d'un lavage au PBS et d'un séchage.

- Le bleu d'Evans dilué au $1/10.000^{\text{ème}}$, est distribué sur les spots et incubé à 37°C pendant 20 minutes à l'étuve.

- Enfin un dernier lavage au PBS pendant 10 minutes est réalisé.

- Dans un dernier lieu, un montage entre lame et lamelle est effectué avec de la glycérine tamponnée pH =7.2

- La lecture se fait au microscope à Ultra violet (U.V.) au grossissement 40.

Les résultats :

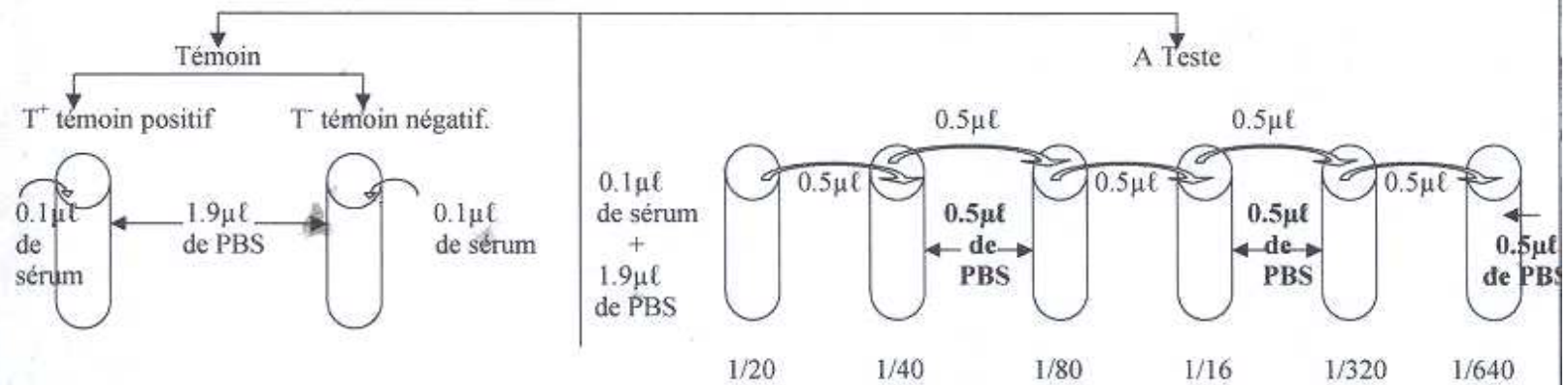
Un résultat positif révèle des leishmanies fluorescentes (vert)

Un résultat négatif révèle des leishmanies colorées en rouge.

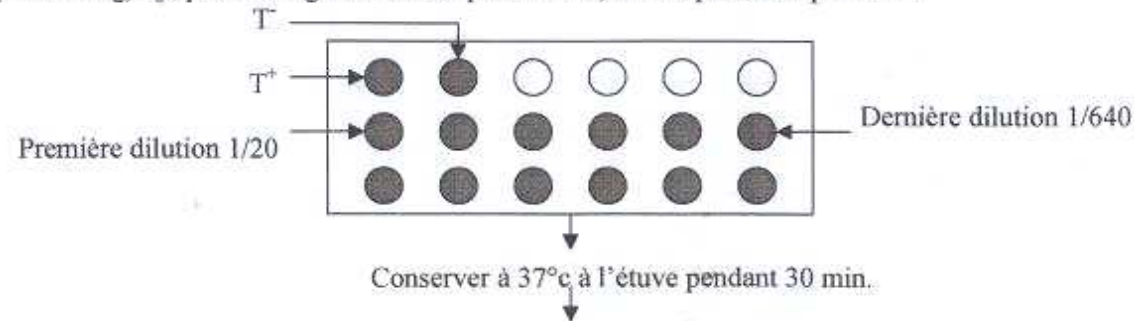
REACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE

- l'Ag déposer sur lame est conservé au congélateur, puis à l'étuve 30 min à 37°C.
- Fixation à l'acétone, à -20°C pendant 10 min, puis sécher à l'étuve 30 min à 37°C.

Premier temps : La dilution des sérums



Faire contact (sérum- Ag) : déposer une goutte de chaque dilution, sur le spot correspondant :



Lavage au PBS pendant 10 minutes puis séchage

Deuxième temps : Contact de l'anti-IgG fluorescente : une goutte de l'anti-IgG 1ml de PBS

1/100



Une goutte de la dilution du système révélateur dans chaque spot



Incuber à 37 °C à l'étuve pendant 30 minutes



Lavage au PBS pendant 10 minutes puis séchage



Mettre le bleu d'EVANS, diluer au 1/10000 et Incuber à 37 °C pendant 20 min à l'étuve.



Lavage au PBS pendant 10 minutes puis séchage.



Montage entre lame et lamelle avec de la glycérine tamponnée.



Lecture au microscope à U.V. au G 40 : → Fluorescence verte positive

→ Rouge négatif

Figure n°1a : Les différentes étapes de la technique d'Immunofluorescence Indirecte.

(Garni, 2001)

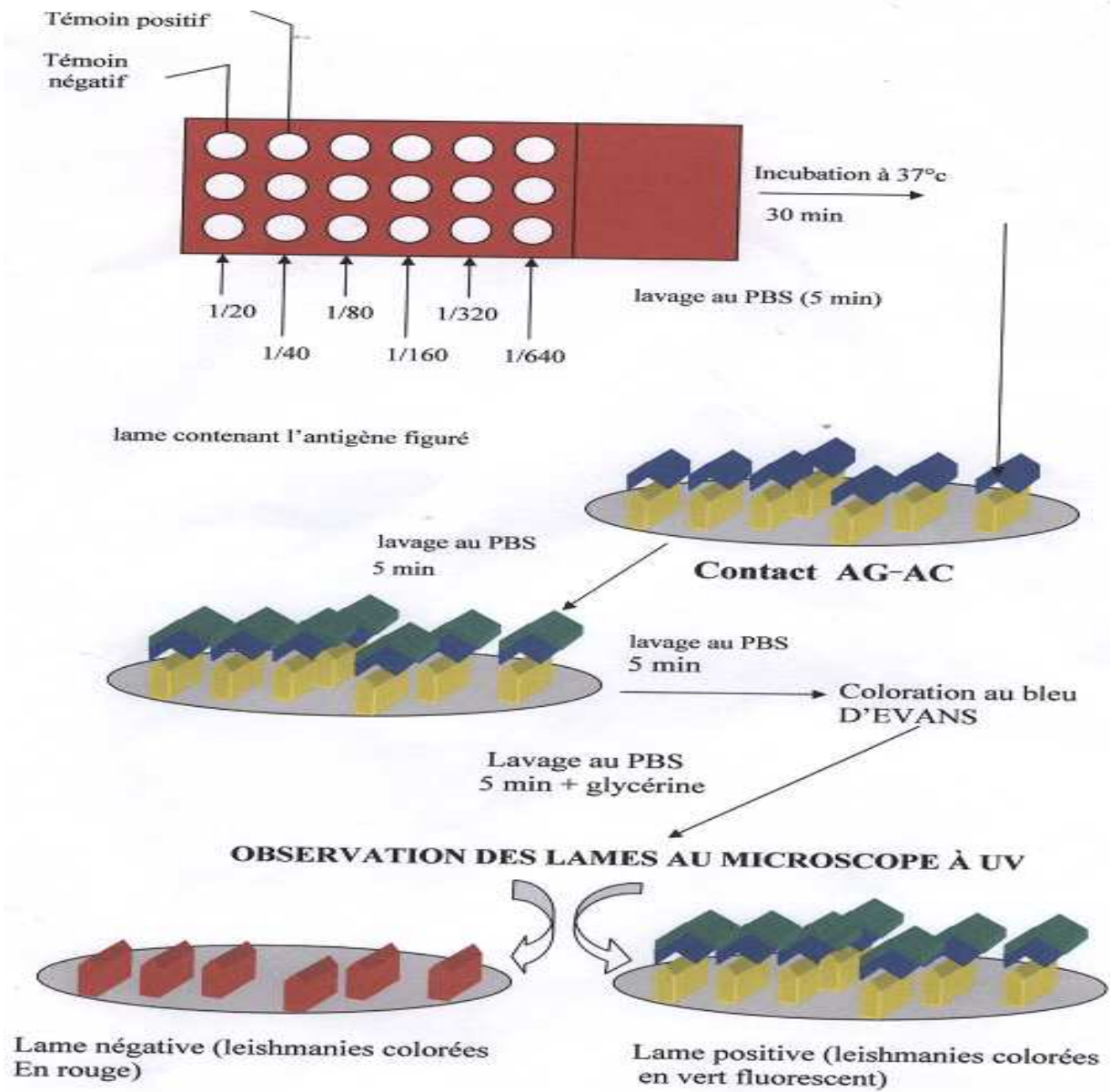


Figure n° 1b : Les différentes étapes de la technique d'Immunofluorescence Indirecte. (Suite 2)
(Garni, 2001)

II.2. Witness Leishmania :

Principe du test

Le test witness *leishmania* est un test de réalisation simple, basé sur une immuno-migration rapide.

L'échantillon à tester contenant les anticorps anti-*leishmania* (sang total, sérum, ou plasma) est mis en contact avec des particules d'or colloïdal sensibilisées. Le complexe ainsi formé migre sur une membrane avant d'être capturé sur une membrane réactive, au niveau de laquelle sa concentration provoque la formation d'une bande de couleur rose clairement visible. Une bande de contrôle, située à l'extrémité de la membrane, permet de s'assurer que le test a été réalisé correctement.

Ce test peut être réalisé sur du sang total, du sérum ou du plasma. Pour le sang total, l'échantillon doit être prélevé avec un anticoagulant (citrate ou héparine)

II.2.1.Réalisation du test et résultats :

A - Préparation de l'échantillon :

- La plaquette test (1) est retirée de son etui, et placée sur une surface plane.
- L'échantillon est déposé grâce à la pipette fournie en la maintenant verticalement.
- 2 fois 5 microlitres sont répartis dans le puit échantillon. (Fig.3)



Figure n°2 : Dépôt de l'échantillon pour le test W.L.

B - Répartition de la solution tampon :

S'assurer que l'échantillon a bien diffusé dans la membrane.

4 gouttes de la solution tampon (flacon) maintenue verticalement sont réparties dans le puit échantillon.



Figure n°3 : Dépôt de la solution tampon.

Laisser la membrane s'imprégner entre chaque goutte.

La plaquette test est laissée bien à plat durant tout le temps de la migration du complexe échantillon / réactif sur la bandelette, à savoir 10 minutes maximum.

C – Lecture du test :

Au terme des 10 minutes, on recherche la présence ou l'absence de bandes de couleur rose dans les fenêtres, (2) et (3) (Fig.6).

D - Résultats :

- **Validation :** Le test est validé si une bande est présente dans la fenêtre de lecture au niveau du repère correspondant (3).

- Interprétation :

- Absence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (2) et apparition d'une bande au niveau du repère (3) : **Négatif en anticorps anti – leishmania.**

- Présence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (3) : **Positif en anticorps anti – leishmania.**



Figure n°4 : Résultat négatif (présence d'une seule bande au niveau du repère n°3)



Figure n°5 : Résultat positif (présence de deux bandes au niveau des repères 2 et 3)

III. Méthodes utilisées pour le diagnostic parasitologique de la leishmaniose :

Pour le diagnostic parasitologique, ont a effectué deux méthodes de culture, à partir des prélèvements sanguins, et des sucs ganglionnaires. Ces deux méthodes sont très délicates car les leishmanies poussent difficilement sur les milieux de cultures.

III.1. Isolement des leishmanies :

Les leishmanies ont été isolées à partir de sang citraté et des sucs ganglionnaires prélevés sur les chiens.

III.1.1. Hémocultures : (Fig. 7)

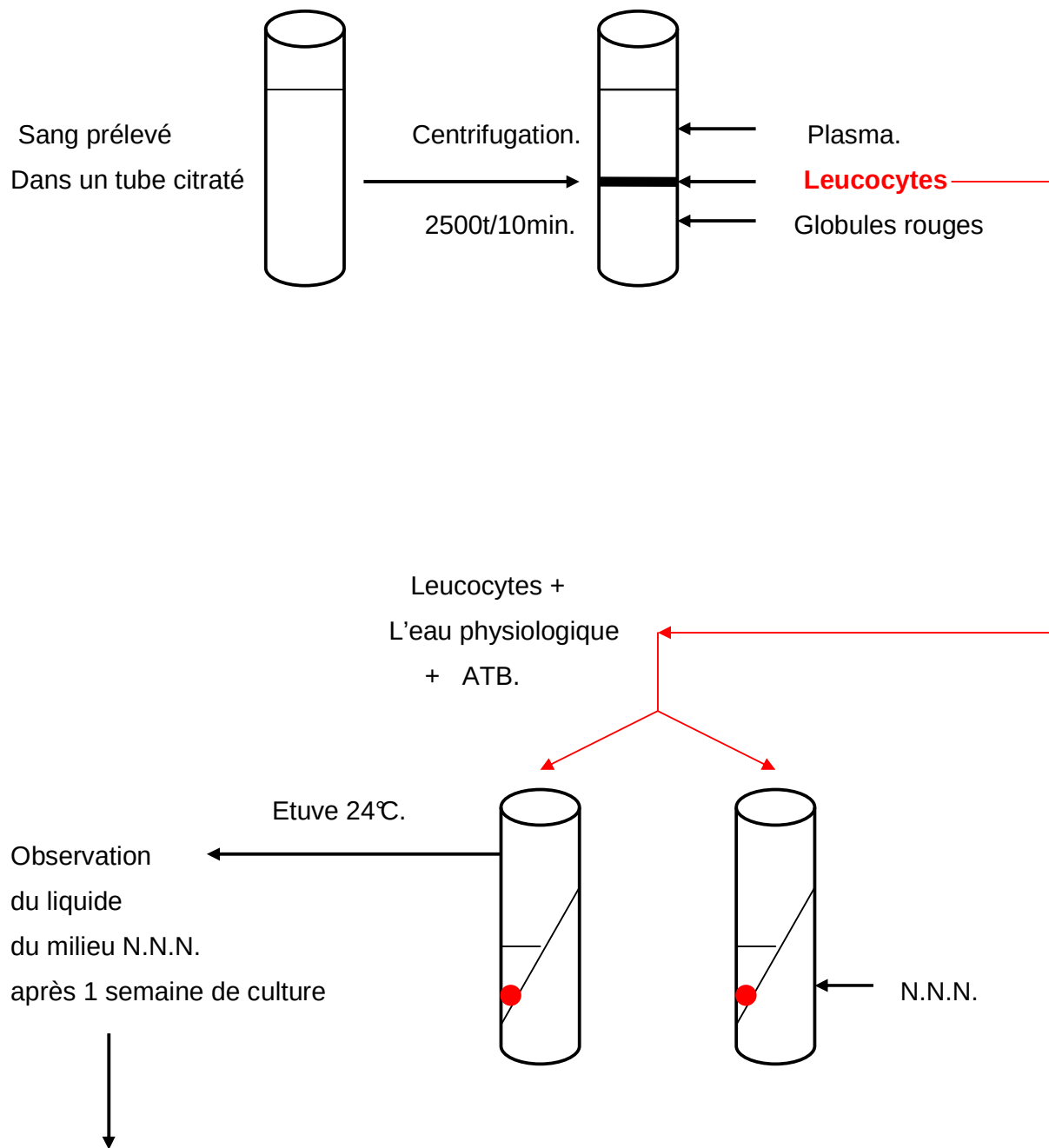
Principe :

Isoler les leishmanies à partir du sang veineux, ou périphérique, sur des milieux de culture usuels.

Mode opératoire :

Le sang est recueilli dans des tubes citratés (0.5 cc de citrate de sodium + 100.000 U.I. de pénicilline G).

- Une centrifugation est effectuée à 2500 t / mn pendant 10 min.
- On obtient 3 phases dans le tube;
 - Le surnageant constitué du plasma.
 - L'Inter phase constituée de leucocytes.
 - Le culot constitué de globules rouges.
- L'interphase est prélevée délicatement à l'aide d'une pipette.
- Elle est ensuiteensemencée dans 02 tubes contenant le milieu de culture **N.N.N.**ou **SLC**
- On additionne ensuite quelques gouttes d'eau physiologique stérile à 9‰.
- Puis on incube ces tubes à l'étuve à **24 °C**, durant 5 à 6 jours.
- Une observation au microscope optique au grossissement **G x 25**. est effectuée pour la recherche des formes promastigotes de *Leishmania*.
- Le résultat final de l'hémoculture est obtenu après **4 à 5** repiquages à une semaine d'intervalle : résultat positif s'il y a présence des formes promastigotes



Résultat final après 4 à 5 repiquages : Observation des formes promastigotes des leishmanies au microscope (G x 25).

Figure n°6 : Technique de culture du sang et du suc ganglionnaire.

III.1.2. La culture du suc ganglionnaire :

Cette méthode vise à mettre en évidence les leishmanies au niveau ganglionnaire. Aussi, les ganglions les plus fréquemment ponctionnés vu leur facilité d'accès et leur taille lorsqu'ils sont réactionnels sont les ganglions poplités.

- Une désinfection soigneuse de la région est réalisée avec de l'alcool chirurgical
- Le ganglion est amené et maintenu en position superficielle entre le pouce et l'index.
- La ponction est effectuée en un seul temps, avec l'aiguille montée sur la seringue
- On malaxe le ganglion puis on aspire le suc ganglionnaire.
- Le suc est versé dans un tube contenant 1 ml d'eau physiologique stérile à 9 %.
- Quelques gouttes sont distribuées stérilement dans le milieu N.N.N. (02 tubes)
- Le tout est incubé dans une étuve à 24 °C pendant 5 à 6 jours.
- Observation au microscope optique au grossissement 25, pour rechercher la présence des formes promastigotes de *Leishmania*.

III.2- Le typage iso enzymatique :

Principe :

La caractérisation des iso enzymes est basée sur l'électrophorèse des systèmes enzymatiques du cycle énergétique des *Leishmania*.

Les électromorphes individuels sont spécifiques et stables. Ainsi l'étude d'un nombre suffisant de système enzymatique choisit permet de caractériser les différentes souches par leur profil enzymatique et de les regrouper en unité homogène au plan électrophorétique : ZYMODEME.

06 souches de leishmanies isolées durant notre étude sont analysées, provenant essentiellement d'hémocultures (04 souches) et de ganglions lymphatiques (02 souches).

Tableau III : Les Souches de *Leishmania* isolées (sang et suc ganglionnaire) pour leur caractérisation iso enzymatique.

Numéro du chien	SOUCHE
006	MCAN /DZ/05/LIPA 1705.
042	MCAN /DZ/05/LIPA 18 05.
045	MCAN /DZ/05/LIPA 1905.
046	MCAN /DZ/05/LIPA 2105.
111	MCAN /DZ/05/LIPA 2305.
112	MCAN /DZ/05/LIPA 2405.

Le typage iso enzymatique des souches canines a été réalisé par rapport à des souches de références (Témoins) provenant du laboratoire d'Ecologie Médicale de Montpellier (L.E.M.), et de l'Institut Pasteur d'Algérie (I.P.A.).

Ainsi, les souches marqueurs utilisées sont :

- MHOM / FR / 78 / LEM 75 : Leishmania infantum zymodème MON - 1.
- MHOM / DZ / 83 / LEM 425 : Leishmania infantum zymodème MON - 80.
- MHOM / FR / 84 / LEM 528 : Leishmania infantum zymodème MON - 34

MHOM (homme), MCAN (chien) = Nature de l'hôte.

DZ, FR = Sigle du pays d'isolement de la souche de *Leishmania*.

75, 83, 84 = Année de prélèvement.

LEM, LIPA = Le laboratoire où la souche a été stockée.

III.2.1. Culture en masse des promastigotes :

L'interphase des prélèvements effectués sur le tube citraté est déposée dans des tubes contenant le milieu N.N.N. additionné d'eau physiologique stérile et d'un antibiotique (pénicilline, streptomycine) pour empêcher toute contamination éventuelle.

À l'aide du microscope optique G x 40, la phase liquide des milieux est contrôlée à partir du 7^{ème} jour. Pour qu'un prélèvement soit positif, il est nécessaire d'effectuer 5 à 6 repiquages à une semaine d'intervalle.

III.2.2. Isolement des leishmanies :

Si la culture est positive à savoir un milieu riche en promastigotes, on effectue des repiquages sur un milieu C.C.S (Annexe II) dans des petits flacons avec addition d'eau physiologique stérile, incubés à l'étuve à 24°C.

Après 5 jours d'incubation, la phase liquide est repiquée dans des flacons de Roux (1L du milieu C.C.S.) en ajoutant de l'eau physiologique stérile et de la R.P.M.I.- 1640. La boîte de Roux est incubée durant 8 jours à 24 °C.

III.2.3. La récolte des leishmanies:

La phase liquide est recueillie, puis filtrée sur de la gaze pour éliminer tout débris de gélose.

On centrifuge à 2500 t/min pendant 10 min à +4°C.

03 Lavages sont ensuite réalisés : 2 fois avec de l'eau physiologique stérile à 9 ‰, et le 3^{ème} avec l'eau physiologique stérile à 3 ‰.

Ces 3 lavages sont séparés par des centrifugations à 2500 t/min à 4 °C.

III.2.4. La lyse cellulaire et l'extraction protéique (confection des perles) :

Les culots recueillis sont soumis à une lyse membranaire par une congélation /décongélation, ou en les mettant dans de l'azote liquide pendant une minute.

Après une centrifugation à 15.000 t/mn durant 20 minutes, le surnageant est recueilli puis conditionné sous forme de perles de 30 µl par projection dans l'azote liquide.

Les perles de chaque souche sont conservées dans des tubes Nalgènes dans l'azote liquide (-196°C).

III.3. Electrophorèse sur gel épais d'amidon :

Principe :

L'électrophorèse sur gel épais d'amidon repose sur la séparation des protéines selon leur taille et leur charge dans un champ électrique du pôle négatif au pôle positif.

Les protéines migrent à l'intérieur du gel à travers ses pores dont la taille est suffisamment élevée pour permettre une bonne séparation des protéines.

Mode opératoire:

III.3.1. Préparation des solutions tampons :

Les solutions tampons sont des solutions ionisantes des protéines permettant leurs migrations sur gel. Le système tampon comprend :

1- Le tampon du gel : c'est le tampon utilisé pour la préparation du gel, son pH et sa composition dépend du système enzymatique à révéler.

2- Le tampon de migration : C'est un tampon qui sert à relier les électrodes avec le gel, le pH est identique à celui du tampon gel. Quatre solutions tampon sont préparées :

- TRIS MALEATE EDTA pH=7.4 (**T.M.E. 7.4**)
- TRIS MALEATE pH=7.4 (**T.M. 7.4**)
- TRIS CITRATE EDTA pH =9.5 (**T.C.E. 9.5**)
- TRIS CITRATE pH=8.6 (**T.C. 8.6**)

Tableau IV : Solutions tampons et système enzymatique pur le typage iso-enzymatique.

Solutions tampon pour gel	Systèmes enzymatiques révélés
T.M.E. 7.4+NADP	G6PD, PGD, GOT, ME
T.M.E. 7.4+NAD	GPI, PGM , GOT
T.C. 8.6+NADP	NP1, NP2 ,MPI ,GOT, GLUD,DIA
T.C. 8.6+NADP+ Mncl ₂	ICD
T.C. 9.5 +NADP	MDH, ME,FH

III.3.2. Préparation du gel d'amidon :

Le tampon gel préparé extemporanément est mélangé avec 45 g d'amidon préalablement mis à 37°C pendant 30 min pour séchage.

Le mélange amidon / tampon est chauffé sous flamme d'un bec bunsen. Une fois le mélange a atteint la viscosité recherchée, on mélange vigoureusement le gel pendant une minute. On effectue après un dégazage à l'aide d'une pompe à vide afin d'éliminer les bulles d'air.

Le gel est coulé dans un moule de plexiglas de dimensions 20 x 20 cm, 1cm de profondeur (cuve horizontale) tout en évitant la formation des bulles d'air qui pourraient gêner la migration protéique.

Le gel ainsi coulé et laissé à température ambiante jusqu'à polymérisation et recouvert d'un film en cellophane pour éviter son dessèchement.

III.3.3. Introduction des extraits protéiques dans le gel :

Le gel est refroidi à + 4°C pendant 30 min pour éviter toute dénaturation protéique.

12 puits sont creusés à l'aide d'un peigne. Une solution de bleu de bromophénol est déposée dans chaque puit du gel pour observer l'évolution de la migration.

Les perles sont retirées tout en étant maintenues à basse température pour éviter leur dénaturation.

On imbibe des rectangles de papier Wattman n°3 (9 x 8 mm) avec les extraits protéiques, et on les introduit dans les puits à l'aide d'une pince fine.

Le gel est ensuite recouvert d'un film en cellophane, puis on dépose une plaque de verre sur la quelle on marque à l'aide d'un marqueur, 02 lignes parallèles d'une distance de 7 cm. La première ligne est mise juste en dessous du dépôt, ceci va nous permettre

de bien évaluer l'évolution de la migration et de d'en apprécier la qualité, le front ne doit pas dépasser les 8 cm.

On verse le tampon dans les bacs d'électrophorèse, le gel est placé de telle façon à réunir les 2 bacs, en utilisant 2 éponges plates (servant de pont entre le tampon, pont, et le gel)

Durant la migration, tout le système doit rester à une température assez basse. (+4°)

III.3.4. La migration électrophorétique :

Les électrodes sont branchées au générateur. On programme l'ampérage environ 50 - 100, et 55-65 MA pour une durée de migration variable, entre 7 à 8 h, sauf pour le système enzymatique M.D.H. où la migration est laissée toute la nuit.

III.3.5. La révélation enzymatique :

C'est l'étape finale de la technique, elle repose sur la mise en évidence du système enzymatique choisi. Cette étape se fait grâce à des solutions de révélation contenant le substrat de l'enzyme, et un sel coloré réagissant avec les produits de la réaction.

La bande colorée correspond à la réaction enzymatique du système étudié, sa distance sera calculée par rapport aux souches témoins.

Le mode opératoire :

Les solutions de révélations sont préparées 30 min avant la fin de la migration.

1 - On prépare d'abord la première solution (substrat, sel, colorant, cofacteur), et on laisse incuber 30 min à 37°C.

2 - La révélation :

Lorsque le front de migration atteint 8 cm, on débranche le courant et on retire le système.

On ôte les papiers Wattman des puits et on coupe le gel de façon à obtenir une tranche rectangulaire. On découpe par le coin supérieur droit du gel pour marquer l'ordre des souches déposées.

On coupe horizontalement des tranches de 2 mm d'épaisseur chacune,

On dépose les tranches de gel coupées dans les bacs de coloration. (On peut obtenir ainsi jusqu'à 4 tranches de gel).

On verse alors délicatement le mélange des solutions sur la surface du gel et on laisse à température ambiante et à l'obscurité, jusqu'à apparition des bandes bleues.

Dès que les bandes apparaissent, on bloque la réaction avec une solution de fixation pour éviter la diffusion des bandes.

Les tranches sont aussitôt photographiées puis numérotées et datées. Elles sont conservées à + 4°C.

III.3.6. Lectures des zymogrammes :

Pour calculer les indices de migrations des souches à typer, on applique le rapport suivant : **$Im = d_x / d_{lem\ 75} \times 100$** .

I = indice de mobilité électrophorétique.

dx = distance parcourue par la souche x.

D lem 75 = distance parcourue par la souche marqueur LEM 75.

100 = indice de mobilité de la souche LEM 75.

RESULTATS

CHAPITRE III : RESULTATS DU TRAVAIL EXPÉRIMENTAL.

I. RESULTATS DU DIAGNOSTIC CLINIQUE DE LA LEISHMANIOSE CANINE. (Tableau V)

Pour chaque chien positif soit par la technique d'immunofluorescence indirect, par le test *WitnesLeishmania.*, ou en hémoculture, nous remarquons que la symptomatologie diffère d'un chien leishmanien à un autre d'où le tableau clinique protéiforme connu dans cette affection.

Nous insistons sur le portage asymptomatique de la leishmaniose. En effet, durant notre étude, nous avons constaté l'existence de chiens leishmaniens asymptomatiques (28%). Ces derniers cohabitaient avec un chien leishmanien présentant des symptômes ou vivant dans une région endémique.

Nous avons établi un tableau récapitulatif de tous les symptômes observés chez les chiens leishmaniens (Tableau V). Le tableau illustre, les symptômes les plus évidents de la leishmaniose canine observés au cours de notre travail.

Du point de vue clinique, nous avons noté que certains chiens présentaient la symptomatologie complète de la leishmaniose canine (3 chiens avec 9 signes cliniques associés), par contre d'autres chiens ne présentaient qu'un seul ou que quelques uns des signes cliniques de la maladie (Tableau V).

Le symptôme le plus fréquemment observé chez les chiens leishmaniens, soit 71.11 % des cas, est l'hypertrophie ganglionnaire touchant en majorité les poplités.

D'autres chiens ne présentaient à l'examen clinique qu'un seul signe clinique, par exemple, une hypertrophie ganglionnaire ou un amaigrissement (chien n°305, n°193). (Annexe I, Tableau I),

L'amaigrissement, est le symptôme clinique constaté chez tous les chiens leishmaniens, et également le principal motif de consultation chez le vétérinaire (67,44% des chiens)(chien n°8).

Les symptômes cutanés observés sont variés, parmi lesquels des ulcérations cutanées d'aspects variés (46.66%)(chien n° 5), des dépilations (48,83%), des furfures (9,30%), des croûtes (9.30%), ou une hyperkératose (11,62%).

D'autres manifestations cliniques sont observées qui sont dans la plus part des cas associés, comme les atteintes oculaires, allant de la dépilation autour des yeux (signe de lunette)(chien n° 302, page 89) la kératite, et la conjonctivite.

L'onychogribose et l'épistaxis sont également observés chez quelques chiens, soit 18,60% et 16,27% des cas. On note aussi la présence chez un nombre important de chiens, une faiblesse et un abattement (16,72% des cas).

Nous avons remarqué chez quelques chiens la forme viscérale avec comme seul signe évident, l'hypertrophie ganglionnaire présente dans 71,11% des cas.

On peut dire que la symptomatologie la plus évidente c'est l'hypertrophie ganglionnaire, suivie de la forme cutanée avec l'hyperkératose, les furfurs, la dépilation, le signe de lunette, arrive en suite les différentes ulcérations.

La forme viscérale avec l'atteinte hépatique et splénique n'est pas toujours mise en évidence mais l'atteinte oculaire est toujours évidente avec soit une conjonctivite ou kérato-conjonctivite (11.62 % ou 9,30% des cas). L'atteinte rénale est diagnostiquée par l'existence d'une douleur à la palpation et des difficultés de la miction (7 % des cas).

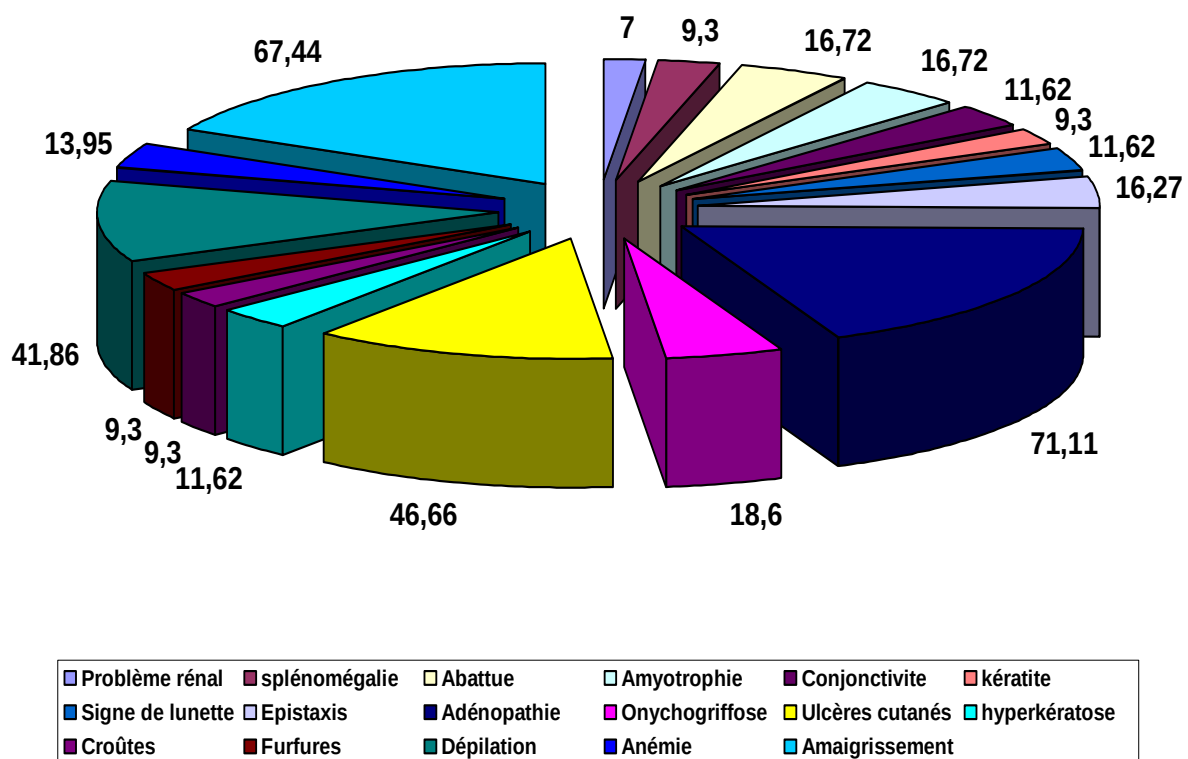


Figure 7 : Fréquence des signes cliniques de la leishmaniose canine dans la région d'Algier (2004-2006)



Photo n°1 : Chien n°05 présentant des ulcérations cutanées sur le museau.



Photo n°2 : Chien n°08 présentant une cachexie et une amyotrophie avancées.



Photo n°3 : Chien n°302 présentant une dépilation autour des yeux (Signe des lunettes).



Photo n°4 : Chien (n°125) leishmanien asymptomatique

Tableau V : Récapitulatif des symptômes observés chez les chiens leishmaniens

Symptôme Ndu chien	Problème rénal	splénomégalie	Abattue	Amyotrophie	Conjonctivite	kératite	Signe de lunette	Epistaxis	Adénopathie	Onychogribose	Ulcères cutanés	Hyperkératose	Croûtes	Furures	Dépilation	Anémie	Amalgissement	
5				x	X	x			x	x			x		X			
6			x		X	x			x		x	X		x		x	x	
7		x					x			x	x	X			X			
8	X	x		x				X	x			X	x				x	
10									x		x							
16			x						x		x				X		x	
17								X	x		x				X			
27		x						X	x	x	x				X		x	
28									x								x	
41									x		x						x	
42			x						x	x						x		
45		x	x	x					x		x	X			X	x		
46									x						X			
50	X		x	x	X	x								x	X			
52									x		x				X			
55								X			x			x	X			
56									x									
57									x									
68									x		x							
70																		
111									x		x		x		X			
112									x		x							
133				x	X	x	x		x				x	x		x		
140									x		x							
152									x						X			
183															X			
193									x									
255							x		x						X			
274				x					x									
276									x						X			
281	X			x				X	x	x	x					x		
282									x									
283									x		x							
286								X	x		x							
287			x				x				x							
288			x						x						X			
291									x	x	x				X			
295									x									
298								X	x		x							
302							x			x	x							
303					X				x	x		X				x		
304									x						x			
305																		
Total	3	4	7	7	5	4	5	7	35	8	21	5	4	4	18	6	29	
%	7.00	9.30	16.72	16.72	11.62	9.30	11.62	16.27	71,11	18.60	46,66	11.62	9.30	9.30	41,86	13,95	67.44	

Nous avons constaté durant notre étude, l'existence d'un nombre important de chiens leishmaniens asymptomatiques (positifs en immunofluorescence indirect ou au Witness *leishmania*[®]) (Tableau VI)

Tableau VI : Pourcentage des chiens leishmaniens avec ou sans signes cliniques.
(Dépisté par les trois méthodes de diagnostics)

Nombre de chiens leishmaniens	Nombre de chiens leishmaniens symptomatiques	%	Nombre de chiens leishmaniens asymptomatiques	%
60	43	72	17	28

On utilisant le test de l'écart réduit avec un $p = 0.05$ (risque d'erreur), on note qu'il y a une différence significative entre les chiens symptomatiques et les chiens asymptomatiques.

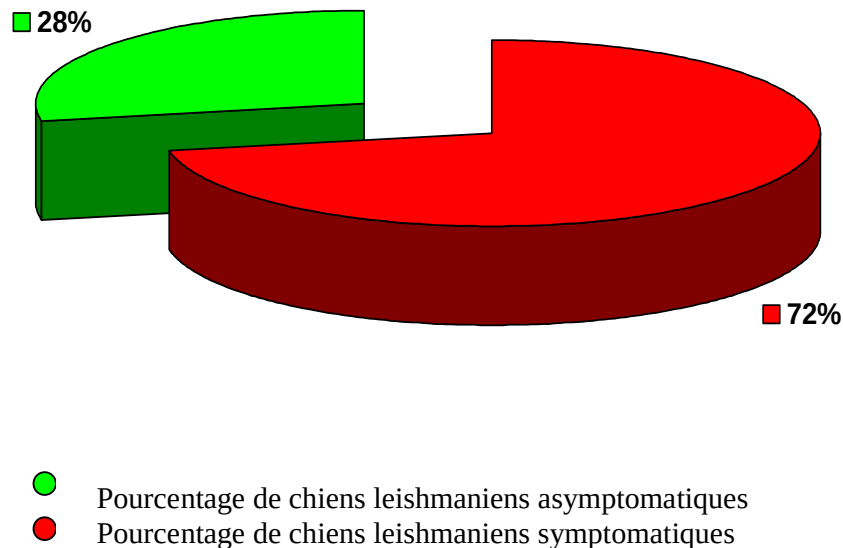


Figure 8 : Pourcentage des chiens syptomatiques et asytmomatiques chez les chiens leishmaniens dans la région d'Alger (2004-2006).

II. Résultats selon le sexe des chiens

Nous remarquons dans notre échantillon canin, la prédominance des mâles (68,85 %) par rapport aux femelles (31,45 %). Nous pensons que le citoyen préfère élever un chien de sexe masculin pour ses capacités pour la garde ou pour la chasse (Tableau VII).

Durant notre étude, nous avons constaté la prédominance de la leishmanose canine dans le sexe mâle (65%). L'importance de la leishmaniose chez les mâles, n'est probablement pas liée à une réceptivité à la maladie, mais plutôt à l'effectif étudié.

Tableau VII: Incidence de la leishmaniose selon le sexe

Le sexe	Le nombre des positifs	Le nombre des négatifs	Pourcentage De chiens leshmaniens (%)
♀	21	76	35
♂	39	16	65

Par l'utilisation du test de comparaison entre deux proportions observées avec un risque d'erreur, $p=0.05$, on note que les mâles sont plus touchés que les femelles

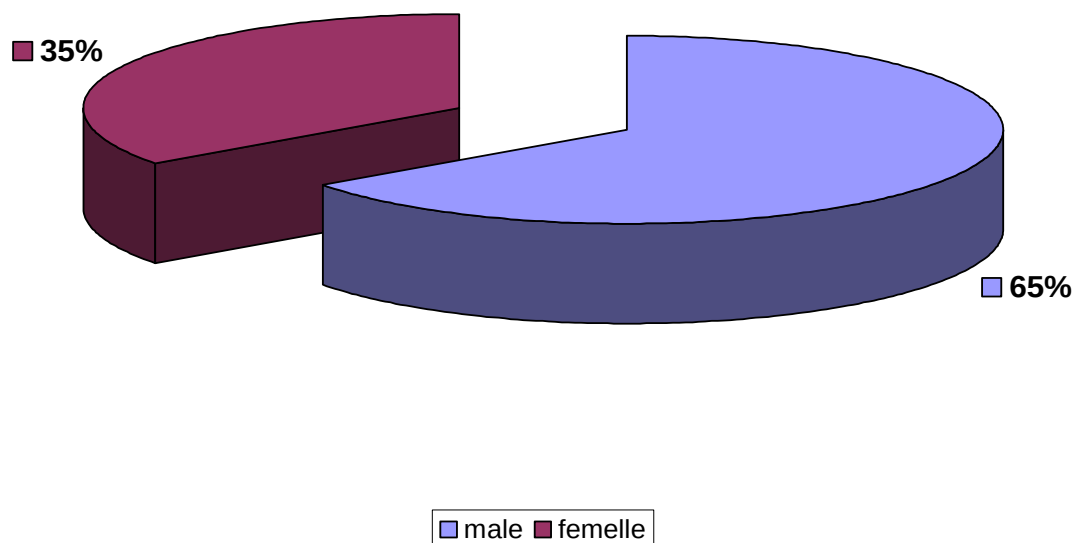


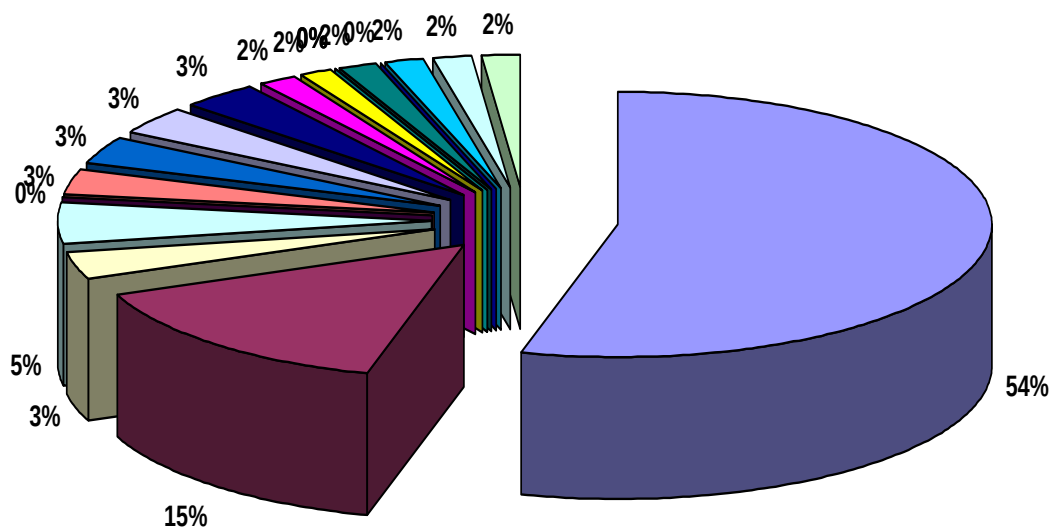
Figure 9 : La fréquence de la leishmaniose canine selon le sexe dans la région d'Alger (2004-2006)

III. Résultats selon les races des chiens

Les races les plus touchées sont, le Berger Allemand, qui représente 54% des chiens leishmaniens, et la race commune qui représente 15%. Cette importance est probablement liée à l'effectif des races de chiens étudié.

Nous avons noté également chez les différentes races de chiens de chasse, une leishmaniose clinique mais restaient très actifs, aucune faiblesse. Les propriétaires les emmener à la chasse et couraient sans aucun effort

Par contre, les chiens de race Berger allemand, présentaient une leishmaniose canine évidente et avec dans la plus part des cas une symptomatologie complète.



■ Berger Allemand	■ Commune	■ Rotweiller	■ Doberman
■ Pitbull	■ Caniche	■ Beagle	■ Griffon
■ Courrant	■ Basset	■ Berger Belge Malinois	■ Berger Belge Hollandais
■ Schnawsar grand	■ Schnawsar petit	■ Dog Allemand	■ Berger Belge Tervuren
■ Montagnes des Pyrénées	■ Blue de Gaston	■ Bruno de Jura	

Figure 10 : Le pourcentage de la leishmaniose canine selon les races dans la région d'Alger (2004-2006)

IV. Résultats selon l'âge des chiens :

Nous constatons au travers de notre étude, une fréquence plus élevée de chiens leishmaniens dans la tranche d'âge 2 ans et 4 ans (50%), suivi de la tranche d'âge 4 ans – 6 ans (33%). Une fréquence moins élevée de la leishmaniose est observée chez les chiens âgés de plus de 6 ans. Les jeunes chiens semblent réfractaires puisque, nous avons eu qu'un seul cas parmi 103 chiens prélevés.

Tableau VIII : La fréquence de la leishmaniose canine selon l'age des chiens

L'age des chiens	Nombre total de chiens prélevés	Nombre total de chiens leishmaniens	Le pourcentage de chiens leishmaniens (%)
6 mois - 2 ans	103	1	2
2 ans - 4 ans	116	30	50
4 ans - 6 ans	60	20	33
6 > ans	26	9	15

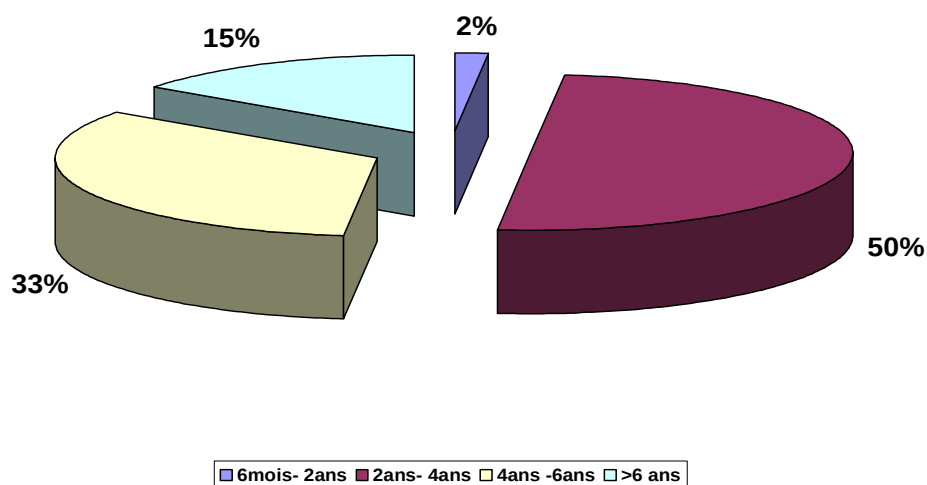


Figure 11 : La répartition de la leishmaniose canine selon l'âge dans la région d'alger (2004-2006)

V. Résultats selon la région d'origine des chiens

Nous remarquons que le nombre de chiens leishmaniens, est important chez les chiens provenant de zones antérieurement ou encore actuellement forestières, a savoir, Aïn Naadja (04 cas), Baraki (4 cas), Saoula (6 cas), Chéraga (6 cas), Draria (4 cas), El achour (4 cas), El harrach (5 cas), et Souidania (5 cas). L'importance du nombre de chiens leishmaniens est proportionnelle à l'effectif de chien prélevé. Nous constatons également, qu'une nouvelle commune (Souidania) prolonge la liste de celles touchées par la leishmaniose. (Fig. 2 et Tableau IX).

Les zones du littoral sont touchées, puisque des chiens leishmaniens ont été dépistés à Bab El Oued (3 cas), Réghaïa (2 cas) et Baïnem (2 cas). (Également zones forestières).

Les hauteurs d'Alger, sont touchées par la maladie, puisque nous avons dépistés des chiens leishmaniens à Hydra (1 cas), El Biar (1 cas) et Telemly (1 cas) (zone forestière également).

Les zones agricoles sont touchées, comme Saoula (6 cas), Draria (4 cas), Souidania (5 cas), Khraicia (1 cas) et Ouled Fayet (2 cas).

Tableau IX : Nombre de chiens leishmaniens dans les différentes communes et Daïrates de la wilaya d'Alger.

Commune	Nombre de chiens leishmaniens	Nombre de chiens non leishmaniens	Total des chiens prélevés	Pourcentage de chiens leishmaniens (%)
Aîn Naadja	4	2	6	66
Kouba	1	7	8	14.28
Beni Messous	2	1	3	66.66
Bab El Oued	3	5	8	37.5
Blida	1	1	2	50
Bordj El Bahri	-	1	1	0
Baraki	4	12	16	25
Dely Ibrahim	1	8	9	11.11
Reghaia	2	3	5	40.0
Bouchaoui	-	1	1	28.75
Saoula	6	15	21	27.27
Chéraga	6	16	22	9.75
Draria	4	37	41	33.33
Douera	1	2	3	22.22
El Achour	4	14	18	33.33
El Harrach	5	10	15	33.33
Rouiba	-	14	14	18.18
Ben Aknoun	2	9	11	33.33
Khraicia	1	2	3	33.33
Souidania	5	22	25	33.33
Hydra	1	2	3	50
Telemly	1	1	2	0
Zeralda	-	4	4	0
Staouali	-	2	2	0
Sidi M'hamed	-	4	4	0
Bab Ezzouar	-	15	15	0
Chevaleay	1	3	4	25
El Biar	1	5	6	16.66
Baba Hssen	-	1	1	0
Sidi Moussa	-	4	4	0
Hussein Dey	-	1	1	0
Birkhadem	-	1	1	0
Ouled fayet	2	2	4	50
Aîn benian	-	2	2	0
Bouzareah	-	8	8	0
El Madania	-	1	1	0
El Mouradia	-	1	1	0
Birtouta	-	2	2	0
Ouled Chebel	-	2	2	0
Rahmania	-	1	1	0
Bach Djarah	-	2	2	0
Aîn taya	-	1	1	0
Baînem	2	-	2	0
Total	60	245	305	100



Figure n°12 : Carte géographique de la région d'Alger comportant les communes et les daïras concernés par notre étude.
(I.N.C., 1999)(1/20.000)

VI. RESULTATS DU DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE :

VI.1. RESULTATS DU DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE :

VI.1.1. L'immunofluorescence indirect :

Le seuil de positivité de la technique, appliqué à l'Institut Pasteur d'Alger est de 1/80. Sur les 305 sérums de chiens, 53 chiens positifs (**17,38%**) avec un seuil égale ou supérieur à 1/80.

VI.1.2. Witness Leishmania :

Durant notre étude, nous avons eu l'opportunité d'obtenir un don de 6 Kits (60 tests) que nous avons testés sur 57 sérums de chiens. Bien que l'échantillon soit très faible, nous avons tenté d'évaluer la valeur diagnostic de cette méthode par des calculs statistiques suivant (Rumeau - Rouquette, 1995)

Tableau X : Tests de sensibilité et de spécificité du WL

	Maladie présente	Maladie absente
Signe présent	A = VP (vrais positifs): Ce sont les individus atteints chez lesquels le signe est présent. 3	B = FP (Fraux positifs) Le signe est présent et les individus ne sont pas atteints. 6
Signe absent	C = FN (Faux Négatifs) Ce sont les individus atteints chez lesquels le signe est absent 1	D = VN (Vrais Négatifs) Le signe est absent et les individus ne sont pas atteints 47

Sensibilité : $SE = (A/(A+C)) = 75,0 \%$

Specificite: $SP = (D/(B+D)) = 88,7\%$

VII. RESULTATS DU DIAGNOSTIC PARASITOLOGIQUE :

VII.1. Les cultures :

Sur les 305 prélèvements, la culture a été effectuée sur 200 prélèvements. Cent quatre vingt neuf (189) hémocultures réalisées dont 4 sont positives

Dix (10) ponctions ganglionnaires réalisées dont une seule positive en culture.

VII.2. Le typage iso enzymatique:

Les systèmes enzymatiques éprouvés (M.E.; MDH, ICD, GPD, G6PD, GLUD, DIA, NP1, NP2, GOT1; GOT2, PGM, FH, MP1, GPI) ont permis d'identifier, en présence de souches marqueurs du complexe Leishmania infantum (Leishmania infantum zymodème MON -1, MHOM/DZ/83/LEM 425, Leishmania infantum zymodème MON – 80, MHOM/FR/84/LEM 528, Leishmania infantum zymodème MON – 34), les zymodèmes suivants : MON – 1 et MON – 80. (Tableau XI et tableau XII).

Tableau XI : Zymodème des souches de *Leishmania*, isolées dans la région d'Alger durant notre étude.

N° du chien	Souche	Zymodème	Origine
006	17 MCAN /DZ/05/LIPA 17 /05.	MON - 1	Beni Messous
042	18 MCAN /DZ/05/LIPA 18/ 05.	MON - 1	Ben Aknoun
045	19 MCAN /DZ/05/LIPA 19 /05.	MON - 1	El Achour
046	21 MCAN /DZ/05/LIPA 21 /05.	MON - 1	Khraïcia
111	23 MCAN /DZ/05/LIPA 23 /05.	MON - 80	El Achour
112	24 MCAN /DZ/05/LIPA 24 /05.	MON - 1	El Achour

Les souches typées sont révélées correspondre aux deux zymodèmes différents de Leishmania infantum.

1- Leishmania infantum MON - 1.

2- Leishmania infantum MON - 80.

Tableau XII: Profil isoenzymatique des 06 souches typées.

Zymodéme	Souche n°	ELECTROMORPHE														
		MDH	ME	ICD	PGD	G ₆ PD	GLPD	DIA	NP1	NP2	GoT1	GoT2	PGM	FH	MP1	GP1
MON-1	*MHOM/FR/78/ LEM75	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MON-80	*MHOM/DZ/83/ LEM425	104	100	100	100	100	100	100	130	100	100	100	100	100	100	100
MON-1	MCAN/DZ/05/ LIPA1705	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MON-1	MCAN/DZ/05/ LIPA 1805	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MON-1	MCAN/DZ/05/ LIPA 19 05	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MON-1	MCAN/DZ/05/ LIPA 21 05	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
MON-80	MCAN/DZ/05/ LIPA 23 05	<u>104</u>	100	100	100	100	100	100	<u>130</u>	100	100	100	100	100	100	100
MON-1	MCAN/DZ/05/ LIPA 24 05	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Les souches indiquées par (*) représentent les souches marqueurs de Leishmania infantum

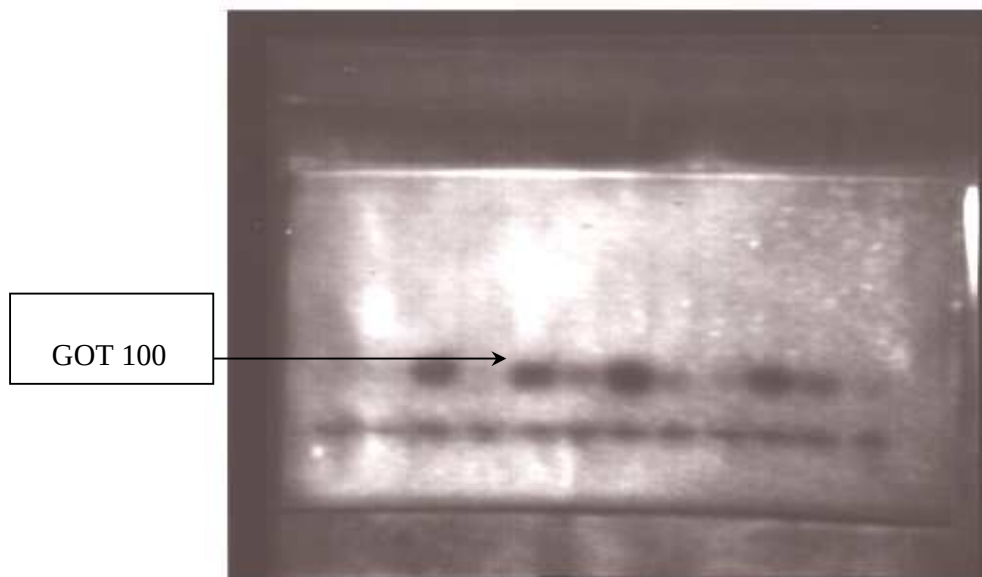


Photo n°5 : Migration électrophorétique de l'enzyme glutamate oxalo-acétate-transaminase (GOT 1,GOT 2)

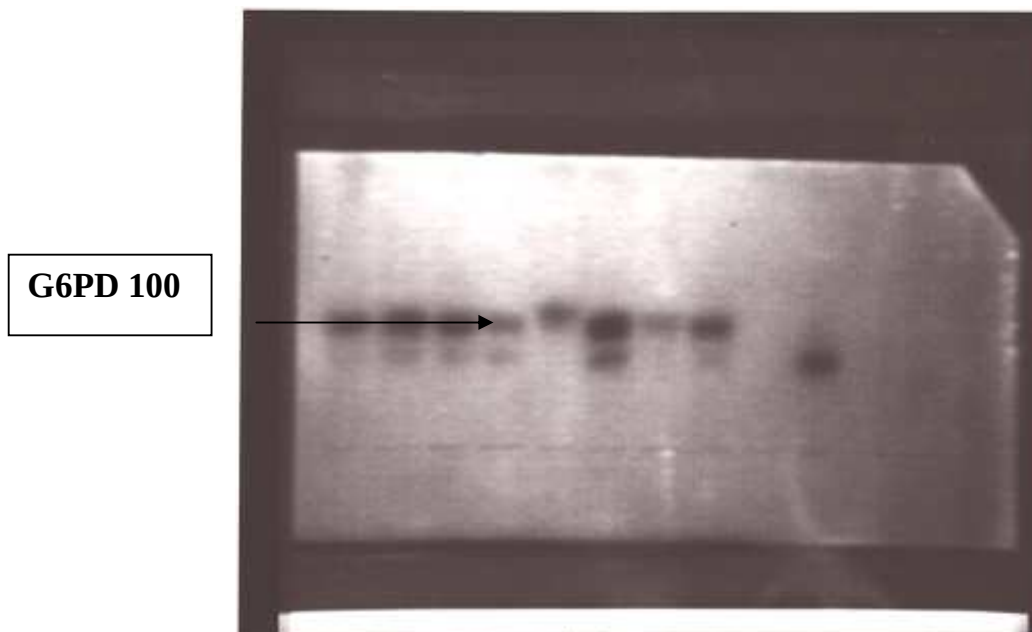


Photo 6 : Migration électrophorétique de l'enzyme glucose- 6- phosphate déshydrogénase(G6PD)

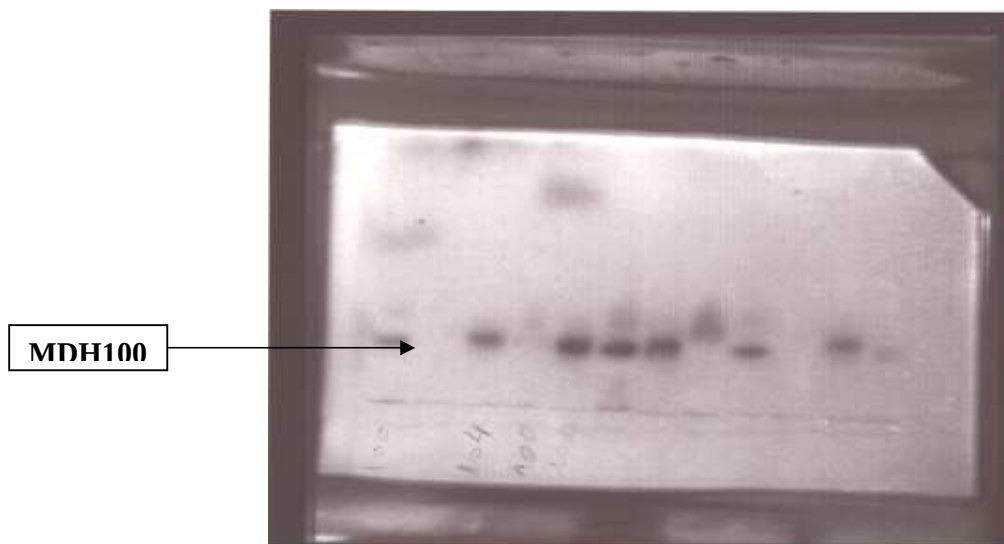


Photo n°7 : Migration électrophorétique de l'enzyme malate déshydrogénase (MDH)

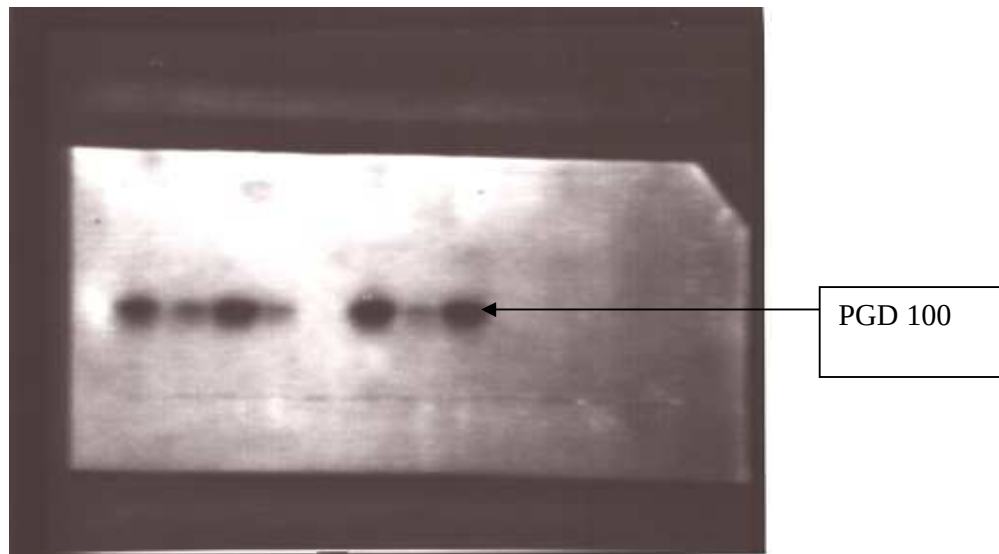


Photo n°8 : Migration électrophorétique de l'enzyme 6 phosphogluconate déshydrogénase (PGD)

CHAPITRE IV : DISCUSSION

DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE :

L'aspect zoonotique de la leishmaniose canine et l'intérêt croissant du citoyen au chien (principal réservoir), peuvent expliquer la recrudescence de la leishmaniose viscérale et cutanée à l'échelle nationale, excepté la wilaya d'Alger où les chiens sont relativement suivis.

En effet, cette meilleure prise en charge de la leishmaniose canine à Alger (37.5% pour 120 sérums testés (Belazzoug 1987), 23,56% pour 191 sérum testés (Garni, 2001) et 17.38% pour 305 sérum testés (notre étude, 2006), peut être liée aux faits suivants :

- 1- La promulgation dans les années 90 de l'autorisation d'exercice de la médecine vétérinaire à titre privé. Le nombre de cabinets vétérinaires a sensiblement augmenté à Alger.
- 2- Une grande sensibilisation des vétérinaires par les différentes journées techniques.
- 3- Une coopération entre les services de diagnostics (I.P.A., et différents laboratoires de l'I.N.M.V.) est installée.
- 4 - Une plus grande sensibilisation des propriétaires de chiens, surtout ceux qui possèdent des chiens de races, qui n'hésitent plus à s'adresser au vétérinaire dès qu'ils observent un signe clinique faisant suspecter la leishmaniose.
- 5 - Rôle très actif de l'H.U.R.B.A.L. par ces campagnes des 3D (détection, dératisation, Désinsectisation) et sa fourrière canine.

La technique de diagnostic sérologique de référence est le test d'I.F.I., mais d'autres techniques sont actuellement utilisées pour leur sensibilité et leur spécificité élevées tel que le test d'immuno-migration rapide qui est commercialisé sous forme de kits par différents laboratoires (Speed Leish® et Witness *Leishmania*®). En effet, le test SpeedLeish de laboratoire BVT a été utilisé par Bianchi en 2001 et Rivo en 2000. Le premier (Bianchi) a obtenu une sensibilité de 98,8 % et une spécificité de 87 %, et le

deuxième (Rivo, 2000) a obtenu une sensibilité 93 % et une spécificité de 97 %. Le résultat est obtenu en 20 minutes.

Dans notre étude, (57 sérums tests), nous avons utilisé le test Witness *Leishmania*® du laboratoire Synbiotics (France), gracieusement offert par le docteur K. Lasnami. Les résultats obtenus en 10 minutes, ont présenté une sensibilité de 75 % et une spécificité de 88.7 %.

DIAGNOSTIC PARASITOLOGIQUE :

Sur les 200 prélèvements ensemencés, dans notre étude, le pourcentage des cultures positives est de 3%.

Nous avons opté pour le milieu SLC car nous avons eu des difficultés à faire pousser les parasites sur milieu habituel NNN.

LE TYPAGE ISO ENZYMATIQUE :

Le typage iso enzymatique, comme outil taxonomique des *leishmanias*, a permis de différencier de nombreux zymodèmes.

La coexistence de deux types de leishmanioses dans une même région chez l'homme et le chien, est expliquée par l'existence des mêmes variants enzymatiques du parasite :

En effet Harrat et collaborateurs; en 1995 ont identifié 5 souches apparentées à *L. infantum* MON-1; variant enzymatique, principal agent de la leishmaniose viscérale humaine en Algérie et dans le bassin méditerranéen.

Garni en 2001 a identifié 24 souches de *leishmania infantum* MON -1 et une souche de *leishmania infantum* MON -80.

Dans notre étude, nous avons identifié deux variants enzymatiques :

Leishmania infantum MON -1 et *Leishmania infantum* MON -80. Nos résultats rejoignent également les travaux réalisés dans la zone méditerranéenne, particulièrement, ceux de Aoun, Jimenez, Gradoni, Brandonisio, et Rami qui ont isolé le zymodème MON-1, chez respectivement 18 chiens de Tunis, 31 chiens d'Espagne, 16 chiens de l'île de Malte et 7 chiens d'Italie, et 3 chiens au Maroc (Aoun et coll., 2003, Brandonisio et coll., 1992, Gradoni et coll., 1991, Jimenez et coll., 1995, et Rami et coll.,

2003). Plus récemment, Bouratbine et Collaborateurs ont isolées, en 2005, 31 souches de *leishmania infantum* Mon-1 en Tunisie. (Tableau IXV).

Les 2 variants enzymatiques du complexe *L. infantum* (zymodème Mon -1 et Mon -80) sont responsables de la leishmaniose viscérale humaine (Harrat, et coll., 1995c), mais elles ont également été isolées en Algérie chez l'homme à partir de lésions cutanées (Marty, 1998, Harrat, 1995 c). En Tunisie, la présence *leishmania infantum* MON -80 est confirmée comme agent de la leishmaniose viscérale infantile (Aoun ,1999).

Ces résultats confirment que le chien demeure bel et bien le réservoir des deux formes de la leishmaniose.

Tableau XIII: la séroprévalence de la leishmaniose canine et les zymodèmes dans les pays du bassin méditerranéen.

Pays	La séroprévalences (Nombre de chiens examinés)	Auteurs	<i>L. infantum</i> / zymodèmes
Algérie	37.5 % (120) 37% (666)	Belazzoug, 1987 Harrat et Belkaid, 2002	Mon-1, Mon 34, Mon-37, Mon-24, Mon-80
Cyprus	10% (301)	Deplazes et coll., 1998	Mon-1, Mon-98
France	26,5% (113)	Neogy et coll., 1992	Mon-1, Mon-108
Grece	22,4% (1638)	Sideris et coll., 1999	Mon-1
Italie	26% (16690)	Zaffaroni et col, 1999	Mon-1, Mon-27
Liban	2% (150)	Zahar, 1980	ND
Libye	1,6% (638)	Zahar, 1980	ND
Malte	27,3% (198)	Dye et coll., 1992	Mon-1
Maroc	8,6% (1013)	Neijar et coll., 1998	Mon-1
Portugal	0,7%-6,9% (3614)	Semiano-Santos et coll., 1995	Mon-1
Espagne	10,2% (2110)	Fisa et coll., 1999	Mon-1, Mon-11, Mon-77, Mon105, Mon-199
Tunisie	6% (265) (49) (19)	Ben said et coll., 1992 Bouratbine et Coll., 2005 Aoun K., et Coll., 2003	Mon -1 Mon - 1 (Mon -1) 100%
Turquie	3,6% (494)	Ozensory et coll., 1998	ND

Sexe :

Zaffaronni et collaborateurs en Italie (Zaffaronni et coll, 1999), Harrat et collaborateurs en Algérie (1995 a), considèrent que les chiens de sexe mâle sont plus sensibles à la leishmaniose, que les femelles.

Mais ce n'est pas le cas au Maroc, où il n'y a pas de différence de prévalence de l'infection entre les deux sexes (Rami et coll, 2003)

Dans notre étude, nous avons obtenus des résultats comparables à ceux de Zaffaronni et Harrat, mais nous pensons que c'est l'importance de l'effectif sexe masculin (210 chiens) qui est largement plus important que l'effectif femelle (95 chiennes).

L'age :

L'étude de Harrat et ses collaborateurs, révèlent une plus grande sensibilité chez les chiens âgés entre 2 ans et 3 ans. Au Maroc, Rami et ses collaborateurs en 2003, ont observés que la leishmaniose est significativement élevée chez les chiens âgés de plus de quatre 4 ans.

Benrahmoune et collaborateurs, ont observé une prévalence de la leishmaniose élevée aussi bien chez les chiens âgés de plus de 3 ans que les chiens âgés de plus de 8 ans (2000 ; 35,96% ; 2002 ; 16,67%) et encore plus élevée (2000 ; 31,27%, 2002 ; 19,65%).

Dans notre étude, la leishmaniose canine est élevée chez les chiens âgés entre 2 et 4 ans (50%), suivis des chiens âgés de 4 à 6 ans (33%). Notre étude corrobore les résultats obtenus par les deux auteurs cités précédemment.

Races :

L'étude réalisée par Benrahmoune et ses collaborateurs, révèle une prévalence dominante de la leishmaniose chez les chiens de race Berger Allemand (18,86%). Cette prévalence est liée au fait que cette race est celle qui est la plus importante en effectif (465 Berger Allemand sur un total de 615 chiens testés). Les autres races confondues représentant chacune moins de 3% (Doberman, Berger belge, Boxer, Berger croisé, race commune, Berger de Beauce, Malinois, Berger Allemand croisé).

Harrat et collaborateurs ont notés les mêmes résultats, à savoir qu'ils obtiennent sur un total de 1.223 chiens prélevés, 338 Berger Allemand séropositifs (75,9%). Une autre étude réalisée par Bouratbine et Collaborateurs en 2005, en Tunisie, observe une

sensibilité plus élevée chez les chiens européens 81% (26chiens) âgés de moins de 5 ans par rapport aux races locales 57% (23 chiens) âgés entre 5 ans et 9 ans.

Quant à notre étude, nos résultats corroborent ceux obtenus par Benrahmoune et harrat, ainsi sur les 60 chiens leishmaniens, 54% étaient de race Berger Allemand, suivi 15% pour la race commune.

Les symptômes :

Durant notre étude, nous avons observé que 72% de chiens leishmaniens qui présentaient des signes cliniques ; Le reste, soit 28% ne les présentaient pas.

Nos résultats corroborent ceux de Harrat et Belkaid (2002) qui ont observé 70% de chiens leishmaniens avec signes cliniques.

Les principaux symptômes observés chez les chiens leishmaniens sont l'amaigrissement et/ou l'hypertrophie ganglionnaire. Aussi, nos chiens présentaient de l'amaigrissement, de l'adénopathie et des ulcères cutanés dans les proportions suivantes : 67,44%, 72% et 42% contre 50%, 100% et 50% observés par Amara et Collaborateurs en 2003. (Tableau XV).

Notre étude révèle une proportion importante de chiens leishmaniens asymptomatiques (28%). Nos résultats corroborent ceux observés par Rami et Collaborateurs (2003), au Maroc (28%), ainsi que ceux de Harrat et Belkaid (2002) (25%) et ceux de Papadopoulou et ses collaborateurs (45,4%).

Il est donc important de considerer les chiens asymptomatiques comme un facteur de risque épidémiologique puisque son diagnostic échappe aux vétérinaires cliniciens.

Tableau XIV : Tableau comparatif des symptômes observés chez des chiens leishmaniens dans notre étude et celle de Amara et Coll. (2003).

Les symptômes	Notre étude (2005/2006) N=47	Etude de Amara et coll. (2003) N=18
Amaigrissement	67.44	50
Anémie	14	27
Furfurs	9	16
Croûtes	9	16
Hyperkératose	12	22
Ulcères	42	50
Onychogribose	19	44
Adénopathie	72	100
Epistaxis	17	5
Signe de lunettes	12	33
Kératite	9	33
Conjonctivite	12	61

La région :

L'espèce de *phlébotomus*, vecteur de la leishmaniose a été depuis longtemps identifié en Algérie par les équipes de Sergent (Sergent et coll., 1921). En kabylie, le vecteur de la leishmaniose viscérale est *Phlébotomus perniciosus* par l'isolement de *leishmania infantum* Mon -1(Izri et coll, 1990). Ce même vecteur a été isolé dans les zones endémiques de leishmaniose dans la capitale par les équipes de l'IPA. (Harrat et Belkaid., 2002)

En 1993, Izri et Belazzoug ont isolé *leishmania* Mon -24, responsable de la leishmaniose cutanée du nord à partir *Plebotomus perfiliewi*.

Nous avons tenté durant notre travail, de capturer et d'identifier les phlébotomes dans certains sites, comme Saoula, Souidania, Aîn Naadja et Baïnem. Pour cela des pièges adhésifs (papiers imprégnés d'huile de ricin) ont été placés dans des chenils, des

habitations et dans des sites forestiers. Nous n'avons pas pu exploiter ces pièges car les conditions climatiques les ont détruits. (Vent, pluies).

Bien que l'urbanisation se soit généralisée dans les sites étudiés (zone côtière (boisée), les hauteurs d'Alger (boisée) et les zones forestières, le vecteur semble s'y être adapté. En effet la leishmaniose canine a été dépistée dans la quasi-totalité des zones d'Alger.

CHAPITRE V : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Malgré les contraintes d'ordre matériel et surtout de temps, notre étude séro-épidémiologique réalisée sur 305 chiens de différents quartiers et communes d'Alger, nous a permis de mettre en évidence 60 chiens leishmaniens.

La fréquence de la maladie est importante (19,27%). Toutefois, de fortes variations sont observées en fonction du sexe, de l'âge et de la commune d'origine de l'animal.

Le tableau clinique est très variable : allant de l'animal asymptomatique à l'animal sévèrement atteint.

La mise en évidence du parasite n'est pas aisée. En effet, sur les 200 cultures, 6 seulement se sont avérées positives.

Le diagnostic sérologique par immunofluorescence indirecte s'avère essentiel.

Notre étude préliminaire, nous a permis de noter l'intérêt de la recherche séro-épidémiologique sur le terrain.

Le typage iso-enzymatique sur les 200 isolats de chiens, nous a permis de mettre en évidence deux (2) variants enzymatiques de *leishmania* : MON-1 et MON-80, responsables de la leishmaniose viscérale et leishmaniose cutanée chez l'homme.

Un nombre plus important d'isolats de chiens à l'échelle nationale pourrait révéler la présence d'autres variants, tel *L. infantum* MON-24, déjà isolé par BENIKHLEF en 2003., Ceci permettra de préciser le rôle du chien dans le cycle de la leishmaniose en Algérie.

Une recherche du parasite chez d'autres mammifères (Rongeurs, Chats...) pourra préciser la place de chacun dans les complexes pathogènes de *leishmania*.

Afin d'évaluer avec précision la leishmaniose en Algérie, nous proposons des modestes suggestions à mettre à la disposition des vétérinaires.

- * Dépistage systématique des chiens (symptomatique et asymptomatique). En effet, un grand pourcentage de chiens leishmaniens ne présente pas de signes cliniques.

- * Mettre à la disposition des vétérinaires praticiens un kit (Immuno-migration) leur permettant de poser un diagnostic rapide et procéder ainsi au traitement de l'animal. Le traitement oblige le propriétaire à ramener le chien et permet au vétérinaire de faire un suivi épidémiologique. Souvent, le propriétaire ne ramène pas son chien s'il apprend qu'il faut l'euthanasier.

- * Les sérums négatifs ou suspects devront être systématiquement analysés par immunofluorescence indirecte.
- * Le diagnostic parasitologique par la culture du sang et du suc ganglionnaire doit être réalisée de façon systématique afin d'identifier les souches de leishmania (typage iso-enzymatique).
- * Une étude entomologique de toute la région d'Alger s'avère également nécessaire afin de déterminer toutes les espèces de phlébotomes vecteurs de la leishmaniose canine.
- * Insister sur le rôle positif de la fourrière canine qui intervient dans la lutte contre cette maladie, dans la mesure où elle sacrifie de façon hebdomadaire les chiens qu'elle récupère.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABRANCHES P., SANTOS- GOMES G., RACHAMIM N., CAMPINO L., SCHNUR L.F., et JAFFE CL., 1991.

An experimental model for canine visceral leishmaniasis.
Parasite Immunology, **13**, p. 537- 550.

ABONNEC E., 1972.

Les phlébotomes de la région éthiopienne (*Diptéra, Psychodidae*).
Mémoires, ORSTOM, n°55, p 1-289.

ADLER S., et THEODOR O., 1932

Investigations on Mediterranean Kala azar VI. Canine visceral leishmaniasis
Proc. R. Soc. London, **110**, p 402-441

ALEXANDER B, DE CARVALHO RL , MC CALLUM H , PEREIRA MH, 2002

Role of domestic chicken (*Gallus gallus*) in the epidemiology of urban visceral leishmaniasis in Brazil .
Emerging Infect Dis, Dec 8 (12) : 1480-5

AMARA A., BOUABDALLAH H., HABIBJEMLI M. et REJEB A., 2003

Les manifestations oculaires chez les chiens leishmaniens.
Point Vétérinaire, **34**, 235, p 50-55

AMARA A., JEMLI MH., KILAN M., GHORBEL A. ET AOUINA M., 2000.

Un cas de dermatite leishmanienne nodulaire chez un chien.
Point Vétérinaire, **31**, n°210, p58-60.

AMBROISE –THOMAS P. ET GOLVAN J., 1994.

Les nouvelles techniques en parasitologie et immunologie
Flammarion Médecine – Sciences, p 298.

ANDRADE T.M., CARVALHO E.M., ET ROCHA H., 1990.

Bacterial infections in patients with visceral leishmaniasis
J. Inf. Dis, **162**, p 1354-1359.

ANGUT H., 1991.

La technique d'amplification génique (PCR) principe et application en microbiologie.
Immuno. Annal. Biol. Sept, **29**, p 19-23.

**AOUN K., DIOUANI MF., BENIKHELEF R., BOURATBINE A., BEN HAJALI S., HARRAT Z.,
BELKAID M., KILANI M. ET BENISMAIL R., 2003.**

Leishmania infantum MON -1 : Seul zymodème isolé chez les chiens leishmaniens en
Tunisie

Bull. Soc. Pathol. Exot. May, **96**(2),p 77-9.

**AOUN K., BOURATBINE A., HARRAT Z., MAHERZI A., BELKAID M., BOUSNINA S.
ET BEN ISMAIL R ., 1999.**

Confirmation of the presence of *Leishmania infantum* MON-80 in Tunisia

Bull. Soc. Pathol. Exot. Feb, **92**(1), p 29-30

**ASHFORD DA., BOZZA M., FREIRE, M., MIRANDE JC., SHERLOCK L., EULALIOC.,
LOPES, U., FERMANDES O., DEGRAVE W., BARKER RH ., BADARO R and DAVI SR.,
1995 .**

Comparison of polymerase chain reaction and serology for the detection of canine
visceral leishmaniasis.

Am .J.Trop .Med.Hyg, **53**, p. 251-255.

BACHI F., 2001

Amélioration des moyens de diagnostic des leishmanioses en Algérie

Thèse de Doctorat en médecine de la faculté de Médecine de l'Université d'Alger.

BADARO R., REED S C., BARRAL A., ORGE ET JONES T C., 1986

Evaluation of the micro –enzyme linked immunosorbent assay. (E L I SA) for antibodies
in American visceral leishmaniasis antigen selection for detection of infection –specific
responses .

AM.J. Trop. Med. Hyg., **35**, p 72-78

BANATH G., 2002

Les limites thérapeutiques.

L'action vétérinaire, 16 avril N° 1597

BANATH G., 2001

Chemotherapy of canine leishmaniasis, Summaries of Presentations during the Leishmaniasis Seminar.

World leish 2, Crete, Greece -20 to 24 May .

BELAZZOUG S., 1982

Une épidémie de leishmaniose cutanée dans la région de M'sila. (Algérie) .

Bull.Soc. Path. Ex, **75**, p 497-504.

BELAZZOUG S., 1983

Isolation of leishmania Major from Psammomys obesus Rodentia gerbillidae in Algeria ,

Trans. R. Trop. Med. Hyg, **77**, p 876.

BELAZZOUG S., LANOTTE G., MAAZOUN R., PRATLONG F. et RIOUX JA., 1985.

Un nouveau variant enzymatique de leishmania infantum Nicolle, 1908, agent de la leishmaniose cutanée du nord de l'Algérie.

Ann.Parasit. Hum. Comp, **60**, p 1-3.

BELAZZOUG S., 1986 a.

Decouverte d'un *MERIONES SHAWI* (*RONGEUR, GERBILLIDAE*) naturellement infesté par *Leishmania* dans le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de Ksar Chellala (Algérie).

Bull. Soc. Path. Ex, **79**, p 630-633.

BELAZZOUG S., 1986.b

Les leishmanies en Algérie ; A propos de l'identification enzymatique de 32 souches d'origine humaine et animale. *Leishmania* Taxonomie et phylogénèse. Ap.éco-épidémiologique

IMEEE, Montpellier, 1986, p 397-400.

BELAZZOUG S., 1987.

La leishmanie en Algérie

Maghreb Vétérinaire, **3**, p 11-13.

BENALLAGUE A et TABBAKHE E ,1978.

La leishmaniose viscérale en Algérie,

Med. Trop., **38**, p 425-433.

BENIKHELEF R., HARRAT Z., TOUJINE M ., DJERBOUH A., BENDALI BRAHAM S. ET BELKAID M., 2004.

Présence de *leishmania infantum* Mon -24 chez le chien.

Med. Trop, **64**, p 381-383.

BENIKHELEF R., HARRAT Z., BENANE K., BENDALI BRAHAM S. ET BELKAID M., 2003.

Présence de *leishmania infantum* Mon -80 chez le chien en Algérie.

Journée nationale de parasitologie du 21 mai 2003.

BENIKHELEF R., PRATLONG F., HARRA Z., SERIDI N., BENDALI BRAHAM S., BELKAID M. ET DEDET JP., 2000.

Leishmaniose viscérale infantile cause par *Leishmania infantum* MON-24 en Algérie.

Bull. Soc. Pathol. Exot. **94** : 14-16.

BENRAHMONE A., HARITI W., GACI N., 2003.

Cotribution à une étude épidémiologique et statistique de la leishmaniose canine dans l'Algérois

Mémoire de fin d'études – université Saad Dahleb – Blida

BEN SAID M., JAIEM A., SMOORENBURG M., SEMIAO-SANTOS SJ., BEN RACHID MS. AND EL HARITH A., 1992

Canine leishmaniasis in the region of Enfidha central Tunisia -assessment of seroprevalence with direct agglutination DAT and indirect Immunofluorescence.

Bulletin société pathologie exotique, 85, p 159-163.

BERMANN J D., GALLALEE J E AND GALLALEE J V., 1988

Pharmacokinetics of pentavalent antimony (pentostamin) in hamsters
Am. J. Trop. Hyg. **39**, 41-45.

**BERRAHAL F., MARRY C., ROSE M., BERNGER A., ESCOFFIE K., LAMOUREUX D.
ET DUNAN S., 1996.**

Canine leishmaniasis: identification of asymptomatic carries by polymérase chain
réaction and immunoblotting.

Am. J. Trop. Hyg, **55**, p 273-277

BETTINI ET GRADONI L., 1986.

Canine leishmaniasis in the Mediterranean area and its implications for human
leishmaniasis.

Insect Science and its application, **7**,p 241-245.

BESBES A., POUSSE H., BEN SAID M., KHARRAT H ET GHENIMI L., 1994.

Leishmaniose viscérale infantile du centre Tunisien (121 cas).

Med, Mal, infect, 24:628-634.

BIANCHI D., 2001.

Evaluation de Speed Leish pour le diagnostic de la leishmaniose canine.

Thèse de Doct vet .lyon

**BOURATBINE A., AOUN K., GHARBI M., HAOUAS N., ZAROUJ J.,HARRAT Z.,
BABA H., ET DARGHOUTH MA., 2005.**

Epidemiological, clinical and parasitological data about canine leishmaniasis
in Tunisia.

Bull. Soc. Pathol. Exot., 2005 Dec; **98**(5):359-62.

**BOURDOISEAU G., BONNEFRON C., BOEHRINGER C., STOLLE T. ET CHABANNE L.,
1997.**

Specific IgG 1 and IgG 2 antibody lymphocyte subset levels in naturally Leishmania
infantum infected treated and untreated dogs.

Veterinary Immunology and Immunopathology, **59**, p 21-30

BOURDOISEAU G., BONNEFONT C., CHABQNNNE L., GEVREY J., GRANGEON E., ET FOURALER C., 1997.

Modification sanguine (cellulaire et humorale) chez le chien leishmanien .Suivi des chiens traités et non traités.

Rev. Med. Vet; **1483**, p 219-228.

BOURDEAU P., 1996

Elements pratique du diagnostic de la leishmaniose canine.

Point Vet. 15 (**72**) : p 4-50

BEZ M .,1992.

La leishmaniose chez le chat .enquête séro -epidemiologique dans les Alpes-Maritimes..

Thèse doct .Vet .Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon n °46.

BORAVSKY P.F., (1889-1899)

On sait sore .Voenno-med.zh., leninger journal medical militaire

Part. CXCV N°1176 année ,925.

BRANDONISIO O., CARELLI G., CECI L., COSENTI B., FASENELLE A., PUCCINI V., 1992

Canine leishmaniasis in the Cargano Promotory.

Eur. J. Epidel., **8**, p 273-276

CABASSU JP., GERVAIS P., SERGURET N., 1988.

Manifestations cliniques de la leishmaniose canine.

Prat. Med.Chir. Anim. Comp .23.5. p 29-35.

CAMBILLET., 1909

Un cas de bouton d'orient a Flatters Alger

Bull. Soc. Path. Ex., **2**, p. 388-390.

CHANG CN., OWATE J., PAMBA H.O. AND DONNO L., 1990.

Treatment of visceral leishmaniasis I in Kenya by aminosidine alone or combined with sodium stibogluconate.

Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and hygiene, **84**, p 221-225.

CAVALIERO T., ARNOLD P., GLAUS T., MATHIS A., HOFMAN R. AND DEPLZES P., 1999.
Clinical, serologic and parasitologic follow –up after long – term allopurinol therapy or dog naturally infected with leishmania.

J. Vet. Internmed, **13**, 330-334

CHANCE, M.L., PETERS W. et SHCHORYL L .,1974.

Biochemical taxonomy of leishmania .observation of DNA.

Ann.Trop .Med. Parasit . **68**, p 307-316.

CHAROL P., 1989.

Contribution à l'étude du diagnostic immunologique de la leishmaniose canine.

Thèse de doctorat vétérinaire. Université de Claude Bernard Lyon. p189

CIARAMELLA P., OLIVA G., DE LUNA R., GRADONI L., AMBROSIO R., CORTESE L. SCALONE PERSECHINO A., 1997 .

A retrospective clinical studies of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*.

Veterinary Record, **141**, p 539-943.

CHAROL P., 1989.

Contribution à l'étude du diagnostic immunologique de la leishmaniose canine .

Thèse de doctorat vétérinaire. Université de Claude Bernard Lyon . p189

COUTINHO MT., BUENO LL., STERZIK A., FUJIWARA RT., BOTELHO JR., DE MARIA M., GENARO O et LINARDI P M., 2005.

Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) .In the epidemiology of canine viscéaal leishmaniasis.

Vet. Parasitol. , 10,128, 1-2, p 149-55

CUNNIGHAM DD., 1885.

On the presence of peluculiar parasitic organisms in the culture of specimen of Delhi boil.

Sci. Mem. Med. Off. Army India, **1**, p 21-31.

DAVIDSON RN., 1999.

Leishmania in humans, with particular reference to leishmaniasis with a canine reservoir.

Canine Leishmaniasis an update .

Proceedings of the International Canine Leishmania Forum Barcelona, Spain .p 72-77.

DAVIS A., 1987.

Drug and vaccine development.

Proc .interdisciplinary conference on primary health care in the tropics.

Trop .Med .Paras,**38**, p 215-221 .

DEDET JP., 1999

Les leishmanioses

Collection ellipses ed. AUPELF / UREF

DEDET JP., ESTERE P. ET BRADINAUD R., 1987

Individual clothing prophylaxis of cutaneous leishmaniasis in the Amazonian area.

Trans. R.Soc.Trop. Med. Hyg .

DJERBOUH A . , TOUJINE M ., DJOUDI M ., BENIKHELEF R ., HARRAT Z ., 2005

La leishmaniose canine dans la région d'Alger essai de traitement avec l'allopurinol seul.

Ann, Méd. Vét., **149**, p 132 -134.

DE KORTE PM., HARRITH AE., DEREURE J., HUIGEN E., FAUCHERRE V. AND VAN DER KAAJ HJ., 1990.

Introduction of improved direct agglutination test for the detection of leishmania infantum infection France.

Parasitol.Res., **76**, p 526-530.

DE LA LOMA A., ALVAR J., MARTINEZ GALIANO E., BLAZAUEZ J., ALCALA MUNOZ A, ET NAJERA R., 1982.

Leishmaniasis or AIDS?

Trans R Trop Med Hyg, **79**, p 421-422.

DENEROLLE P., 1996.

Leishmaniose canine difficultés du diagnostic et du traitement.

Prat. Med. Chir. Anim. Comp, 33.2. p 137-145.

**DEPLAZES P, GRIMM F. PAPQPRODROMOU, M., CAVALIERO T., GRAMICCIA M.,
CHRITOFI N., ECONOMIDES P ET ECKERT J., 1998**

Canine leishmaniosis in Cyprus due to *Leishmania infantum* MON-1
Acta Tropica, **71**, p 169-178.

DEPLAZES P., SMITH NC., ARNOLD P., LUTZ H AND ECKERT J.,1995.

Specific IgG1 and IgG2 antibody responses of dogs to *leishmania infantum* and other
parasites.

Parasites Immunology, **17**, p 451-458.

**DERREURE J., LANOTTE G., PRATLONG F., GOUVERNET J., MAJHOUR J., BELLAWOUG
S., KHIAMI A., RAGEB HA., JARRY D., PERIERES J. ET RIOUX JA., 1998.**

Leishmaniose canine à *leishmania infantum* : intérêt et réalisation du test latex.

Application en éco- épidémiologie.

Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, **91**, p 300-305.

DERREURE J., 1999.

Réservoirs de leishmaniose. In "les leishmaniose"

Collection ellipses ed AUPELF / UREF, p 109-130.

**DINIZ SA, MELO M S, M BORGES AM, BUENO R, RIS BP., TAFURI W L., NASCIMENTO
EF., ET SANTOS R L., 2005.**

Genital lesions associated with visceral leishmaniasis and shedding of *leishmania* sp ,in
the semen of naturally infected dog .

Vet. Pathol., **42**, p 650-658.

DUNAN S., FROMME D., MONJOUR L., OGUNKOLAD BW., CRUZ A. ET QUILLICI M., 1989.

Vaccination trial against visceral leishmaniasis .Phoceen Veterinary Study Group
on visceral leishmaniasis.

Parasite Immunology, **11**, p 397-402

DUNAN S. ET TOGA L., 1988,

Immunologie et leishmaniose

Prat .Med. Chir .Anim .Comp, 23.5.81 -87.

DYE C., KELICK–KENDRICK R., VITUTIA MM., WALON R., KILLICK –KENDRICK M., HARITH A E., GUY MW., CANAVATE MC., AND HASIBEDER G., 1992.

Epidemiology of canine leishmaniasis: prevalence, incidence and basic reproduction number calculated from a cross-sectional serological survey on the island of Gozo, Malta.

Parasitology, **105**, p 35-41.

ETTINGER S., 1989.

Ocular manifestations of systemic disease.

In : text book of veterinary internal medicine disease of the dog and cat .vol 1 .Third Ed , WB –Saunders, Philadelphia 81.

EUZEBY J ., 1984.

Les parasitoses humaines d'origines animales.

Ed. Flammarion, p 48-58.

EUZEBY J., 1982.

Thérapeutique de la leishmaniose générale du chien .Actualités Perspectives

Rev.Med.Vet.,**133**. p 383-390

FERRER LM., 1999.

Clinical aspects of canine leishmaniasis

Canine Leishmaniasis an update .Proceedings of the International Canine Leishmania Forum Barcelona, Spain, p 6-10.

FERRER LM., AISA MJ., ROURA X AND PORTUS M ., 1995

Serological diagnostic and treatment of canine leishmaniasis.

Veterinary Record,**136**, p 514-516.

FILLIPI C., MALHERBE L ., JULIA V .,ET GLAICHENHAUS N ., 2001

L'immunité contre les leishmanies .

Médecine et sciences ,**17**,p 1120-8

FISA R., GALLEGU M., AISA MJ., SERRA T., DE COLMENARES M., CASTILLJO S., AND PORTUS M., 1997 .

Serologic diagnostic of canine leishmaniasis by dot- ELISA.
Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, **9**, p 50-55

FRANK J ., 1985 .

Application de la réaction d'agglutination directe au diagnostic des leishmanioses humaines et canines.
Mémoire pour le D.E.R.B.H de parasitologie de Marseille.

GARDENER P J., CHANCE M., and PETERS . 1974.

Biochemical taxonomy of leishmania .II.Electrophoretic variation of malate dehydrogenase.
Ann.trop.Med.Parasite.,**71**:147-155.

GARDENER P J., SCHORY L. AND CHANCE M., 1977.

Species differentiation in the genus leishmania by morphometric studies with electron microscopy.
Ann. Trop. Med. Parasit., **71**, p 147-155.

GARNI R., 2001.

La leishmaniose canine aspect épidémiologique et caractérisation iso –enzymatique de la souche de *leishmania* isolée de chiens dans l'algérois
Mémoire d'ingénieur d'état en biochimie e U.S.H.T.B.

GIAUFRET A., SANCHIS R. AND VTU C., 1976.

Les examens de laboratoire de la leishmaniose canine .1 Application au diagnostic au pronostic et au contrôle du traitement dans la maladie naturelle.
Rev. Med. Vet .**127**.6. p 913-930.

GINEL PJ., LUCENA R., LOPEZ R., AND MOLLEDA J., 1998

Use of allopurinol for maintenance of remission in dog with leishmaniasis.
J. Small. Anim. Pract, **39**:271-274.

GIRAUD P.ET CABASSU H., 1982.

La leishmaniose canine dans la région de Marseille.
Bull. Soc. Pathol. Exot., **25**, p 1040-1043.

GODFREY DG., 1979.

The zymodemes of trypanosomes .In the identification of parasites and their reservoir.
Sym Brit .Soc. Paqrsit.**17**, p 31-53.

GRADONI L., 2002.

Diagnostic : les nouvelles techniques-
L'action vétérinaire n°1579.

GRADONI L., GRAMICCIA M., PESSON B. ET MADULOLEBLANG G ., 1991.

Isoenzyme characterization of Leishmania from man ,dog and sandflies in the Maltese islands
Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg, **85**, p 217-219.

GRAMICCIA M., GRADONI L., AND ORSINI S., 1992

Decreased sensitivity to meglumine antimoniate glucantime of Leishmania infantum isolated from dogs after several courses of drugs treatment .
Ann.Trop. Med. Parasitol., 86, 613-620.

**GREZEL D , PAIEROK G , LEMRSTRE JC , GEVREY J , TCHIKAYA T ET
BLANC C -1994.**

Etude d'un nouveau diagnostic sérologique rapide de la leishmaniose canine par agglutination latex
Med. et Armées. 22.1. : 99-100.

GROULADE P. ET BOURDEAU P., 1988

Moyens pratiques de mise en évidence des leishmanies.
Prat. Med .et Chir .de l'Anim de Comp; 23 (suppl n°5) :73-79.

GROULADE P., 1977.

Hématologie et biologie clinique dans la leishmaniose
Prat. Med. et Chir. de l'Anim de Comp ; 121-128.

HAMEL H., 1860

Etude comparative des boutons d'Alpes et de Biskra.
Rec. Mém. Méd. Milit., 1860, 4, 314-339.

HARRAT Z., ADDADI K., BELKAID M. ET TABET –DERRAZ O., 1992.

La leishmaniose viscérale en Algérie .recensement des cas de leishmaniose viscérale (période 1985-1990).
Bull. Soc. Path. Ex. **85**, p 296-301.

HARRAT Z., BENKHEROUF K., TAHARBOUCHT Z., BENDALI BRAHAM S., YAHY T., HAMRIOUI B. ET BELKAID M., 1995a.

La leishmaniose canine urbaine.
Arch. Inst. Pasteur Algérie. **60**:157-165

HARRAT Z., HAMRIOUI B., BELKAID M., ET TABET DERRAZ, 1995b.

Point actuel sur l'épidémiologie des leishmanioses en Algérie.
Bull. Soc. Pathol. Exot., **88**, p. 180-184.

HARRAT Z., PRATLON G., BENIKHEF R., CHAFFA N., LAMI P., LEFEBVRE M., MARTINI A., ROUQUAINOL C., BENDALI BRAHAM S., BELKAID M., ET DEDET JP., 1995c.

Identification isoenzymatique de 58 isolats de Leishmania d'origine humaine et canine obtenue en Algérie.
Arch. Inst. Pasteur Algérie. **60**, p. 167-175

HARRAT Z., PRATLONG F., BELAZZOUG S., DEREURE J., DENIAU M., RIOUX JA., BELKAID M., DEDET JP., 1996

Leishmania infantum et *leishmania major* in Algeria.
Trans. R. Soc. Med. Hyg, **90**, p. 625-629.

HARRAT Z., ET BELKAID M., 2002.

Les leishmanioses dans l'algérois, donnée épidémiologiques.
6^e congrès international francophone de médecine tropicale "santé et urbanisation en Afrique " (Dakar, octobre ,2002)

HARITH A E., SLAPPENDEL RJ., REITER I., VAN KNAPEN P., HUIGEN E. ET KOLKAH J. 1989.

Application of a DAT for detection of specific anti – leishmania antibodies in the canine reservoir.

J. Clin. Microbiol., **27** p 2252-2257.

HASS P. ET OZON C., 1988.

Expression standardisées des résultats dans la sérologie de la leishmaniose canine.

Application à la réaction ELISA.

Prat. Med. et Chir. de l'Anim de Comp; 23(5):89-92.

HASS P. ET OZON C., 1994.

Leishmaniose canine : Sérologie par la technique ELISA.

Méd. et Armées ; 22(1) : 95-96.

HOLZUULLER P., CAVALEYRA MOREAUX J., KOVACIC R., VINCENDEAU P., PAPIEROK GL. AND LEMESTRE JL., 2005.

Lymphocytes of dogs Immunised with purified excreted –secreted antigens of leishmania co-incubed with leishmania infected macrophages produce INF gamma resulting in nitric oxide - mediated amastogotes apoptosis.

Veterinary Immunology and Immunopathology.

IZRI M A., BELAZZOUG S., BOUDJEBLA Y., DEREURE J., PRATLONG S., DELALBRE – BELMONTE ET RIOUX JA ., 1990

Leishmania infantum MON -1 isolé de *phlebotomus perniciosus* ,en Kabylie Algerie Ann,parasitol,Hum .Comp .**65**,151-152.

IZRI MA. ET BELAZZOUG S., 1993

Phlebotomus larroussius perfliew naturally infected with dermotropic Leishmania infantum at Tenes , Algeria .

Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.,**87**, p.399.

JAFFE C., 1999.

Prosoectives for a vaccine against canine leishmaniasis

Canine leishmaniasis. An update .Proceeding of international canine leishmaniasis forum p 66-71

JIMENEZ M., FERRER -DUDUFOL M., CANAVATE C., GUTIERREZ -SOLAR B., AND MOUNA R., 1995

Variability of *Leishmania infantum* among stocks immunocompromised immunocompetent patients in Spain ,
FEMS. Microbiol. Letters, **131**, 197-204

JOLIFFE DS., 1985.

Nephrotoxicity of pentavalent antimonials.
Lancet, 1,584.

KEENAN CM., HENDRICKS L.D., LIGHTNER L., ET JHONSON AJ., 1984.

Visceral leishmaniasis in the German shepherd dog
Vet. pathol, 2, 80-86,.II-pathology .

Killick-kendrik R., and Killick-kendrik M., 1999.

Biology of sand fly vectors of mediterranean canine leishmaniasis .
Canine Leishmaniasis an update .Proceedings of the International Canine Leishmania Forum Barcelona, Spain .p 26-31.

KOUTINAS AF., POLIZOPOULOU Z., SARIDOMICHELAKIS M.N., ARGYRIADIS D., FYTIANO. A., PLEVRAKI J.G., 1999.

Clinical considerations of canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996).
JAAHA, **35**, p. 376 -383.

LAMOTHE J., 1997.

Essai de traitement de la leishmaniose canine par l'amphotéricine B.
Prat. Med. Chir. Anim. Comp., 42: p.170-175.

LANOTTE G., RIOUX JA., MAAZOUN R., PASTEUR N., PRATLONG F. ET LEBART J., 1981

Application de la méthode numérique à la phylétique du genre leishmania Ross, 1903. (*Kinoplastida - Trypanosomatidae*) utilisation des caractères enzymatiques . C.R.Acad.Sci.Paris..299:sér III: p.769-722.

LANOTTE G., RIOUX JA., PERIRERS J., ET VOLHARDT Y., 1979.

Ecologie des leishmaniose dans le sud de la France .10.Les formes évolutives de la leishmaniose viscérale canine. Elaboration d'une typologie bio clinique à finalité épidémiologique.

Annales de Parasitologie Humaine et Comparée, 54, p.227-295

LANOTTE G., 1975.

Foyer de leishmaniose viscérale humaine des Cévennes.

Thèse de en biologie humaine. Montpellier, p. 50-51.

LANOTTE G., RIOUX JA., GROSET H., ET VOLHART Y., 1975.

Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. Complément à l'application épidémiologique de la technique d'immunofluorescence : les titres géométriques et arithmétiques moyens dans la leishmaniose canine.

Annales de Parasitologie Humaine et Comparée, 50, (1) : p.1-5.

LANOTTE G, RIOUX JA., GROSET H. ET VOLHART Y., 1974.

Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. Dépistage de l'enzootie canine par la méthode immunosérologique.

Annales de Parasitologie Humaine et Comparée, 49,(1) :p.49-62.

LEE ST., CHING SC., SINGH AK., ET LIN HY., 1995.

Identification of leishmania species by a specific DNA probe that is conserved only in the maxicircle DNA of human –infective leishmania parasite.

J, Inf. Dis., 172, p.891-894.

LEMESTRE JL., HOLZMULER P., CAVALEYRA M., CONCALVES RB., HTTIN G., AND PAPLEROK G., 2005.

Protection against experimental visceral leishmaniasis infection in dogs immunized with purified excreted secreted antigens of leishmania infantum promastigotes

Vaccine, **23**, p.2825 -2040.

**LEVINE ND., CORLISS JO., COX FE J., DEROUX G., DRAIN J., HONIGBERGET BM.,
LEEDALE GF., LOEBLICH AR., LOM J., LYNN D., MERINFELD E.G., PAGE F., C.,
POLJANSKY G., SPRAGUE V., VAVRA J., ET WQLLACE G., 1980.**

A new revised classification of the Protozoa.

J. Protozool, **27**, p. 37-58

LOCKSLEY M., ET REINER SL., 1995.

Murine leishmaniasis and the regulation of CD 4+ cell development .Molecular
Approaches to Parasitology,

Eds. J. C .Boothroyd and R. Kouninecki. New York. John Wiley,

Sons, Inc .,12: p.455-466

LOOKER D.L., 1986.

Mechanism of actions of pyrazolopyrimidines in *Leishmania donovani*

J. Biol. Chem., 1986.261, p.9412- 9415

MANCIANTI F., ET MECIANI N., 1988.

Specific serodiagnostic of canine leishmaniasis by indirect Immunofluorescence ,indirect
hemagglutination and counterimmunoelectrophoresis .American Journal of Veterinary
Research , 49, p.1409-1411.

MAHINE L., CHADLI M., ET OURAGH L., 1985.

Intérêt de quelques examens paracliniques simples pour le diagnostic et le contrôle du
traitement de la leishmaniose canine .a propos de deux cas .

Magehreb veterinaire. Vol 2, n°7 avril.

MARTINEZ -MORENO A., MARTINEZ -MORENO FJ., ACOSTA I., et HERNANDEZ S.,1995.

Humoral and cell- mediated immunity in natural and experimental canine leishmaniasis .
Veterinary immunology and immunopathology, **48**, p 209-220.

MARTY P.,

Equipe de recherche sur les leishmanioses (ERLEISH)

Faculté de médecine, université de Nice –Sophia Antipolis et centre hospitalier universitaire de Nice.

MARTY P., LACOUR J.P., PRATLONG F., PERRIN C ., GIUDICE DEL P., et LE FICHOUX Y., 1998.

Leishmaniose cutanée localisée due à *Leishmania infantum* Mon -1 contractée dans le nord de l'Algérie.

Bull. Soc. Pathol. Exot. 91(2), p. 146-7.

MIQUEL S., 1997.

Intérêt de Western –Blot dans le dépistage de la leishmaniose canine en région Marseillaise.

Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté Paul Sabatier, Toulouse p. 103

MILLIS KB ., 1990.

The unusual origin of the polymérase chain reaction.

Sci Am ,262 ; 56-61

MYLONAKIS M., PAPAIOMANNOU N., SARIDONICHELAKIS M.N., KOUTINAS A.F., BILLINIS C., et KOUTOS VI., 2005.

Cytological patterns of lymphadenopathy in dogs infected with *Leishmania infantum* .

Vet. clin pathol. sep ,34(3), p.243-7.

NASKIDACHVILI L et PEROX F., 1988.

La pathologie rénale chez le chien leishmanien .

Prat. Med. Chir. Anim. Comp., 23,5. p.29-35.

NEIJAR R., LEMRANI R., MALKI A., IBRAHIMY S A., AROUCH H., BENSLIMANE A.,1998

Canine leishmaniasis due to *leishmania infantum* MON -1 in northern Morocco .

Parasite ,5, p.325-330.

NEOGY AB., VOUDOUKIS I., SILVA OA., TSELENTIS Y., LASCOMBE JC., SEGALEN T., RZEPKA D., MONJOUR L., 1992.

Serodiagnosis and screening of canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Corcica : application of a direct agglutination test and Immunoblot analysis .American Journal of tropical medicine and hygiene

NIETO C.G., GARCIA-ALOSO M., REQUENA J. M., MIRON C., SOTO M., ALOSO C., NAVARRETE I., 1999.

Analysis of the humoral Immune response against total and recombinant antigens of leishmania infantum correlation with disease progression in canine experimental leishmaniasis .Veterinary Immunology and Immunopathology ,67, p.117-130.

NICOLLE C., et MANCEAUX L., 1909.

Sérodiagnostic du kala –Azar Infantile.
Arch .Inst .Pasteur .Tunis .3, p.129-138

NICOLLE C., et COMTE C., 1908.

Kala Azar experimental du chien .In: Recherches sur le Kala Azar entrepris à l'Institut Pasteur de Tunis.

Arch. Inst .Pasteur. Tunis, **3**: p.99-103

ODDO F.G., et GASCIO G., 1963

Il test di Immunofluorescenza nelle leishmaniosi viscerale e cutanea.
Riv. Ist. Sieroter. Ital., 38, p.139-145.

O .I .E., 2000.

Leishmaniosis .in .manuel of standards for diagnostic test and vaccines.
4th dition, office international des epizooties, Paris, p 803-81

OLIVA G., 1995

Activity of liposomal amphotericin B in dogs naturally infected with leishmania infantum .
Journal of antimicrobiale chemotherapy, 36, p.1003-1009.

O.M.S., 1990.

Lutte contre les leishmanioses.
Rapp, Comité OMS d'Expert. Rapport technique n° 793 .
Org.Mond.Santé.Genève

OSKMAN L, SLAPPENDEL RJ ,BEIJER EG M ,KROON NCM ,VAN INGEM CW ,OZENSOY S, OSBEL Y., et TERPOSTRA WJ., 1996

Dog –Dat : a direct agglutination test using stabilized , freeze –dried antige for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis .

Immunol. Med. Microbiol, 16:p.235-239.

OZENSORY S., OZBEL Y., TURGARY N., ALKAN M., GUL K., GILMAN SACHS A., CHANG KP., REED SG., AND ALI OZCEL M., 1998

Serodiagnostic and epidemiology of visceral leishmaniasis in Turkey.

American Journal of Tropical Medicine Hygiene, 59, p.363-369.

OZON C., MARETY P., LELEVIERE A., BIORGALI J., CORNIGLION A., GIACOMO A., ET LAMOTHE J., 1999.

Le chat réservoir de *Leishmania infantum* dans le sud de la France ?

CD of the precedings of the 24th Wsava Congress, Lyon 23rd-26th, September 1999

PAPADOPOULOU C .,KOUSTOULA., DIMITRIOU D., PANAGIOU A., BOBOJIANNI C., AND ANTONIADES G., 2005

Human and canine leishmaniasis in asymptomatic and symptomatic population in Northwestern Greece.

J .Infect., **50**, p.53-60.

PENA MT., ROURA X., AND DAVIDSON MG., 2000.

Ocular and perocular manifestations of leishmaniasis in dogs .105 cases (1993-1998).

Vet .Ophtalmol ; (1): p.35-41

PENNISI M.G., 1999.

Case report of *Leishmania* spp .Infection into cats from the Aeolian archipelago (Italy).

CD of the proceedings of the 24th Wasava congress. Lyon 23rd -26th September 1999

POLI A., SOZZI S., GUIDI BANDINELLI P., AND MANCIANTI F., 1997

Comparison of aminosidine (paromomycin) and sodium stibogluconate for treatment canine leishmaniasis .

Veternary. Parsitology, **71**, p.263-271

PRATLONG F., DEDET JP., MART P., PORTUS M., AND DENICU M., 1995

Leishmania human immunodeficiency virus co infection in the Mediterranean basin: isoenzymatic characterization of 100 isolates of *Leishmania infantum* complex.

J. Infect. Dis ,**172**, p.323-326

QUILLICI M., TOGA L., DUNAN S et DUMON H., 1969.

L' immunofluorescence dans les leishmaniose – comparaison avec la réaction du fixation du complément.

Med .Trop .28, 1, p.37-43.

QUINELL R.J., COURTENAY O., DAVIDSON S., GARCEZ B., LAMBSON B., RAMOS P., SHAW J.J., SAW M.A., AND DYE C., 2001.

Diagnostic of infection of leishmania infantum by PCR serologie and cellular immune response in a cohort study of brazilian dogs. Parasitology , **122**, p.253-261.

QIAO Z., MILES M.A., AND WILSON S.M., 1995.

Detection of parasites of leishmania donovani complex by a polymerase chain reaction –solution hybridization enzymes linked immunoassay (PCR - shela).

Parasitol .,110: p.269-275.

RACHAMIN N., JAFFE CL., ABRANCHES P., SILVA –PEREIRA MCD., SCHNUR L., REAL S., MAXIA L., VITAL F., GLORIOSO NS., CARAPPA S., AND VESCO G., 1999

Detection of *Leishmania infantum* in dogs by PCR with lymph node aspirates and blood.

J Clin Microbial. Sept ; **37**(9): p.2931-5.

RAMI M., ATATHOUCH T., SABRI M., CADI SOUSSI M., BENAZZOU T., AND DAKKAK A., 2003

Canine leishmaniasis in the Rif mountains (Moroccan Mediterranean): a seroepidemiological survey

Parasite, Mars ; 10(1): p.79-85.

REALE S., MAXIA L., VITALE F., GLORIOSO NS., CARAPPA S and VESCO G.,1999.

Detection of Leishmania in dogs by PCR with lymph nodes aspirates

and blood .

Journal of clinical microbiology ,37, p.2931-2935.

RHALEM A., SAHIBI H ., LASRI S., AND JAFFE C.L ., 1999

Analysis of Immune responses in dogs with canine visceral leishmaniasis before and after drug treatment.

Veterinary and immunology and immunopathology ,71, p.69-76.

RIERA C., VALLADARES JE ., GALLEGRO M., AISA MJ ., CASTILLO S., FISA R ., RIBAS N ., CARRIO J., ALBEROLA J and ARBOIX M ., 1999 .

Serological and parasitological follow up in dogs experimentally infected with Leishmania infantum and treated with meglumine antimoniate .

Veterinary Parasitology ,84, p.33-47.

RIOUX J.A., et GOLVAN Y., 1969.

Epidémiologie des leishmanioses dans le sud de la France.

Paris, INSERM, p. 9-223.

RIOUX J.A., et ALBERT J L., 1969.

Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France -2- les réservoirs selvatique.

Infestation spontanée du renard (Vulpes vulpes)

Ann .Parasit. Hum. Com. ,43, p.421-428.

RIOUX JA ., LANOTTE G ., SERRES E ., PRATLONG F ., BASTIEN P et PERRIES J ., 1990.

Taxonomy of Leishmania .Use of isoenzymes Suggestion for a new classification.

Ann Parasitol Hum Comp; 65: p.111-125.

RODHAIN F et PEREZ., 1985.

Précis d'entomologie médicale et vétérinaire

Maloine s.a éditeur, p157-175.

ROSS R ., 1903.

Note on the bodies described by leishman and Donovan.

Brit med j ,2: p.1261-1262.

ROSE M., 1988 .

Manifestations conjonctivales et cornéennes de la leishmaniose .
Prat .Méd.Chir.Anim.Comp.23(4): p.245-254.

ROSE M ., 1986 .,

Manifestations oculaires de la leishmaniose canine
Prat . Rec .Méd.Vét .162(1): p.19-26.

RIVO G .,POGGI M, MIGONE W et MANCIANTI F ., 2000.

Immunomigrazione della diagnosi sierologica della leishmaniosi canina : prouva comparative con l'immunoflorescenza indirecta .
Veterinaria ;anno 14 n°2,agosto: p.61-64.

RUMEAU -ROUQUETTE C., BLONDEL B., KAMINSKI M., et BREAT G ., 1995 .

Epidémiologie : Méthodes et pratique. Médecine -Science Flammarion

SEMIANO -SANTOS SJ ., EL HARITH A .,FERREIRA E., PIRES C., A ,SOUSA C and GUSMAO R .,1995

Evora district as a new focus for canine leishmaniasis in Portugal
Parasitology research ,81, p.235-239.

SERGEANT E ., SERGEANT E.,PARROT L.,DONATIEN A et BEGUET M .,1921.

Transmission du clou de Biskra par phlébotome (Phlebotomus papatasi Scop)
Acad. Sci.(Paris)173, p.1030-1032

SERGEANT E ., SERGEANT E. , LOMBARD et QUILICHINI ., 1912.

La leishmaniose à Alger .infection simultanée d'un enfant, d'un chien et d'u chat dans la même habitation.
Bulletin de la Société de Pathologie Exotique., 5, p.93-98.

SIDERIS V., PAPADOPOULOU G., DOTSIKA E., and KARAGOUNI E., 1999

Asymptotique canine leishmaniasis in Greater Athens area Greece
European Journal of epidemiology, 15, p.271-276.

SLAPPENDEL R., and TESKE ,E 1999 .

A review of canine leishmaniasis presenting outside endemic areas .

In : Killik –Kendrick , R (red) Canine leishmaniasis : an update.

Wiesbaden : Hoeschst Roussel Vet , p.54-59.

SLAPPENDEL R., 1988.

Canine leishmaniasis .a review based on 95 cases in the Netherlands.

The vet. quarterly .vol **10**, n°1 January, p. 1-16.

**SOLANO GALLEGO L., FERNANDEZ BELLON H., SERRA R .,GALLEGO M.,
RAMIS A., FONDEVILA D and FERRER L.,2003.**

Cutaneous leishmaniosis in the horses in Spain .

Equine .Vet. j .May ;35(3): p.320-323.

SOUZA AI., 2005

Osteomyelitis associated with visceral leishmaniasis in a dog

Vet Parasitol apr 20,129, 1-2 51-4.

THAKUR C P., 1986.

Harmful effect of high stibogluconate treatment of kala -azar in India

Trans .Roy Soc. Trop. Med. Hyg, **80**, p.672-673.

TVEDTEN H W ., 1981.

Hematology of the normal dog and cat .

The .Vet Clin .of north Am Clinical Hematology .vol 11 n°22.209-219. Saunders.

VERCCAMMEN F., DE DEKKEN and KAGERUKA P., 1995 .

First evaluation of use of allopurinol as a single for treatment of canine leishmaniosis.

Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrijf, 64: 208-214

**VIDOR E ., DEREURE J .,PRATLONG F ., DUBREIL N ., BISSUEL G., MOREAU Y.,
et RIOUX., 1991.**

Le chancre d'inoculation dans la leishmaniose canine à *Leishmania infantum* .étude d'une cohorte en région cévenole.

Prat. Méd. Chir. Anim. Comp. ,**26**, p.133-137

WEBY M.1999

Protozoologie médicale.

De Boeck et Larcier S.A .,p. 123-135.

ZAFFARONI E. , RUBAUDO L.,LANFRANCHI P .,MIGONE W .,1999

Epidemiological patterns of canine leishmaniasis in Western Liguria Italy.

Veterinary Parasitology, **81**, p. 11-19.

ZAHAR A R., 1980 .

Studies on leishmaniasis vectors reservoirs and their control in the Old World .Part 3, Middle East .

WHO /VBC/80 766 .Geneva . World Health Organization.

Sites internet :

1 – Anonyme, www.pasteur.fr .

2 - www.atlas-dermato.org/atlas/leishmfir

Annexes

Annexe I :**Tableau I :** Récapitulatif des symptômes observés chez les chiens leishmaniens dans notre étude

N° du chien	Symptômes	Diagnostic
01 2 ans, B. A., Ain Naâdja ♀	Asymptomatique Réside avec un chien leishmanien.	IFI = 1/320 HC = -
02 BA, Ain Naâdja ♀	Asymptomatique	IFI = 1/80 HC = -
05 3ans et 1/2 ans, B.A., Kouba ♀	Ulcérations cutanées surtout le corps, allongement de griffes, chute de poils, croûtes, kérato- conjonctivite 	IFI=1/320 HC = -

05	 Après traitement	
06 5 ans, caniche, Beni Messous ♀	 kératite ulcéreuse, hypertrophie ganglionnaire, furfures, amaigrissement prononcé, abattement anémie, lésion cutanée.	IFI = 1/320 PG = +

07 4 ans, Bab el oued BA ♀	Ulcération au niveau des oreilles, dépilation au tour des yeux "signes de lunettes", chute de poils, allongement des griffes. 	IFI = 1/160 PG=- HC=-
08 8 ans, Blida. ♂	Epistaxis, amaigrissement voir cachexie, splénomégalie, hépatomégalie, problème rénal, hypertrophie ganglionnaire. 	IFI=1/80 HC =-

		
10 2 ans, Beagle, Baraki ♂	Au début : Aucun symptôme, sauf chancre d'inoculation, et de l'ulcération au niveau des pattes antérieurs et postérieurs, puis des lésions en forme de "verrues " sur tout le corps avec adénopathie. 	IFI=+1/160. PG=- HC=-

12 Beagle. 3ans et 1/2 Baraki ♀	Asymptomatique 	I.F.I= +1/80 H.C =-
16 BA. 5ans. Reghaia ♂	Ulcération sur tout le corps, adénopathie, chute de poils, abattue ; amaigrissement.	I.F.I= +1/80 H.C =-
17 BA. 5ans. Beni Messous ♂	Epistaxis, lésion cutanée, ulcération au niveau des pattes, adénopathie, chute de poils, abattue, amaigrissement.	H.C =- I.F.I= +1/320
27 commune. 5 ans. Chérage. ♂	Amaigrissement, dépilations, ulcérations cutanées, épistaxis, splénomégalie.	IFI=1/640 H.C =-
28 BA. 3 ans. EL Harrach. ♂	Adénopathie et amaigrissement	I.F.I=+ 1/320 H.C =-

41 B.A. 3 ans Chéraga ♂	Adénopathie, amaigrissement et lésions.	IFI= +1/80 H.C =-
42 Doberman 3 ans Ben Aknoun ♂	Adénopathie, amaigrissement, anémie, abattement, allongement des griffes, hyperthermie, associée à une piroplasmose.	I.F.I= +1/80 H.C =+
45 Doberman 4 ans El Achour ♀	 Abattement, amaigrissement, chute de poils surtout autour des yeux, amyotrophie, ulcération au niveau des pattes, et une dénothie.	I.F.I =1/160, H.C =+

		
46 BA 5 ans Khraicia ♂	Amaigrissement, et une hypertrophie ganglionnaire.	H.C = +
50 Commune 7 ans Soudania ♂	 Amaigrissement, chute de poils, amyotrophie, abattement, kératite et un furfur amiantacé.	I.F.I = +1/80. H.C = -

52 BA 2anset1/2 Baraki ♂	Chute de poils, adénopathie, amaigrissement, lésion cutanée, ulcération au niveau des pattes et de visage.	I.F.I =1/160 HC = -
		

55 BA 2 ans Hydra ♂	Ulcération sur tout le corps, furfur, alopecie et un épistaxis	I.F.I.=+1/320. HC = -
56 Basset 5 ans Saoula ♂	 Hypertrophie ganglionnaire, et un léger amaigrissement.	I.F.I.= + 1/80 P.G=- H.C = -

57 Blue Gaston 4anset½ Saoula ♀	Hypertrophie ganglionnaire, et un amaigrissement	IFI =+1/160. PG=- HC = -
		

68 BA 3 ans El Harrach ♀	Hypertrophie ganglionnaireet des ulcérations au niveau des pattes.	I.F.I.=+1/640. H.C = -
70 Commune 4 ans Télemly ♂	Hypertrophie ganglionnaire, chute de poils et un maigrissement.	I.F.I. =+1/80 HC = -
95 Commune 5 ans Bab EL Oued ♂	Asymptomatique	I.F.I.= +1/80 H.C = -

103 Griffon 2 ans Saoula ♀	Asymptomatique	I.F.I.=+1/80. H.C = -
109 Commune 5 ans El Biar ♂	Asymptomatique	I.F.I.= +1/80 H.C = -
111 Commune 12 ans El Achour ♀	Hypertrophie ganglionnaire, lésions cutanées : croûtes, dépilation au niveau de visage, ulcération sur tout le corps, et un amaigrissement.	I.F.I.=+1/80. H.C = +

112 BA 6 ans El Achour ♂	Hypertrophie ganglionnaire, ulcération cutanée, amaigrissement, et une cachexie.	I.F.I.=+1/160 HC = +
120 Commune 3 ans Souidania ♂	 Asymptomatique	I.F.I.=+1/80. H.C = -

122(a gauche) Courrant 2 ans Souidania 	 Asymptomatique	I.F.I.=+1/80 H.C = -
125 Brun du Jura 1 ans et ½ Souidania 	 Asyptomatique	I.F.I.=+1/80 H.C = -
126 Griffon 2anset1/2 Souidania 	Asymptomatique	I.F.I.= +1/80 H.C =-
133 BA 2 ans  Baraki	Hypertrophie ganglionnaire, signe de lunette, kérato-conjonctivite, image de vieux chien, et un amaigrissement très prononcé.	I.F.I.=+1/320 H.C = -

136 BA 2ans et ½ El Harrach ♀	Asymptomatique	I.F.I=+1/80 H.C = -
139 BA 3ans et ½ El Harrach ♂	Asymptomatique	I.F.I=+1/80 H.C = -
140 Dog Allemand 2 ans Chéraga ♂	Hypertrophie ganglionnaire et des ulcérations au niveau des pattes.	I.F.I=- H.C=- W.L = +

147 Commune 3 ans Réghaia ♂	Asymptomatique	IFI= + 1/80 HC = - W.L = -
152 BA 3 ans Saoula ♂	Hypertrophie ganglionnaire, dépilations et un amaigrissement.	IFI = - HC = - WL = +
167 BA 3 ans OuledFayet ♂	Asymptomatique	I.F.I=- H.C=- WL = +

183 BBM 6 ans Saoula ♀	Dépilations, amaigrissement et les lésions cutanées.	I.F.I=- H.C=- W.L = +
---	--	-----------------------------

193 Commune 6 ans BenAknoun 	Hypertrophie ganglionnaire.	I.F.I=- H.C=- W.L = +
222 BA 4 ans Draria 	Asymptomatique	I.F.I=+1/80

255 Griffon 4 ans Douira 	Amaigrissement, hypertrophie ganglionnaire, signe de lunette, et chute de poils.	IFI=+1/640 W.L = +
271 BA 2 ans Drarja 	Asymptomatique	I.F.I=+1/80 H.C=- W.L = +
272  BA 5 ans Ain Naadja	Asymptomatique	I.F.I=+1/80 W.L =

274 BA 5 ans Ain Naadja 	Visage de vieux chien, hypertrophie ganglionnaire, et des crises épileptiques.	I.F.I=+1/160 H.C = -
276  BA 5 ans Saoula	Amaigrissement, chute de poils et une hypertrophie ganglionnaire.	I.F.I=+1/160 H.C = -

281
BA
3ans
BabElOued

♀



amaigrissement, anémie, ulcères cutanées, onychogryffose, adénopathie, epistaxis, amyotrophie, et problème rénale

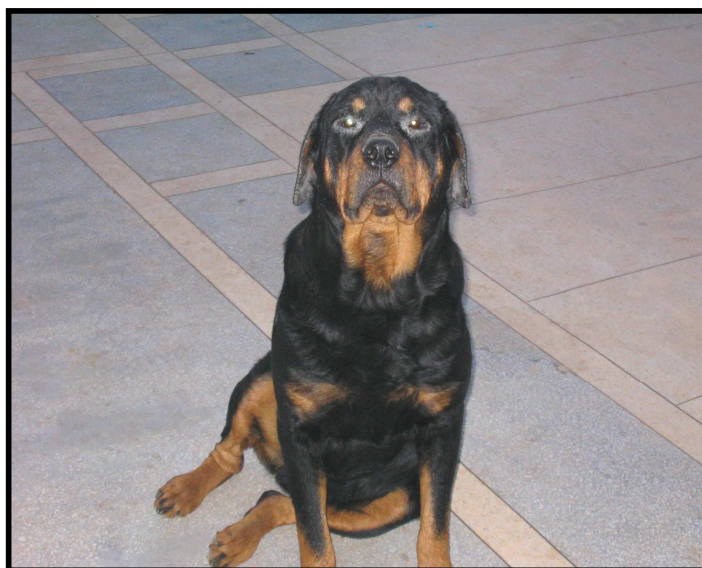
I.F.I.=+1/80
H.C = -

282 BA 3 ans Baînem	♂	Adénopathie et amaigrissement.	I.F.I.=+1/80 H.C= -
283 BA 2 ans Chéraga	♀	Adénopathie, chute de poils et des ulcérations au niveau des pattes.	I.F.I.=+1/320
286 BA 4 ans Chéraga	♂	Adénopathie, amaigrissement, épistaxis, et des ulcérations cutanées.	I.F.I.=+1/320
287 Rot weiler 2 ans Ouled Fayet	♂	Dépilation autour des yeux, ulcérations au niveau des pattes, abattement, et un amaigrissement.	I.F.I.=+1/160
288 7 ans Montagne des Pyrénées Dély Ibrahim	♀	Alopécie généralisée, adénopathie et un abattement.	I.F.I.=+1/80
291 Doberman 5 ans Chevaley	♂	Alopécie généralisée, ulcération cutanée au niveau des pattes.	I.F.I.=+1/80
295 BA 5 ans Baînem	♀	Hypertrophie ganglionnaire, et amaigrissement.	I.F.I.=+1/80
298 BA 5 ans Chéraga	♀	ulcération au niveau des pattes, épistaxis, et adénopathie.	I.F.I.=+1/80

302 Rotweiller 4 ans Draria ♂	Signe de lunette, allongement des griffes, ulcération au niveau des pattes antérieur, hyperkératose, amaigrissement.  Début de la maladie	I.F.I.=+1/160.
	 Maladie en état d'évolution	



Stade avancé de la maladie



Stade avancé de la maladie

303 Commune 10 ans El Achour ♀	Hypertrophie ganglionnaire, allongement des griffes, chute de poils, amaigrissement prononcé.	I.F.I.=+1/320
304 Commune 2 ans ElHarrach	Hypertrophie ganglionnaire, chute de poils, amaigrissement avancé.	WL = +

305 BA 4 ans Draria ♂	 Amaigrissement.	I.F.I.=+1/80.
--	--	---------------

Annexe II : Récapitulatif des informations (age, sexe, localité) et des résultats de diagnostic (IFI, WL, cultures), présence ou absence de symptômes de la leishmaniose canine chez les 305 chiens.

N°	Race	Age	Sexe	I.F.I.	W.I.	Culture	Localité	Symptomatique+ Symptomatique -
1	Berger Allemand	2 ans	♀	+1/320	.	Hc -	Ain naàdja	-
2	Berger Allemand	2 ans	♀	+ 1/80	.	Hc -	Ain naàdja	-
3	Caniche	2ans1/2	♀	—	.	Hc -	Ain naàdja	
4	Berger Allemand	3 ans	♂	—	.	Hc -	Ain naàdja	
5	Berger Allemand	3ans1/2	♀	+ 1/320	.	PG -	Kouba	+
6	Caniche	5 ans	♂	+ 1/320	.	PG +	Beni messous	+
7	Berger Allemand	4 ans	♂	+ 1/160	.	PG -Hc -	Bab el oued	+
8	Berger Allemand	8 ans	♂	+ 1/80	.	-	Blida	+
9	Berger Allemand	4 ans	♂	—	-	Hc -	Bordj el bahri	
10	Beagle	2 ans	♂	+ 1/160	.	Hc -PG -	Baraki	+
11	Beagle	2 ans	♂	-	.	Hc-PG -	Baraki	
12	Beagle	3ans1/2	♀	+ 1/80	.	Hc -	Baraki	-
13	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.	Hc -	Dely Ibrahim	
14	Berger Allemand	3 ans	♀	-	.	Hc -	Kouba	
15	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.	Hc -	Baraki	
16	Berger Allemand	5 ans	♂	+ 1/80	.	Hc -	Reghaia	+
17	Berger Allemand	5 ans	♂	+ 1/320	.	Hc -	Beni messous	+
18	Basset	3 ans	♀	-	/	Hc -	Bouchaoui	
19	Berger hollandais	6 ans	♂	-	.	Hc -	Shaoula	
20	Caniche	6 ans	♂	-	.	Hc -	Chéraga	
21	Berger Allemand	2 ans	♀	-	.	Hc -	Blida	
22	Berger Allemand	10 ans	♀	-	.	Hc -	Dely Ibrahim	
23	Rotweiller	2 ans	♂	-	.	Hc -	Draria	
24	Pitbull	3 ans	♂	-	.	Hc -	Draria	
25	Berger Allemand	4 ans	♂	-	.	Hc -	Douira	
26	Berger Allemand	2ans1/2	♀	-	.	Hc -	El achour	
27	Commune	5 ans	♂	+ 1/640	.	Hc -	Chéraga	+
28	Berger Allemand	3 ans	♂	+ 1/320	.	Hc -	Rouiba	+

29	Berger Allemand	3 ans	♀	-	.	Hc -	Rouiba	
30	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.	Hc -	Rouiba	
31	Dog allemand	4 ans	♀	-	.	Hc -	Rouiba	
32	Dog allemand	3 ans	♀	-	.	Hc -	Rouiba	
33	Dog allemand	3 ans	♂	-	.	Hc -	Rouiba	
34	Dog allemand	3 ans	♂	-	.	Hc -	Rouiba	
35	Dog allemand	4 ans	♂	-	.	Hc -	Rouiba	
36	Berger Allemand	4 ans	♀	-	.	Hc -	Rouiba	
37	Berger Allemand	2 ans	♀	-	.	Hc -	Rouiba	
38	Berger Allemand	2 ans	♀	-	.	Hc -	Rouiba	
39	Berger Allemand	3ans1/2	♀	-	.	Hc -	Rouiba	
40	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.	Hc -	Rouiba	
41	Berger Allemand	3 ans	♂	+ 1/80	.	Hc -	Chéraga	+
42	Doberman	3 ans	♂	-	.	Hc +	Ben Aknounge	+
43	Berger Allemand	5 ans	♂	-	.	Hc -	Reghaia.	
44	Berger Allemand	7 ans	♂	-	.	Hc -	Chéraga.	
45	Doberman	4 ans	♀	+ 1/160	.	PG+Hc -	El Achour.	+
46	Berger Allemand	5 ans	♂	-	.	Hc +	Khraïcia.	+
47	Commune	5 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania	
48	Commune	6 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania	
49	Commune	7 ans	♀	-	.	Hc -	Souidania	
50	Commune	7 ans	♂	+ 1/80	.	Hc -	Souidania	+
51	Commune	5 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania	
52	Berger Allemand	2ans1/2	♂	+ 1/160	.	Hc -	Baraki.	+
53	Berger Allemand	7 mois	♂	-	.	Hc -	El Achour.	
54	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.	Hc -	El Achour.	
55	Berger Allemand	2 ans	♂	+ 1/320	.	Hc -	Hydra.	+
56	Basset	5 ans	♂	+ 1/80	.	Hc-PG -	Saoula.	+
57	Bleu de gaston	4ans1/2	♀	+ 1/80	.	Hc-PG -	Saoula.	+
58	Basset	3 ans	♂	-	.	Hc -	Saoula.	
59	Basset	3 ans	♂	-	.	Hc -	Saoula.	
60	Berger Allemand	2 ans	♀	-	.	Hc -	Saoula.	

61	Berger Allemand	3ans1/2						
62	Berger Allemand	4 ans	♂	-	.	Hc -	Saoula.	
63	Courrant	5 ans	♀	-	.	Hc -	Saoula.	
64	Courrant	3 ans	♂	-	.	Hc -	Saoula.	
65	Courrant	2ans1/2	♀	-	.	Hc -	Saoula.	
66	Dog allemand	2ans1/2	♂	-	.	Hc -	Saoula.	
67	Dog allemand	3ans1/2	♂	-	.	Hc -	Saoula.	
68	Berger Allemand	3 ans	♀	+ 1/640	.	Hc -	Harrach.	+
69	Berger Allemand	3 ans	♂	-	.	Hc -	El Achour.	
70	Commune	4 ans	♂	+ 1/80	.	Hc -	Telemeley.	+
71	Commune	4 ans	♂	-	.	Hc -	Zeralda.	
72	Commune	4 ans	♂	-	.	Hc -	Staouli.	
73	Commune	5 ans	♂	-	.	Hc -	Staouli.	
74	Commune	3 ans	♂	-	.	Hc -	Baraki.	
75	Berger Allemand	3 ans	♀	-	.	Hc -	Douira.	
76	Berger Allemand	4 ans	♀	-	.	Hc -	Khraïcia.	
77	Commune	2 ans	♂	-	.	Hc -	El Achour.	
78	Commune	2 ans	♂	-	.	Hc -	Sidi M'hamed	
79	BergerBelge malinois	3 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
80	Schnawsar grand	3 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
81	Schnawsar grand	3 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
82	Berger Allemand	3 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
83	Schnawsar grand	2 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
84	BergerBelge malinois	2 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
85	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
86	BergerBelge Tervuren	2ans1/2	♀	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
87	Schnawsar petit	3ans1/2	♀	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
88	Schnawsar petit	5 ans	♀	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
89	BergerBelge Tervuren	2 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
90	BergerBelge Tervuren	6 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
91	Schnawsar petit	2 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	

92	Schnawsar petit	4 ans	♂	-	.	Hc -	Bab El Zouar.	
93	Commune	2 ans	♂	-	.	Hc -	Zeralda.	
94	Berger Allemand	3 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
95	Commune	5 ans	♂	+ 1/80	.	Hc -	BEO.	-
96	Berger Allemand	6 ans	♂	-	.	Hc -	BEO.	
97	Berger Allemand	7 ans	♀	-	.	Hc -	El Achour.	
98	Berger Allemand	4 ans	♀	-	.	Hc -	El Achour.	
99	Pit bull	18 mois	♂	-	.	Hc -	Draria.	
100	Berger Allemand	9 ans	♂	-	.	Hc -	Chevaly	
101	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.	Hc -	El Achour.	
102	Berger Allemand	2 ans	♀	-	.	Hc -	Zeralda.	
103	Griffon	2 ans	♀	+ 1/80	.	Hc -	Shaoula.	-
104	Griffon	4 ans	♂	-	.	Hc -	Shaoula.	
105	Commune	7 ans	♂	-	.	Hc -	Beni messous.	
106	Commune	4 ans	♂	-	.	Hc -	Bon Aknoun.	
107	Berger Allemand	6 ans	♂	-	.	Hc -	Bon Aknoun.	
108	Berger Allemand	5 ans	♀	-	.	Hc -	El Achour.	
109	Commune	5 ans	♂	+ 1/80	.	Hc -	El Abiar.	-
110	Berger Allemand	5 ans	♂	-	.	Hc -	El Abiar.	
111	Commune	12 ans	♀	+ 1/80	.	Hc +	El Achour.	+
112	Berger Allemand	6 ans	♂	+ 1/160	.	Hc +	El Achour.	+
113	Berger Allemand	8 ans	♂	-	.	Hc -	Baba Hasen.	
114	Berger Allemand	10 ans	♀	-	.	Hc -	Ben Aknoune.	
115	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.	Hc -	Chevaley.	
116	Commune	3 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
117	Commune	6 ans	♀	-	.	Hc -	Souidania.	
118	Commune	2 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
119	Griffon	5 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
120	Commune	4 ans	♂	- 1/80	.	Hc -	Souidania.	-
121	Berger Allemand	1ans1/2	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
122	Courrant	2 ans	♂	+ 1/80	.	Hc -	Souidania.	-
123	Griffon	1ans1/2	♀	-	.	Hc -	Souidania.	

124	Griffon	1ans1/2	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
125	Griffon	1ans1/2	♂	+ 1/80	.	Hc -	Souidania.	-
126	Courrant	2ans1/2	♀	+ 1/80	.	Hc -	Souidania.	-
127	Courrant	3 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
128	Courrant	2 ans	♀	-	.	Hc -	Souidania.	
129	Courrant	1 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
130	Courrant	1 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
131	Courrant	3 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
132	Courrant	1 ans	♂	-	.	Hc -	Souidania.	
133	Berger Allemand	2 ans	♂	+ 1/320	.	Hc -	Baraki.	+
134	Berger Allemand	4 ans	♀	-	.	Hc -	Harrach.	
135	Berger Allemand	3 ans	♂	-	.	Hc -	Harrach.	
136	Berger Allemand	2ans1/2	♀	- 1/80	.	Hc -	Harrach.	-
137	Berger Allemand	7 ans	♂	-	.	Hc -	Harrach.	
138	Berger Allemand	3 ans	♀	-	.	Hc -	Harrach.	
139	Berger Allemand	3ans1/2	♂	- 1/80	.	Hc -	Harrach.	-
140	Dog allemand	2 ans	♂	-		Hc -		+
141	Dog allemand	10 ans	♀	-	-	Hc -	Chéraga.	
142	Berger Allemand	5 ans	♂	-	-	Hc -	Chéraga.	
143	Rotweiller	4 ans	♂	-	-	Hc -	Sidi Moussa.	
144	Berger Allemand	2 ans	♂	-	-	Hc -	Reghaia.	
145	Berger Allemand	3 ans	♂	-	-	Hc -	Rouiba.	
146	Commune	4 ans	♂	-	-	Hc -	Rouiba.	
147	Commune	3 ans	♂	+ 1/80	-	Hc -	Reghaia.	-
148	Commune	2 ans	♀	-	-	Hc -	Reghaia.	
149	Commune	5 ans	♂	-	-	Hc -	Sidi Moussa.	
150	Berger Allemand	5 ans	♂	-	.	Hc -	Sidi Moussa.	
151	Berger Allemand	4 ans	♂	-	.	Hc -	Reghaia.	
152	Berger Allemand	3 ans	♂	-	+	Hc -	Saoula.	+
153	Berger Allemand	6 ans	♀	-	-	Hc -	Baraki.	
154	Commune	7 ans	♂	-	-	Hc -	Sidi M'hamed.	
155	Berger Allemand	5 ans	♂	-	-	Hc -	Sidi Moussa.	

157	BA	3 ans	♀	-	-	Hc -	Bab El oued.	
158	BA	2 ans	♂	-	-	Hc -	Hussein – dey.	
159	Rottweiler	2 ans	♂	-	-	Hc -	El Harrach.	
160	Commune	6 ans	♂	-	.	Hc -	El Harrach.	
161	Commune	3 ans	♂	-	.	Hc -	Birkhadem.	
162	Berger Allemand	3 ans	♂	-	.	Hc -	Draria.	
163	Berger Allemand	4 ans	♂	-	.	Hc -	El Achour.	
164	Commune	4 ans	♂	-	.	Hc -	Douira.	
165	Commune	2 ans	♂	-	.	Hc -	Draria.	
166	Rottweiler	2 ans	♂	-	-	Hc -	Chéraga.	
167	Berger Allemand	3 ans	♂	-	+	Hc -	Oueled Fayet.	-
168	Commune	4ans1/2	♂	-	.	Hc -	Chéraga.	
169	Commune	5 ans	♂	-	.	Hc -	Aïn Beniane.	
170	Commune	6 ans	♂	-	.	Hc -	Aïn Beniane.	
171	Commune	3 ans	♂	-	.	Hc -	Dely Ibrahim.	
172	Commune	4 ans	♂	-	.	Hc -	Oueled Fayet.	
173	Commune	5 ans	♂	-	.	Hc -	Sidi 'hamed.	
174	Commune	3 ans	♂	-	.	Hc -	Sidi 'hamed.	
175	Berger Allemand	2 ans	♂	-	-	Hc -	Khraïcia.	
176	Berger Allemand	6 ans	♂	-	-	Hc -	Bouzaréha.	
177	Berger Allemand	2 ans	♂	-	-	Hc -	Ben aknoune.	
178	Rottweiler	4 -ans	♂	-	-	Hc -	Ben aknoune.	
179	Griffon	4 ans	♂	-	-	Hc -	Baraki	
180	Commune	4 -ans	♂	-	-	Hc -	Madania.	
181	Commune	5 ans	♂	-	-	Hc -	Moradia.	
182	Commune	5 ans	♀	-	-	Hc -	Chéraga.	
183	B.B.M.	6 ans	♀	-	-	Hc -	Saoula.	
184	Commune	6 ans	♀	-	+	Hc -	Hydra.	+
185	Berger Allemand	6 ans	♀	-	-	Hc -	Saoula.	
186	Berger Allemand	4 ans	♀	-	-	Hc -	Kouba.	
187	Commune	4 ans	♀	-	-	Hc -	Ben Aknoune.	
188	Berger Allemand	3 ans	♀	-	-	Hc -	Ben Aknoune.	

189	Berger Allemand	4 ans	♂	-	-	Hc -	Harrach.	
190	Berger Allemand	3 ans	♀	-	-	Hc -	Harrach.	
191	Berger Allemand	5 ans	♀	-	-	Hc -	Bouzaréha.	
192	Commune	5 ans	♀	-	-	Hc -	Bouzaréha.	
193	Commune	6 ans	♂	-	+	Hc -	Ben Aknounge.	+
194	Berger Allemand	2ans1/2	♂	-	.		Birtouta.	
195	Berger Allemand	2 ans	♀	-	.		Ouled Chebel	
196	Berger Allemand	4 ans	♂	-	.		Ouled Chebel	
197	Commune	5ans	♂	-	.		Birtouta.	
198	Berger Allemand	6 ans	♂	-	.		Zeralda.	
199	Berger Allemand	5 ans	♀	-	.		Chéraga	
200	Berger Allemand	7 ans	♂	-	.		Rehmania.	
201	Berger Allemand	5 ans	♂	-	.		Souidania.	
202	Berger Allemand	3 ans	♂	-	.		Souidania.	
203	Commune	2 ans	♂	-	.		Bouzaréha.	
204	Commune	5 ans	♀	-	.		Bouzaréha.	
205	Berger Allemand	4 ans	♀	-	.		Ben Aknounge.	
206	Berger Allemand	3 ans	♂	-	.		Ben Aknounge.	
207	Berger Allemand	6 ans	♂	-	.		Bachjarah	
208	Berger Allemand	4 ans	♂	-	.		Bachjarah.	
209	Berger Allemand	2 ans	♀	-	.		El Abiar.	
210	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.		El Abiar.	
211	Berger Allemand	3 ans	♀	-	.		Kouba.	
212	Berger Allemand	4 ans	♂	-	.		Baraki.	
213	Berger Allemand	4 ans	♀	-	.		Saoula.	
214	Commune	3 ans	♂	-	.		Hydra.	
215	Berger Allemand	3 ans	♀	-	.		Bab El Zouar.	
216	Commune	2 ans	♂	-	.		Kouba.	
217	Berger Allemand	2 ans	♀	-	.		Ain Taya.	
218	Commune	2 ans	♀	-	.		El Achour.	
219	Commune	4 ans	♂	-	.		El Achour.	
220	Commune	5 ans		-	.		Ouled fayet	

221	Berger Allemand	3 ans	♂	-	.		Draria.	
222	Berger Allemand	4 ans	♂	+ 1/80	.		Draria.	-
223	Berger Allemand	4 ans	♂	-	.		Draria.	
224	Commune	3 ans	♀	-	.		Harrach.	
225	Commune	2 ans	♀	-	.		Harrach.	
226	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.		Dely Ibrahim.	
227	Berger Allemand	2ans1/2	♂	-	.		Dely Ibrahim.	
228	Commune	3 ans	♀	-	.		Kouba	
229	Commune	3 ans	♀	-	.		Baraki.	
230	Berger Allemand	3 ans	♂	-	.		Baraki.	
231	pitbull	4 ans	♀	-	.		Bouzaréha.	
232	Berger Allemand	2 ans	♀	-	.		Bouzaréha.	
233	Berger Allemand	1ans1/2	♀	-	.		El Achoura.	
234	Berger Allemand	2 ans	♀	-	.		Draria.	
235	Commune	5 ans	♂	-	.		Draria.	
236	Berger Allemand	3 ans	♂	-	.		Draria.	
237	Rottweiler	4 ans	♂	-	.		Draria.	
238	Berger Allemand	6 mois	♂	-	.		Draria.	
239	doberman	8 mois	♂	-	.		El Abiar	
240	Doberman	8 mois	♀	-	.	.	El Achour.	
241	Berger Allemand	6 mois	♂	-	.	.	El Achour.	
242	Bottweiler	2 ans	♂		.	.	Draria.	
243	Pitbull	2 ans	♂	-	.	.	Draria.	
244	Berger Allemand	15 mois	♂	-	.	.	Draria.	
245	Berger Allemand	7 ans	♂		.	.	Draria.	
246	Berger Allemand	6 ans	♀	-	.	.	Draria.	
247	Berger Allemand	10 ans	♀	-	.	Hc -	Draria.	
248	Berger Allemand	8 ans	♂	-	.	Hc -	Draria.	
249	Pitbull	3 ans	♂	-	.	.	Draria.	
250	Berger Allemand	4 ans	♀	-	.	Hc -	Draria.	
251	Berger Allemand	9 ans	♀	-	.	Hc -	Draria.	
252	Pitbull	10 ans	♂		.	Hc -	Draria.	

253	Berger Allemand	1 ans	♀	-	.	Hc -	Draria.	
254	Berger Allemand	3 ans	♀		.	.	Draria.	
255	Griffon	4 ans	♀		+	.	Draria.	+
256	Berger Allemand	6 ans	♀	-	-	.	Douira.	
257	Pitbull	6 mois	♂	-	-	.	Bouzaréha	
258	Basset	6 mois	♂	-	-	.	Draria.	
259	Pitbull	4 ans	♂	-	-	.	Draria.	
260	Pitbull	2 ans	♂	-	-	.	Draria.	
261	Berger Allemand	2 ans	♂	-	-	.	Draria.	
262	Berger Allemand	4 ans	♂	-	-	.	Saoula.	
263	Berger Allemand	3 ans	♂	-	-	.	Draria.	
264	Pitbull	9 ans	♂	-	-	.	Draria.	
265	Berger Allemand	3 ans	♂	-	-	.	Telémely.	
266	Berger Allemand	2 ans	♂	-	-	.	Draria.	
267	Berger Allemand	2 ans	♂	-	-	.	Draria.	
268	Berger Allemand	2 ans	♂	-	-	.	Draria.	
269	Berger Allemand	4 ans	♂	-	-	.	Draria.	
270	Berger Allemand	4 ans	♂	-	-	.	Draria.	
271	Berger Allemand	2 ans	♂	+ 1/80	+	.	Draria.	-
272	Berger Allemand	5 ans	♀	+ 1/80	+	.	Aïn Naadja.	-
273	Berger Allemand	4 ans	♂	-	-	.	Kouba.	
274	Berger Allemand	5 ans	♂	+ 1/160	.	.	Aïn Naadja.	+
275	Berger Allemand	5 ans	♂	-	.	.	Kouba.	
276	Berger Allemand	2 ans	♂	+ 1/160	.	.	Saoula.	+
277	Beagle	2 ans	♂	-	.	.	Baraki.	
278	Beagle	2 ans	♀	-	.	.	Baraki.	
279	Beagle	2 ans	♂	-	.	.	Baraki.	
280	Berger Allemand	20 mois	♂	-	.	.	Bab El oued.	
281	Berger Allemand	3 ans	♀	+1/80	.	.	Bab El oued.	+
282	Berger Allemand	3 ans	♂	+ 1/80	.	.	Baïnem.	+
283	Berger Allemand	2 ans	♂	+ 1/320	.	.	Chéraga.	+
284	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.	.	Baraki.	

285	Berger Allemand	9 ans	♂	-	.	.	Chéraga.	
286	Berger Allemand	4 ans	♂	+ 1/320	.	.	Chéraga.	+
287	Rottweiler	2 ans	♂	+ 1/160	.	.	Ouelefayet.	+
288	Montagne des pyrénées	7 ans	♀	+ 1/80	.	.	Dely Ibrahim.	+
289	Berger Allemand	2 ans	♂	-	.	.	Chéraga.	+
290	Rottweiler	4 ans	♂	-	.	.	Chéraga.	
291	Doberman	5 ans	♂	+ 1/80	.	.	Chevalley.	+
292	Berger Allemand	9 ans	♂	-	.	.	Chéraga.	
293	Berger Allemand	5 ans	♂	-	.	.	Chéraga.	
294	Berger Allemand	5 ans	♂	-	.	.	Dely Ibrahim.	
295	Berger Allemand	5 ans	♀	+ 1/80	.	.	Bainem.	+
296	Berger Allemand	5 ans	♂	-	.	.	Dely Ibrahim.	
297	Berger Allemand	4 ans	♂	-	.	.	Chéraga.	
298	Berger Allemand	2 ans	♂	+ 1/80	.	.	Chéraga.	+
299	Berger Allemand	5 ans	♂	-	.	.	Chevalley.	
300	Berger Allemand	7 ans	♂	-	.	.	Chéraga.	
301	Berger Allemand	7 ans	♀	-	.	.	Dely Ibrahim.	
302	Rottweiler	4 ans	♂	+ 1/160	.	.	Draria.	+
303	Berger Allemand	10 ans	♀	+1/320	.	.	El Achour.	+
304	Commune	2 ans	♂	-	+		Harrach	+
305	Berger Allemand	4 ans	♂	+ 1/80			Draria	+

Annexe III : Comparaison de 02 tests de diagnostic de la leishmaniose (W.L., I.F.I.) chez 57 chiens.

N°Chien	W.L.	I.F.I.	N°Chien	W.L.	I.F.I.
09	-	-	166	-	-
140	+	-	167	+	-
141	-	-	175	-	-
142	-	-	176	-	-
143	-	-	177	-	-
144	-	-	178	-	-
145	-	-	179	-	-
146	-	-	181	-	-
147	-	+1/80	182	-	-
148	-	-	183	+	-
150	-	-	184	-	-
151	-	-	185	-	-
152	+	-	186	-	-
153	-	-	187	-	-
154	-	-	189	-	-
155	-	-	190	-	-
156	-	-	191	-	-
157	-	-	192	-	--
158	-	-	193	+	-
255	+	+1/640	266	-	-
256	-	-	271	+	+1/80
257	-	-	272	+	+1/80
258	-	-	273	-	-
259	-	-	268	-	-
260	-	-	269	-	-
261	-	-	270	-	-
262	-	-	304	+	.
263	-	-			
264	-	-			
265	-	-			

Annexes IV :

I. Matériel et réactifs pour l'IFI

Appareil :

Réfrigérateur thermo régulé à -20° c.

Etuve.

Micropipettes

Distributeur tampon.

Microscope UV.

Tube à essais.

Lames à puits.

Produits et réactifs :

- Conjugué IgG
- Solution de bleu d'Evans.
- Tompon PBS
- Glycérine

II. Matériel pour l'hémoculture:

- Milieu NNN
- Tube citrate.
- Centrifugeuse.
- Etuve à 21°c
- Microscope optique.

III. Matériels pour la ponction ganglionnaire :

- Seringue de 10 CC.
- Eau physiologique à 9 %.
- Milieu NNN.
- Etuve à 24°.

IV. Matériels pour le test WL:

- Une plaquette test.
- un flacon compte gouttes de solution tampon. (2ml)
- pipettes.
- Sang total, plasma, sérum.

V. Matériel et réactifs pour le typage iso- enzymatique :

Matériel non biologique:

a- Electrophorase sur gel d'amidon.

a- 1 : Appareil et consommables:

- hôte à flux laminaires.
- Etuve thermo régulée à +28°C.
- Centrifugeuse réfrigérée (+4°C, 14000 tr/min).
- Autoclave.
- Containers DEWAR[®] D'azote liquide pour la cryoconservation des souches.
- Pipette pasteur.
- Bec bensen.
- Microscope optique.
- Congélateur -20°C.
- Bain marie.
- Lame et lamelle.
- Seringues.
- Gaze.
- Micropipettes.

2-Produits :

Produits chimiques :

- Acide acétique. CH_3COOH
- Acide chlorhydrique HCL.
- Alcool 95°.

- Azote liquide.
- bleue de bromothymol.
- Chlore de potassium KCl
- Citrate $C_6H_5Na_3O_7, 2H_2O$.
- Eau physiologique 0.3% et 0.9%
- Hydroxyde de sodium NaOH
- Glycérol $C_3H_8O_3$.

Additifs:

- Agar noble.
- Carbonate de sodium anhydre Na_2CO_3 .
- Chlorure de magnésium $MgCl_2, 6H_2O$ (0.5M) (0.2M) (0.25M).
- Chlorure de magnésium $MnCl_2 4H_2O$.
- DiCiP: 2-6 dichlorophenol indophénol Na salt grade I.
- EDTA: Acide éthylène diaminetétracétique $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8, 2H_2O$.
- East blue BB 4-Benzoyl amino-2,5 diethoxybenzene diazonium
- Chloride salt $C_{17}H_{18}N_3O_3Cl, 1/2ZnCl_2$.
- MTT3-(4-5 diméthyl thiazol)-2-5 biphenyl tétrazolium bromide thiazolyl blue.
- Natrium dihydrogenophosphate -1 hydrate NaH_2PO_4 .
- NBT nitro blue tétrazolium $C_{40}H_{30}Cl_2N_{10}O_6$.
- PMS phenazine méthosulfate (N-methyl dibenzopyrazine methyl sulfate $C_{13}H_{11}N_2CH_3SO_4$.
- Tris hydroxymethyl aminométhane $C_4H_{11}NO_3$.

Réactifs:

- Acide aspartique $C_4H_7NO_4$.
- Acide furamique sel mono sodique $C_4H_2O_4Na_2$.
- Acide furamique disodique $C_5H_8NO_4$.
- Acide isocitrique $C_5H_6O_7Na_3$.
- Acide maléique disodique $C_4H_4O_4$.
- Acide L glutamique monosodique $C_5H_8NO_4$.
- L'acide malique $C_4H_4O_5$.
- Acide -6- phosphogluconique disodique $C_6H_{10}O_{10}PNa_3.2H_2O$.
- Anhydre Na_2CO_3

- Fructose -6- phosphate $C_6H_{11}O_9PNa_2$.
- Glucose -1-phosphate $C_6H_{11}O_9PK_2, 2H_2O$.
- Glucose -6-phosphate $C_6H_{11}O_9PNa$.
- Iosine $C_{10}H_{12}N_4O_5$.
- & Kétoghitare $C_5H_5O_5K$.
- Dimannose 6-phosphate di baryum ou disodique $C_6H_{11}O_9PBa_2$.
- Pyridoxal -5- phosphate $C_8H_{10}NO_6P$.
- Pyrivate sel monosidique $C_3H_3O_3Na$.

Enzymes et coenzymes :

Enzymes:

- G6PD glucose -6- phosphate déshydrogénase.
- MDH acide malique déshydrogénase.
- PGI xanthine phospho-glucose isomerase.
- XOD xanthine oxydase.
- Mannose -6- phosphate sel de BA.

Coenzymes :

- B NADH nicotinamide adinine dinucléotide réduit $C_{21}H_{27}N_7O_{17}P_2N_{12}$.
- NAD nicotinamide adinine grade I $C_2H_{27}N_7O_{14}P_2$.
- NADP nicotinamide adinine dinucléotide $C_{21}H_{26}N_7O_{17}P_3Na_2$.

Les tampons du Typage et les solutions enzymatiques

A - Tampon TC : PH = 9.5.

1 - Tampon pont.

Tris ⇨ 48.45 g

Citrate ⇨ 20.0 g

EDTA ⇨ 7.32 ml

H₂O qs ⇨ 2.000ml.

Adjuster PH

2 - Tampon gel:

TCE 9.5 → 80 ml.

H₂O → 400 ml.

E1- ME: Enzyme Malique :

Tris Hcl (0.2M) PH 88 ml

Solution A5 ml.

Mg cl₂ 6H₂O (0.2M)1 ml.

NADP 1%1ml.

NBT 1%1ml.

Incubation a 37°C, 30 minutes.

PMS 1%0.5ml.

Agar 2%.2ml.

Solution A:

Dissoudre 3.10 g de Na₂Co₃ dans 15 ml d'eau distillée après dissolution ,placer dans un bec de glace ,cette solution .Ajouter lentement

3.35 g d'acide L malique . Après dissolution ajouter 10 ml d'eau distillée.

ajuster à PH = 8 avec une solution de l'acide L malique.

E2-Malate déshydrogénase MDH.

Tris Hcl (0.2M) PH 8.....8ml.

Solution A: → 5ml.

NAD 1%1ml.

NBT 1%1ml.

NaH₂PO₄10mg..

Solution A:

Dissoudre 3.10 g de Na₂Co₃ dans 15 ml d'eau distillée après dissolution ,placer dans un bec de glace ,cette solution ,Ajouter lentement 3.35 g d'acide L malique . Après dissolution ajouter 10 ml d'eau distillée.

Ajouter à PH = 7 avec une solution de D L malique.

Incubation à 39°C ,30minutes .

PMS 1% → 0.5ml.

Agar 2% —————> 5ml.

Révolution à 37°C .

B - Tampon TM PH :7.4.

1 - Tampon Pont:

Tris (0,1M) —————> 60.5 g

Acide Malique (0.1 M) —————> 58g.

Ngcl₂, 6H₂O (0.01M). —————> 10g.

H₂O distiller qsq —————> 5l.

2 - Tampon gel :

Tampon Pont TM pH 7.4 —————> 40 ml.

H₂O distillée —————> 400ml.

E3/-Fumarate hydratase :

Tris Hcl (0.2M) PH 8 —————> 8ml.

Fumaric acide sel dissodique —————> 580mg.

NAD 1%. —————> 3ML.

Pyrrivate sel monosodique —————> 20 ml.

NBT 1% —————> 3ml.

Incubation à 37°C 30 minutes.

Malic déshydrogénase —————> 200 ml.

PMS 1% —————> 0.5ml.

Agar 2% —————> 5 ml.

Révélation à 37°C.

C - Tampon T.M.P.H.: 7,4 NAD / NADP.

1 - Tampon Pont:

Tris (0,1M) —————> 96.90g

Acide Malique (0.1 M) → 40g.
 EDTA (0.01M). → 14.64g.
 Mg cl₂ 6H₂O (0.01M) → 400 ml.
 Eau distillée → 5l.
 Ajuster le PH avec NaOH /Hcl.

2 - Tampon gel :

NAD ou NADP 1% → 5ml.
 Tampon TME PH 7.4 → 40ml
 Eau distillée → 400 ml.

E4/ Tampon TME PH 7.4 NAD.

GPI : Glucose phosphore Isomérase :

Tris (0.2M) → 10 ml.
 Mg cl₂,6H₂O (0.5 M) → 0.5 ml.
 NADP 1% → 1ml.
 NAD 1% → 1ml.
 NBT 1% → 1 ml
 Fructose 6 phosphate → 10mg

Incubation à 37°C ,30 minutes.

Glucose 6 phosphates déshydrogénase → 50 ml.

PMS 1 %. → 0.5ml.

Agar 2% → 5 ml.

Révélation à 4°C.

E5/ PGM: Phosphoglutomitate:

Tris Hcl (0.2M) PH 8 → 10 ml.
 Mg cl₂,6H₂O (0.5 M) → 1 ml.
 NADP 1% → 0.5ml.
 NAD 1% → 1ml.
 NBT 1% → 1 ml
 Glucose 1 phosphate → 300mg
 Incubation à 37°C ,30 minutes.

Glucose 6 phosphates déshydrogénase → 50 ml

PMS → 0.5ml.

Agar 2% → 5 m l.

Révélation à 37°C.

Tampon TME PH7.4 NADP.

E6/ GPI : Glucose -6- phosphate déshydrogénase :

Tris Hcl (0.2M) PH 8 → 10 ml.

Glucose -6- phosphate → 20 mg.

EDTA → 10mg.

NADP 1% → 1ml.

NBT 1% → 1 ml

Incubation à 37°C ,30 minutes.

PMS 1 %. → 0.5ml.

Agar 2% → 5 ml.

Révélation à 37°C.

E7/PGD: Phosphogluconate déshydrogénase

Tris Hcl (0.2M) PH 8 → 10 ml.

Acide -6- phosphoglycérique → 40mg.

Mg cl₂·6H₂O (0.5 M) → 1 ml.

NADP 1% → 0.5ml.

NBT 1% → 1 ml.

Glucose 1 phosphate → 300mg

Incubation à 37°C ,30 minutes.

Glucose 6 phosphates déshydrogénase → 50µl

PMS → 0.5ml.

Agar 2% → 5 ml.

Révélation à 37°C.

D -Tampon TME PH 7.4 NADP.

E8/ Glutamate – Oxaloacetate -Transaminase: GOT 1, GOT2

Tris Hcl (0.2M) PH 8 → 75ml.
α Ketoglutarate → 150 mg.
Acide Aspartique → 300 mg.
Pyridoxal -5- phosphate → 15 mg.

Dissoudre ,ajuster à PH : 7.5 avec une solution de Tris (1M) verser cette solution sur le gel; laisser en contact 30 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière jeter ensuite celle-ci et ajouter la solution suivante:

Fast blue BB → 225mg.
Tris Hcl (.0.2M) PH 8 → 75ml

Lorsque les taches commencent à sortir rincer le gel et remettre la même solution
Révélation à température ambiante.

E-Tampon TC PH:8.6 (NADP):

1 - Tampon Pont:

Tris (0.661M) → 400 mg.
Acide citrique 87g.
Eau distillée qsq → 5l.
Ajuster avec de l'acide citrique ou NaOH.

2 - Tampon gel :

NADP 1% → 4ml.
Tampon pont TC PH 8.6 → 18.7ml.
Eau distillée qsq → 400 ml.
Ajuster PH.

E9 / NP1, NP2 Purine nucléoside phosphorylase :

Tris Hcl (0.2M) PH 8 → 16ml.

Inosine → 40 mg
 NBT 1% → 2ml

Incubation à 37°C ,30 minutes.

Xanthine oxydase → 100µl.
 PMS 1 % → 1ml.
 Agar 2% → 1 ml.

Révélation à 37°C.

E 10/ Mannose phosphate isomérase : MP1.

Tris Hcl (0.2M) PH 8 → 8ml.
 Mannose -6- phosphate → 10mg.
 Mg cl ₂ 6H₂O (0.2 M) → 1 ml.
 NADP 1% → 0.5ml.
 NBT 1% → 1 ml

Incubation à 37°C ,30 minutes.

Phosphoglucose isomérase → 50ml.
 Glucose 6 phosphates déshydrogénase → 100 µl
 PMS → 1ml.
 Agar 2% → 5 ml.

Révélation à 37°C.

E 11/Glutamate deshydrogénase: Glud

Tris Hcl (0.2M) PH 8 ajuster à PH 7.5
 Avec l'acide citrique8ml.
 L glutamic acide sel monosodique.
 (845mg dans 5ml H₂O).....5ml.

NADP 1% → 2.5ml.
 NBT 1% → 2 ml

Incubation à 37°C ,30 minutes.

PMS 1% —————> 0.5ml.

Agar 2% —————> 5 ml.

Révélation à 37°C.

E 12/ ICD: Isocitrate Déshydrogénase ICD

Tris HCl (0.2M) PH8 —————> 8 ml.

Mg $\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.25 M) —————> 1 ml.

Acide Isocitrique (0.25M) —————> 4 ml.
(0.1032g dans 1 ml d'eau distillée).

NADP 1% —————> 1ml.

NBT 1% —————> 1 ml

Incubation à 37°C, 30 minutes.

PMS 1% —————> 0.5ml.

Agar 2% —————> 5 ml.

Révélation à 37°C.

NB: le gel ICD se fait sur du tampon PH 8.6 avec 200mg de MnCl_2 .

E 13 / DIA :

1) Tris HCl (0.2M) PH8 —————> 8 ml.

- Beta NADH —————> 10 mg.

Incubation à 37°C.

-2) MTT —————> 10mg.

Eau distillée —————> 10mg.

Bien agiter au Vortex (dissolution longue).

Ajouter Tris HCl (0.2M) PH8 —————> 8 ml.

3) DISIP solution (1mg/1ml de Tris PH 8) —————> 1ml.

Ajouter 1+2+3+10ml d'agar à 2%.

Révélation à t° ambiante et à l'obscurité.

Annexes V :

1- Milieu Novy –Mac.Neal-Nicolle (N.N.N.)

Préparation de la gélose:

Se servir d'une casserole réservée pour cet usage, on utilise :

Gélose "Difco"5g
Nacl.....3g
Eau distillée.....500ml

Sur feu doux, verser le Nacl dans l'eau distillée, ajouter la gélose lorsque l'eau salée frémit.

Remuer sans arrêt avec une baguette de verre ou une spatule jusqu' à dissolution complète.

Distribuer dans des à vis stériles (environ 7 cm 3)

Stériliser à l'autoclave à 120 °pendant 20 mn.

Conserver au réfrigérateur à 4°C

Ponction cardiaque :

Distribuer le sang prélevé stérilement à la seringue de 50 cm 3 , dans des flacons (Pyrex) stériles contenant du citrate de sodium à 10 %,250000 UI de Pénicilline G et 250000 UI de Streptomycine .

Agiter le tout un moment (mouvement circulaires)

Conserver à + 4 °C

Mélange gélose –sang :

Sortir du + 4 °C les tubes de gélose.

Liquéfier ces tubes dans de l'eau distillée et porter ensuite à ébullition.

Ajouter 1 cm 3 de sang pour chaque tube de gélose

Agiter les tubes (gélose + sang) en évitant la formation de bulles.

Laisser refroidir les tubes en position inclinée pendant 24 heures à température du laboratoire.

Conserver à + 4°C.

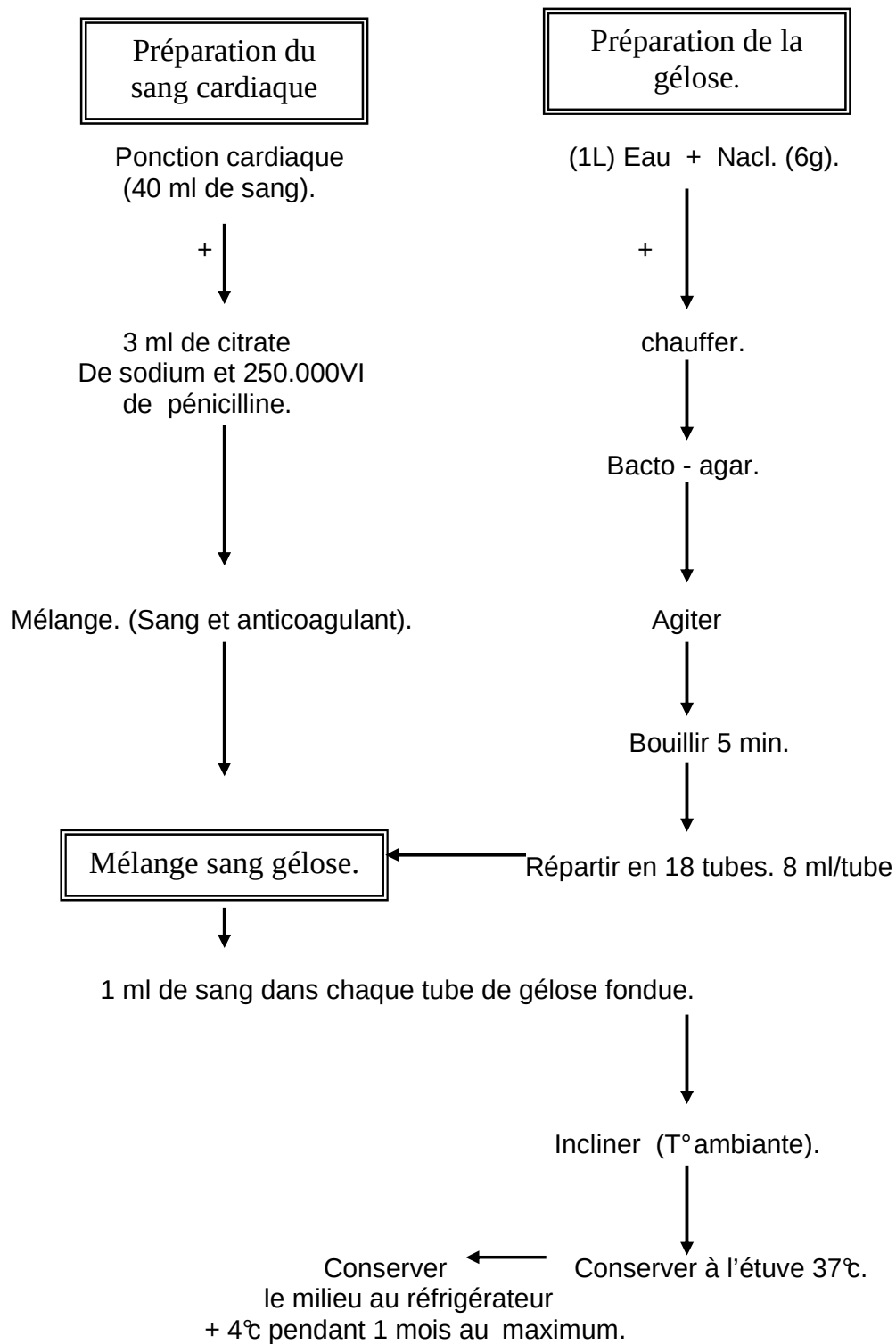


Figure 1 : Préparation du milieu Novy -Mac.Neal-Nicolle (N.N.N.)

2- Préparation Milieu liquide Rosewelle Park Memoriale Institue (RPMI 1640)

Composition :

RPMI 1640 en poudre (1 flacon).....	16.4g
Glutamine.....	2ml
Pénicilline.....	500000UI
Streptomycine.....	500000UI
Eau distillée.....	1000ml

Préparation :

Mélanger les différents composés par agitation magnétique pendant 15 minutes.

Filtrer le milieu avec un filtre de 0,22 µm.

Ajouter :100 ml du sérum de veau fœtal (SVF) décomplémenté à 56° pendant 30 mn au bain – marie.

Mélanger , puis conserver à + 4C°.

3- Milieu Cœur Cerveau Sang (CCS)

1) Préparation de la gélose :

Brain Heart Infusion agar (gélose DIFCO).....	26g
Eau distillée	500ml

Préparation :

Dans une casserole réservée à cet usage, faire désoudre la gélose dans l'eau distillée sur feu doux .

Remuer sans arrêt avec une baguette en verre ou une spatule jusqu ' à dissolution.

Porter à l'ébullition, faire la répartition dans des boites de ROUX à raison de 100 ml par lite , ou dans des flacons à raisons de 20 ml par flacon .

Stériliser dans un autoclave à 120°C pendant 20mn.

Conserver à + 4 °C.

2) Mélange gélose sang :

Sortir du réfrigérateur les boites de ROUX et les flacons de gélose.

Liquéfier ces deniers dans de l'eau distillée et porter en suite à ébullition.

Ajouter 20 ml de sang de cheval décomplémenté dans chaque boîte de ROUX, et 4 ml de sang dans chaque flacon.

Mélanger bien par des mouvements circulaires.

Laisser 24 heures à température du laboratoire.

Conserver à + 4°C.

4- Milieu sérum de lapin coagulé (SLC)

1- Faire la ponction cardiaque du lapin d'environ 50 cm³ de sang contenant 250000 UI de Pénicilline et 250000 UI de streptomycine.

2 – Laisser décanter une nuit à température ambiante.

3- Répartir le sérum obtenu après centrifugation dans des tubes conique à 2500 tr / mn pendant 10 mn en tubes à vis à raison de 02 ml par tubes.

4- Coaguler les tubes de sérum placés en plain incliné dans un bain –marie bouillant pendant 07 à 10 mn.

5- Conserver à + 4°C.

5- Tampon P.B.S PH 7.2

Solution mère :

Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O.....	60 g
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O.....	13.8 g
Eau distillée	1000 ml

Ajuster le PH à 7.2

Conserver à + 4 °C

Au moment de l'emploi (P.B.S ph = 7.2):

Solution de PBS.....	40 ml
Eau physiologique à 0.9%.....	1000 ml

6- Eau physiologique à 0,9 %

NaCl9 g

Eau distillée1000 ml

7- Eau physiologique à 0,3%

NaCl3 g

Eau distillée1000 ml

Annexe IV :

Liste des tableaux, figures, photos :

PARITE THEORIQUE

Tableau I : Incidence relative des signes cliniques associé à la Leishmaniose canine	33
---	----

Listes des figures

Figure n°1 : La forme promastigotes	11
Figure n°2 : La forme amastigotes.....	11
Figure n°3 : Cycle évolutif de <i>Leishmania sp.</i>	14
Figure n°4 : Le cycle biologique des phlébotomes.....	19
Figure n° 5 : La régulation de TH1/TH2.....	41

Liste des photos :

Photo 1 : Morphologie du phlébotome mâle	16
Photo 2 : Morphologie du phlébotome femelle.....	16
Photo 3 : Les œufs de phlébotomes	17
Photo 4 : La larve de 4 ^{ème} stade	17
Photo 5 : La nymphe de phlébotome.....	18
Photo 6 : <i>Phlébotomus perniciosus</i> femelle.....	21
Photo 7 : <i>Phlébotomus perniciosus</i> mâle.....	21
Photo 8 : Chancre d'inoculation	25
Photo 9 : Ulcération au niveau des pattes.....	26
Photo 10 : Alopécie.....	26
Photo 11: Furfur.....	27
Photo 12 : Hyperkeratose.....	28
Photo 13: Onychogriffose.....	28

Photo 14 : Œdème conjonctival.....	29
Photo 15: Conjonctivite muco-purulente associée une hyperkeratose de la truffe	30
Photo 16 : Epistaxis.....	32

PARITE PRATIQUE

Liste des tableaux

Tableau I: Effectif des chiens étudiés selon le sexe.....	51
Tableau II : Les différentes races de chiens prélevés	52
Tableau III : Les Souches de <i>Leishmania</i> isolées (sang et suc ganglionnaire) pour leur caractérisation iso enzymatique.....	64
Tableau IV : Solutions tampons et système enzymatique pur le typage iso-enzymatique.....	67
Tableau V : Récapitulatif des symptômes observés chez les chiens Leishmaniens.....	76
Tableau VI_: Pourcentage des chiens leishmaniens avec ou sans signes cliniques.....	77
Tableau VII: Incidence de la leishmaniose selon le sexe.....	78
Tableau VIII: Incidence de la leishmaniose selon le sexe.....	80
Tableau IX : Nombre de chiens leishmaniens dans les différentes communes et Daïrates de la wilaya d'Alger.....	82
Tableau X : Tests de sensibilité et de spécificité du W.L.....	84
Tableau XI : Zymodème des souches de <i>Leishmania</i> , isolées dans la région d'Alger durant notre étude.....	85
Tableau XII: Profil isoenzymatique obtenu pour les 6 souches typées.....	86

Tableau XIII: la séroprévalence de la leishmaniose canine et les zymodèmes dans les pays du bassin méditerranéen.....	92
--	----

Tableau XV: Tableau comparatif des symptômes observés chez des chiens leishmaniens dans notre étude et celle de Amara et Coll.....	95
---	----

Listes des figures

Figure n°1a : Les différentes étapes de la technique d'Immunofluorescence Indirecte.....	57
Figure n°1b : Les différentes étapes de la technique d'Immunofluorescence Indirecte.....	58
Figure n°2 : Dépôt de l'échantillon pour le test W.L.....	59
Figure n°3 : Dépôt de la solution tampon.....	60
Figure n°4 : Résultat négatif au WL	61
Figure n°5 : Résultat positif au WL	61
Figure n°6 : Techniques de culture	63
Figure n°7 : fréquence des signes cliniques de la leishmaniose canine dans la région D'Alger 2004-2006.....	73
Figure 8 : Pourcentage des chiens symptomatiques et asymptomatiques chez les chiens leishmaniens dans la région d'Alger (2004-2006).....	77
Figure 9 : le pourcentage de la leishmaniose canine selon le sexe dans la région d'alger (2004-2006).....	78
Figure 10 : Le pourcentage de la leishmaniose canine selon les races dans la région d'Alger (2004-2006).....	79
Figure 11: La répartition de la leishmaniose canine selon l'âge dans la région d'alger (2004-2006).....	80

Figure n°12 : Carte géographique des communes et daïra concernées par notre étude	83
--	----

Liste des photos :

Photo n°1 : Chien n°5, présentant des ulcérations sur le museau.....	74
Photo n°2 : Chien n° 8, présentant une cachéxie et une amyotrophie avancée.....	74
Photo 3 : Chien n°302, présentant une dépilation autour des y eux (Signe des lunettes).....	75
Photo n°4 : Chien (n°125) leishmanien asymptomatique.....	75
Photo n°5 : Migration électrophorétique de l'enzyme glutamate oxalo- acétatetransaminase (GOT 1,GOT 2).....	87
..	
Photo n°6 : Migration électrophorétique de l'enzyme glucose- 6 - phosphate déshydrogénase (G6PD).....	87
Photo n°7 : Migration électrophorétique de l'enzyme malate déshydrogénase (MDH).....	88
Photo n°8 : Migration électrophorétique de l'enzyme 6 phosphogluconate déshydrogénase (PGD).....	88

RESUME:

La leishmaniose est une zoonose parasitaire, transmissible à l'homme et au chien par la pique infectante d'un vecteur ; phlébotome femelle.

L'objectif de notre travail est une étude séro-épidémiologique de la leishmaniose canine dans la région d'Alger.

Sur un total de 305 chiens prélevés, 60 se sont avérés positifs aux différents tests sérologiques effectués. Deux variants ont été identifiés par la technique de typage iso-enzymatique; *Leishmania infantum* Mon -1, et *Leishmania infantum* Mon -80.

Mots clés : Leishmaniose canine, Alger, séro-prévalence, typage iso-enzymatique.

SUMMARY:

The leishmaniosis is a parasitic, transmissible zoonose to the man and the dog by the infecting puncture of a vector; phlebotomus female.

The aim of our work is an séro-epidemiologic study of the canine leishmaniose in the area of Algiers.

On a total of 305 taken dogs, 60 proved are positive with the various serological tests. Two variable was identified by the Iso-enzymatic technique of typing; *Leishmania infantum* Mon-1, and *Leishmania infantum* Mon -80.

Key words Canine Leishmaniosis, Algiers, sero-prévalence, Iso-enzymatic typing.

الملخص

الليشمانيا مرض طفيلي متنقل عن طريق لدغة بعوضة إلى الإنسان والحيوان.

غرض هذا العمل هو دراسة مصلية وبائية لداء الليشمانيا الكلبية لمنطقة الجزائر. على مجموع 305 كلب 60 كلب كان ايجابي إلى مختلف التحاليل المصلية باستعمال طريقة التعريف الانزيمية تم تعريف *Leishmania infantum* Mon -1, *Leishmania infantum* Mon -80.

الكلمات المفتاح الليشمانيا الكلبية الجزائر
دراسة مصلية وبائية, طريقة التعريف الانزيمية