République Algérienne Démocratique
et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences
En Sciences Vétérinaires

Thème :

ETUDE DE LA DIROFILARIOSE CANINE DANS LA REGION DE TIARET : PREVALENCE, IDENTIFICATION DES ESPECES VECTRICES, IMPACT EN SANTE PUBLIQUE ET PROPOSITION DE MOYENS DE LUTTE

Présentée par : AMMAM ABDELKADER

Les membres du jury :

Président : Hakem Hocine	Professeur ; Universite de Djelfa
Directeur de these : Aissi Miriem	Professeur ; ENSV - Alger
Examinateur : Bitam Idir	MCA ; ESSAIAA
Examinateur : Laatamna abdelkrim	MCA ; Université de Djelfa
Examinateur : Marniche Faiza	MCA ; ENSV - Alger
Examinateur : Milla Amel	MCA ; ENSV – Alger

Soutenu le 28/06/2017 **mention:** très honorable avec félicitation des membres du jury

Année universitaire : 2016/2017

RESUME :

Le chien est un animal de plus en plus apprécié par les propriétaires d'animaux de compagnie, il représente aujourd'hui une part non négligeable de la clientèle du vétérinaire. Les chiens sont sensibles à de nombreux agent pathogène dont certains peuvent causer des maladies sévères ou être à l'origine d'un risque zoonotique.

La dirofilariose canine est une maladie liée à la transmission, par piqûre de moustique, d'un parasite : *dirofilaria immitis*. Cette zoonose, dont le réservoir principal est le chien. L'expression clinique de la dirofilariose est polymorphe et donc difficile à diagnostiquer. Compte tenu de son impact néfaste sur la population canine et humaine une étude a été menée durant une période allant de juin 2010 à décembre 2015, dans la faculté des sciences vétérinaire dans la wilaya de Tiaret (ouest Algérien) sur :

- **Le réservoir ;** 1300 chiens ont été examinés cliniquement, avec un prélèvement de 1300 échantillons de sang subit plusieurs techniques d'analyse au laboratoire (FNS, MGG, Witness test) puis autopsie des chiens morts et eutanasiés.
- **Le vecteur ;** Piégeages des moustiques par deux méthodes (pièges adhésifs, pièges lumineux).

Au terme de ces analyses :

La prévalence de dirofilariose dans la wilaya de Tiaret est de 0 %.

Dans les différents sites de piégeage de moustique ; les culicidés étaient les plus trouvés.

Mots clés : prévalence, chien, dirofilariose, *Dirofilaria immitis*, culicidés.

Summary:

The dog is an animal increasingly popular with pet owners, it now represents a significant part of the veterinarian's customers. Dogs are susceptible to many pathogens, some of which can cause severe illness or cause a zoonotic risk.

Canine heartworm is a disease related to the transmission by mosquito bite, parasite: heartworm. This zoonosis, whose main reservoir is the dog. The clinical expression of heartworm disease is polymorphic and difficult to diagnose.

Given its negative impact on the dog population and a human study was conducted during the period from June 2010 to December 2015, in the Faculty of Veterinary Science in the wilaya of Tiaret (western Algeria) on:

- **The reservoir** ; 1300 dogs were clinically examined, with a sample of 1,300 blood samples undergoes several laboratory analysis techniques (NSF, MGG, Witness test) and autopsy of the dead and eutanasis dogs.
- **The vector**; Trapping mosquitoes by two methods (sticky traps, light traps).

After these analyzes:

The prevalence of heartworm disease in the wilaya of Tiaret is 0%.

In the various mosquito trapping sites; the culicine were most found.

Keywords: prevalence, dog heartworm, heartworm, culicidae.

ملخص :

أصبح للكلب شعبية متزايدة عند أصحاب الحيوانات الأليفة ، فهو يمثل الآن جزءا كبيرا من زبائن البيطري.

الكلاب عرضة لكثير من مسببات الأمراض، وبعضها يمكن أن يسبب مرض شديد أو يسبب خطر كمصدر لانتقال المرض للإنسان.

الدودة القلبية للكلاب هو مرض ينتقل من خلال لدغة البعوض الحامل للطفيلي: القلبية يعتبر الكلب الخزان الرئيسي لهذا المرض المنتقل للانسان. التعبير السريري للمرض الدودة القلبية هو متعدد الأشكال ويصعب تشخيصها.

نظرا لتأثيرها السلبي على الكلب و الإنسان أجريت دراسة خلال الفترة من جوان 2010 إلى ديسمبر 2015، في كلية العلوم البيطرية في ولاية تيارت (غرب الجزائر) على:

المخزن: 1300 من الكلاب تم فحصها سريريا، مع عينة من 1300 عينات الدم خضعت لعدة تقنيات التحليل المخبري (صيغة صورة الدم طريقة التلوين : اختبار الشاهد) وتشريح الجثة من الكلاب الميتة و المقتولة.

الناقل: محاصرة البعوض عن طريق طريقتين (شراك لزجة، والفخاخ المضيئة).

نسبة انتشار مرض الدودة القلبية في ولاية تيارت هو 0٪.

في مختلف مواقع البعوض محاصرة Les culicidés الأكثر تواجدا.

الكلمات الرئيسية : نسبة انتشار، الكلب،الدودة القلبية، البعوض.

LE SOMMAIRE

INTRODUCTION..... 1

CHAPITRE 1 : ETUDE DE *Dirofilaria Immitis*

I. Taxonomie 3
II. Morphologie du parasite 3
II.1.Description du ver adulte 3
II.2.Description des formes larvaires (microfilaires)..... 5
III. Biologie 7
III.1.Habitat..... 7
III.2.Nutrition..... 7
III.3.Longévité 7
III.4.Cycle évolutif 7
IV. Pathogénie 9
IV.1.Action pathogène 9
IV.1.1.Action mécanique 9
IV.1.1.1. Les vers adultes..... 10
IV.1.1.2. Les microfilaires 10
IV.1.2.Action irritative 11
IV.1.2.1. Les vers adultes..... .11
IV.1.2.2. Les microfilaires..... 11
IV.1.3.Action toxique 11
IV.2.Conséquences :..... 11
IV.2.1. Conséquences cardio-pulmonaires 11
IV.2.2. Conséquences nerveuses..... 13
IV.2.3. Conséquences hépatiques et rénales..... 13
IV.2.4. Conséquences cutanées 13
IV.2.5. Syndrome de la veine cave (syndrome hémolytique aigu)..... 14
V. Immunité 15
V.1. Propriétés antigéniques des filaires 15

V.2. Réaction immunologique de l'hôte définitif 17
V.2.1. Action immunologique défavorable 17
V.2.2.Action immunologique favorable 18
V.1.2.1.Immunité à médiation cellulaire 18
V.2.2.2.Immunité à médiation humorale 18
V.2.2.3.Apparition des anticorps témoins (Etude cinétique)..... 19
V.2.2.4.Caractéristiques de l'immunité 21
VI. Dirofilariose humaine 21
VI.1.Filarioses animales en impasse chez l'homme : 21
VI.2.Les filarioses ont un cycle parasitologique comparable 22
VI.3.Les signes cliniques : 22
VII. Prévalence des la dirofilariose dans le monde 23
VII.1. Prévalence en Amérique..... 23
VII.1.1. Prévalence a Washington 23
VII.1.2. Prévalence au Québec 23
VII.2. Prévalence en Australie 24
VII.3. Prévalence en Europe 25
VII.3.1 Prévalence dans les pays de l'est 29
VII.3.2 Prévalence en Iran 29
VII.4. Prévalence en Afrique 30
VII.4.1 Prévalence en Tunisie..... 30
VII.4.2 Prévalence en Algérie..... 30

CHAPITRE 2 : ETUDE DU VECTEUR DE *Dirofilaria immitis*

I.1. Données morphologiques et taxonomiques sur le vecteur..... 32
I.1.1. Systématique..... 32
I-1-2- Cycle de développement..... 34
I-1-3- Morphologie générale des Culicidés 37
I-1-3-1- L'œuf..... 37
I-1-3-2- La larve..... 38
I-1-3-3- La nymphe..... 41

I-1-3-4- L'adulte 42
I.2.- Etude éthologique des Culicidés 44
I-2-1- Activité biologique 44
I-2-2- Hôte et comportement trophique 45
1-2-4-Les espèces de culicidés isolés en l'Algérie 45
1-2-5-Les espèces vectrices de *Dirofilaria* dans le monde 51

CHAPITRE 3 : LE DIAGNOSTIC DE LA DIROFILARIOSE

I. Les techniques de recherche 54
I.1.Les prélèvements sanguins 54
II. Examen direct : 55
II.2.1.Examen du sang capillaire 55
II.2.2. Examen extemporané à l'état frais 55
III. Examen différé 56
III.3.1. La goutte épaisse 56
III.3.2. Le frottis mince 57
III.3.3. Examen du sang veineux après concentration 57
III.3.3.1. Technique des tubes capillaires 57
III.3.3.2. Technique de KNOTT modifiée 58
III.3.3.3. Technique de filtration 59
VI. Examens indirects: méthodes immunologiques 60
VI.1. Réaction de fixation du complément 60
VI.2. Technique de KOLMER 61
VI.3. Réaction de précipitation en gélose 63
VI.4. L'immunoélectrophorèse 63
VI.5. Réaction d'agglutination passive ou conditionnée 65
VI.6. Réaction d'hémagglutination passive 66
VI.7. Test d'agglutination au latex 67
VI.8. Test d'agglutination à la bentonite 67
VI.9. Anaphylaxie cutanée passive (PCA) 68
VI.10. L'immunofluorescence indirecte (I F I) 69

VI.11. Réaction d'immuno absorption d'enzyme (ELISA) 71

MATERIEL ET METHODES

I. Durée de l'étude 74
II. Description de la zone d'étude : la wilaya de Tiaret 74
II.1.Caractéristiques de la wilaya de Tiaret 74
II.2.Caractéristiques climatologiques 75
III. MATERIEL 84
III.1 Effectif canin 84
IV.METHODOLOGIE..... 84
IV.1.Examen clinique 84
IV.2.-Examens complémentaires..... 86
IV.2.1.La formule de numération sanguine = FNS 86
IV.3.Examens parasitologiques de confirmation 88
IV.3.1.- Prélèvements du sang..... 88
IV.3.2- Les techniques parasitologiques 89
IV.3.2.1.Préparation du frottis 89
IV.3.2.2.Coloration du frottis au May Grunwald Giemsa (M.G.G.) 91
IV.3.2.3. Witness *dirofilaria* 92
IV.3.2.4. Méthode de Knott modifiée..... 95
IV.4.Autopsie des chiens morts ou euthanasies 95
IV.5.Piégeages de moustiques 96
IV.5.1.Pièges adhésifs..... 96
IV.5.2.Les pièges lumineux CDC 97
IV.6. Identification des moustiques 103
IV.6.1. Identification de l'espèce..... 103
IV.6.2. Identification du sexe des moustiques..... 104
IV.7.Indices écologiques 104
IV.7.1.Indice de composition..... 105

RESULTATS

I. Classe d'âge 107
II. Les différentes races de chiens 108
III. Etude clinique de la dirofilariose canine 109
IV. Résultats du diagnostic de laboratoire 117
IV.4.1. Observation directe sous microscope 117
IV.4.2. La coloration des frottis au May-Grunwald Giemsa (M.G.G.) 117
IV.4.3. Witness *dirofilaria* 117
V.5. Résultats des Autopsies 117
VI.6.Résultats des piégeages de moustiques 118

DISCUSSION

I.- Discussion sur la méthodologie 128
I.1- Choix de la zone d'étude 128
I.2- Méthodologie appliquées 128
I.2.1.Frottis sanguin 128
I.2.2. La coloration M.G.G. 129
I.2.3. Witness test 129
II. La prévalence globale 130
II.1 Matériel animal 130
II.2 Les vecteurs 133
II.3 Capacité vectorielle 135
II.4 Le climat 137
CONCLUSION 145
RECOMMANDATIONS 147
PERSPECTIVES 148

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RESUME EN FRANÇAIS

RESUME EN ARABE

RESUME EN ANGLAIS

LISTE DES FIGURES

Figure n 1 : *Dirofilaria immitis* en haut femelle en bas male : queue en forme de tire bouchon **(Nolan. 2004)** 4

Figure n 2 : a : extrémité antérieur (x 39) w.york malpestone 5

b : extrémité caudale de male (x75) w.york malpestone.....5

c : extrémité caudale de la femelle w.york malpestone.....5

Figure n 3 : Larve de *Dirofilaria immitis* **(Scott d.w., 2001)** 5

Figure n 4 : Structure schématique d'une microfilaire (Buckley.j) 6

Figure n 5 : Cycle évolutif de la dirofilariose 9

Figure n 6 : *Dirofilaria immitis* dans le cœur d'un chien 14

Figure n 7 : Prévalence de la dirofilariose canine aux Etats Unis. **(Adler P, 2006).**.....24

Figure n 8 : Comparaison de la répartition géographique de la dirofilariose canine en Europe entre 2001 et 2011. **(Morchón R, 2012)** 27

Figure n 9 : Cycle de développement des culicidés **(Brunhes et al, 1999)**.....35

Figure n 10: L'emergence d'une pupe **(anonyme, 2000)**.....37

Figure n 11: Forme typique des œufs des deux genres de culicides **(berchi, 2000)** 38

Figure n 12 : Vue generale d'une exuvie (culicinae) **(brunhes et al, 2000)**.....39

Figure n 13 : Les soies cephaliques **(Brunhes et al, 2000)**.....40

Figure n 14 : Les soies prothoraciques **(Brunhes et al, 2000)** 40

Figure n 15 : Soies du siphon et du segment VIII et X **(Brunhes et al, 2000)** 41

Figure n 16 : Aspect général d'une nymphe d'aedes **(Brunhes et al, 2000)**.....42

Figure n 17 : Aspect général de l'adulte **(Brunhes et al, 2000)**.....43

Figure n 18 : Principe de test de fixation de compliment 62

Figure n 19 : Principe de test immunoélectrophorèse.....64

Figure n 20 : Principe de test hemagglutination 66

Figure n 21 : Principe de test immunofluorescence 70

Figure n 22 : Principe de test ELISA 73

Figure n 23 : Carte de situation géographique de la zone d'étude (Tiaret) source : conservation des forets de la wilaya de Tiaret (2010).....75

Figure n 24 : Pluviométrie moyenne mensuelle de la wilaya de Tiaret année « 2014 » ...78

Figure n 25 : Pluviométrie moyenne mensuelle de la wilaya de Tiaret année « 2015 » ...79

Figure n 26 : Climagramme d'EMBERGER de la région de TIARET 83

Figure n 27 : Réalisation d'un frottis sanguin **(Drieu, 2009)** 90

Figure n 28 : Dépôt de l'échantillon pour le test wittness dirofilaria 94

Figure n 29 : Dépôt de la solution tampon.....94

Figure n 30 : Résultat négatif.....94

Figure n 31 : Résultat positif 94

Figure n 32 : Piegeage des moustiques (pieges adhesifs) 97

Figure n 33 : Mise en place des pièges lumineux 99

Figure n 34 : Amaigrissement marqué chez un chien suspect 112

Figure n 35 : Abattement 112

Figure n 36 : Fréquence des signes généraux 115

Figure n 37 : Type d'habitats culicidiens identifiés.....118

Figure n 38 : Evolution temporelles du peuplement de culicidés récoltés en 2011(pièges adhésifs) 120

Figure n 39 : Evolution temporelles du peuplement de culicidés récoltés en 2012. (les pièges lumineux CDC).....121

Figure n 40 : Evolution temporelles du peuplement de culicidés récoltés en 2013.(pièges lumineux CDC) 122

Figure n 41 : Evolution temporelles du peuplement de culicidés récoltés en 2014.(pièges lumineux CDC) 123

Figure n 42 : Evolution de la population *Culex pipiens* dans la région de *Tiaret* durant les 04 années (2011-2014). 124

Figure n 43 : Evolution de de la temperature mensuelle durant les 04 années (2011-2014)124

Figure n 44 : Evolution de la population *Culiseta longiareolata* dans la région de Tiaret durant les 04 années (2011-2014) 125

Figure n 45 : Evolution de de la temperature mensuelle durant les 04 années (2011-2014)125

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n 1 : Prévalence de la dirofilariose canine en Europe et les vecteurs responsables de la transmission (Basset, D 2016) 28

Tableau n 2 : Systématique générale des Culicidés présents en Algérie (**Berchi, 2000**)...33

Tableau n 3 : Récapitulatif des différentes espèces de culicidés isolés en Algérie. 48

Tableau n 4 : Les températures moyennes de la wilaya de Tiaret 76

Tableau n 5 : L'humidité moyenne de la wilaya de Tiaret 77

Tableau n 6 : La pluviométrie moyenne enregistrée dans la wilaya de Tiaret durant la période (2009 -2015).....78

Tableau n 7 : La vitesse myenne du vent enregistrée dans la wilaya de Tiaret durant la période (2009-2015).....80

Tableau n 8 : Autres paramètres climatique « Neige et Grêles » enregistrées dans la wilaya de Tiaret.....81

Tableau n 9 : Caractéristiques des éléments figurés dans le sang **(Lecointe, D., 2000).** ...87

Tableau n 10 : Fréquence de consultation par an.....107

Tableau n 11 : Distribution des animaux en fonction de leur âge 108

Tableau n 12 : Différentes races de chiens prélevés 109

Tableau n 13 : Principaux symptômes observés chez les chiens de l'étude 110

Tableau n 14 : Tableau à double entrée récapitulatif des fréquences et des pourcentages des motifs de consultation 111

Tableau n 15 : Fréquences des symptômes respiratoires et cardiaques 113

Tableau n 16 : Nombre et fréquence des chiens présentant des signes cardiaques 114

Tableau n 17 : Nombre et fréquence des chiens présentant des signes respiratoires.....114

Tableau n 18 : Fréquences et pourcentages des autres symptômes **.....**116

Tableau n 19 : Liste des espèces récoltées et identifiées. 119

Tableau n 20 : Fréquence des deux espèces rencontrées. 119

Tableau n 21 : Fréquence des deux espèces rencontrées selon le sexe.....…… 120

Tableau n 22 : Abondance des espèces Culicidiennes dans la région de TIARET 126

Tableau n 23 : Richesse spécifique moyenne des espèces Culicidiennes dans la région de Tiaret 126

Tableau n 24 : Fréquence d'occurrence des espèces Culicidiennes dans la région de Tiaret durant les 4 années (2011 à 2014) .....…127

LISTE DES ABREVIATIONS:

MGG: May – Grunwald – Giemsa

FNS : formule de numeration sanguine

EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique

CDC: Center for Disease Control

EMC : Ehrlichiose Monocytaire Canine

VNO : Virus de Nil Occidental

IFI : Immunofluorescence Indirecte

ELISA : dosage d'immunoabsorption par enzyme liée

° : degré

mm : millimetre

Cc : millilitre

Km : kilometre

Cm : centimetre

Ha: hectar

mn : minute

µ: micro

Ac : anticorps

Ag : antigene

AgG : antigene G

ERI : indice de restriction enzymatique

INTRODUCTION :

La cohabitation d'un animal de compagnie auprès de l'homme constitue une caractéristique importante de notre société, qui s'est considérablement développée avec l'urbanisation. La question du risque de transmission de maladies de l'animal à l'homme peut être légitimement posée (zoonoses) **(Poulain, J.P., 2007).**

Malgré l'influence de la religion qui a exacerbé de façon négative l'intégration du chien dans la société, on dénote de nos jours une parfaite rémission quant à la prise en charge de celui que l'on définie être le meilleur ami de l'homme. Ce constat peut s'expliquer d'une part par le mimétisme culturel engendré par la forte présence des expatriés, qui sont les plus nombreux à en posséder **(M'sik, 2008)**. D'autre part cela s'expliquerait davantage par le phénomène d'insécurité en pleine recrudescence dans certaines villes, ce qui fait que la présence d'un chien chez soi devient donc une nécessité.

Mais le chien comme tout autre animal à sang chaud figure parmi les hôtes les plus convoités des moustiques. Ces derniers les piquent se gorgent de son sang et peuvent par la même occasion transmettre des pathogènes à l'homme. Parmi ces pathogènes, on note *Dirofilaria immitis* dont la pathologie (dirofilariose canine) constitue l'une des plus graves, car souvent mortelle **(Darriet, F., 1998).**

La dirofilariose est une parasitose due à un ver rond, *Dirofilaria immitis*, qui parasite le cœur du chien suite à la piqûre d'un moustique infecté par la forme larvaire. La maladie se traduit par des problèmes cardiaques (insuffisance cardiaque droite) et respiratoires (toux, difficultés respiratoires, fatigue, syncopes à l'effort), perte de poids et fonte musculaire, épanchement abdominal et parfois thoracique, problèmes rénaux. Même si ces signes sont assez évocateurs, il n'existe cependant pas de symptômes pathognomoniques relatifs à la dirofilariose **(Bidanel, P., 2015).** Le diagnostic se fait en fonction des signes cliniques, des résultats des examens sanguins et du contexte épidémiologique pour établir un traitement car les chiens non traités deviennent une source de parasites et hypothèquent ainsi la santé de leurs congénères et l'homme par extension **(Dupont, A., 2009).**

À la toute fin du 19ème siècle, le monde scientifique découvrit soudainement que les moustiques transmettaient de graves maladies telles que les filarioses (1899) **(Fain, A., 1947)** au Congo (Banningville).

Bien que plus de 70 espèces de moustiques permettent le développement des microfilaires au troisième stade infectieux dans le laboratoire, il est généralement admis que seules quelques espèces de moustiques sont responsables de la transmission du parasite à des animaux sensibles dans des conditions naturelles **(Otto & Jackowski, 1981)**. Le motif de transmission varie considérablement d'une région à une autre. Dans certains endroits, 50% des chiens sont infectés, tandis que dans d'autres régions géographiques ils ne sont pas infectés **(Luzon-Pena & Gomez-Bautista, 1993).**

En Algérie, une prévalence de la dirofilariose canine de 24,46% a été déterminée par ELISA dans la région d'Alger par Benmahdi H.M. et Mohamed, M. (2009). Dans la wilaya de Tiaret, la situation épidémiologique de la maladie demeure inconnue. C'est pourquoi, pour effectuer une meilleure prise en charge des chiens, une connaissance de la situation épidémiologique s'avère être indispensable.

L'objectif général de notre étude est d'évaluer la prévalence de la dirofilariose canine dans cette région. Ce thème de recherche présente un intérêt aussi bien sur le plan bioécologique et épidémiologique que sur le plan biomédical et la lutte contre l'émergence de cette pathologie dans la wilaya.

Les principaux objectifs dans notre étude sont les suivants :

- Déterminer le taux d'infestation dans la population canine de la région de Tiaret de 2010 jusqu'à 2015.
- Dégager l'importance du diagnostic de laboratoire dans le dépistage de la dirofilariose canine.
- Etude de la dynamique des espèces de moustiques isolées dans la région durant 5 ans.
- Déterminer la relation entre les facteurs climatiques, la dynamique de moustique et le taux d'infestation des chiens dans la région de Tiaret.

CHAPITRE 1 : ETUDE DE *DIROFILARIA IMMITIS*

I. TAXONOMIE

Dirofilaria immitis est une filaire qui appartient à l'ordre des MYOSYRINGATA, au sous ordre des FILAROIDEA (nématodes polymaires, à corps long et filiforme), à la famille des ONCHOCERCIDES et à la sous famille des DIROFILARIINES. Au sein de ce groupe, le genre DIROFILARIA se distingue par les caractères suivants :

- Cuticule lisse ou seulement striée transversalement mais dépourvue de bosselures ;
- Papilles céphaliques très peu marquées ;
- Absence d'anneau chitineux bien marqué en avant de l'œsophage ;
- Division de l'œsophage peu distincte ;
- Queue du mâle spiralée, courte et obtuse, portant deux petites ailes caudales et pourvue de papilles pré-cloacales saillantes et pédonculées et des papilles post-cloacales plus petites – spicules dissemblables ;
- Femelles à queue courte et arrondie ; ouverture vulvaire située en arrière de l'œsophage **(Favia G., 1996).**

II.MORPHOLOGIE DU PARASITE

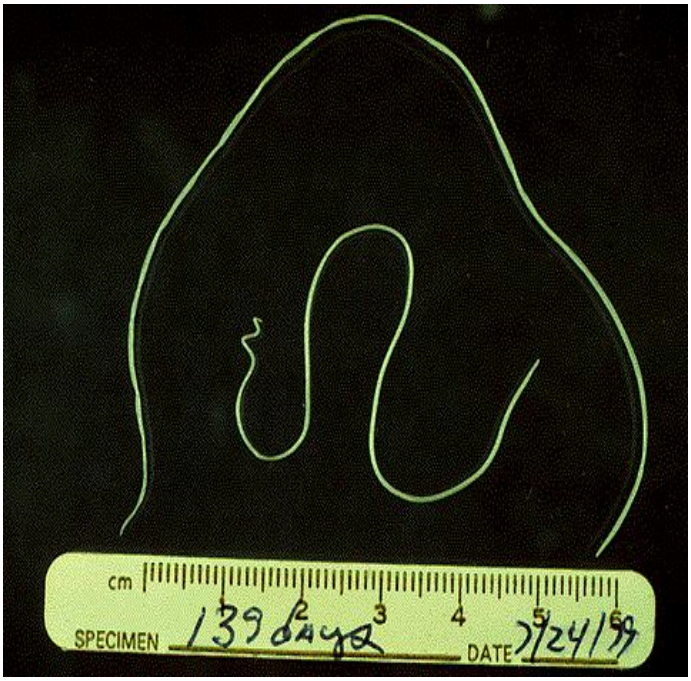
II.1.Description du ver adulte

Dirofilaria immitis (figure 1) est une filaire allongée de couleur blanchâtre, rassemblant à une corde à violon.

Le mâle mesure 10 à 19 cm de long sur 600 à 900 µ de diamètre et la femelle 18 à 30 cm sur 1 à 8 mm. Dans les deux sexes, la bouche est entourée de très petites papilles en nombre et disposition variables (**Webber, 1956)** (Figure 2).

L'extrémité postérieure du mâle présente l'aspect d'un tire-bouchon et porte 5 paires de fortes papilles ovoïdes dont 4 paires pré-cloacales et une paire poste-cloacale, 2 paires de papilles digitiformes para et post cloacales et 3 à 4 paires de petites papilles coniques, en situation sub-terminale (Figure 2). Notant également la présence de deux spicules dont l'un est grand, long et pointu ; l'autre petit avec une extrémité arrondie (Figure 2).

Chez la femelle, l'orifice vulvaire et les cordons génitaux s'ouvrent à 2 ,3 cm de la bouche (**Euzeby, 1981)** (Figure 2).



<u>Figure 1</u> : Adultes de *Dirofilaria immiti.s* Femelle avec la queue très effilée (En haut), mâle (en bas) avec une queue en forme de tire bouchon. **(Nolan. 2004)**.

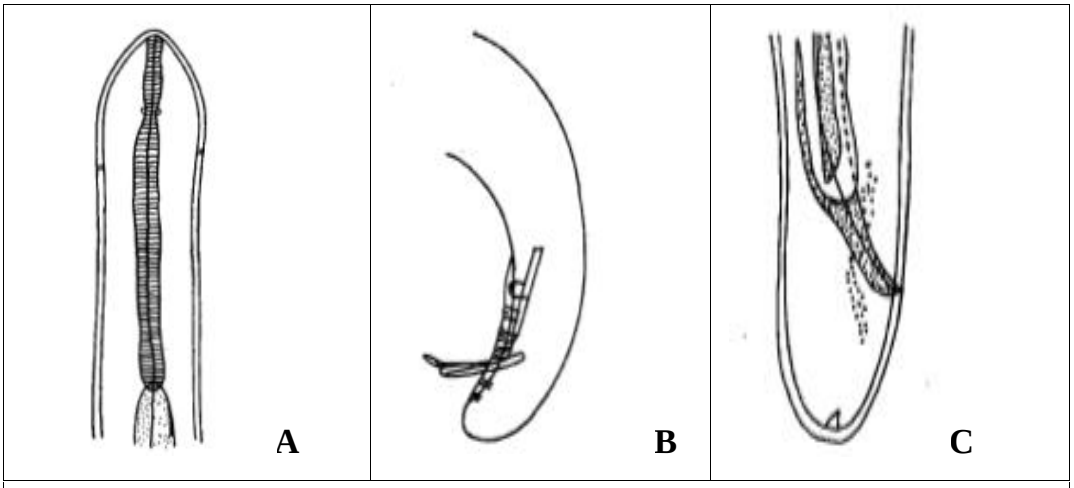


Figure 2 : Extrémité antérieure (x 39) **(A),** Extrémité caudale de mâle(x75) **(B),** Extrémité caudale de la femelle **(C) (Garcia, L.S., 2009).**

II.2.Description des formes larvaires (microfilaires)

La microfilaire de *Dirofilaria immitis* est dépourvue de gaine (figure 3) et mesure 160 à 240 µ de longueur sur 6 µ de diamètre. Cet embryon possède une extrémité antérieure arrondie (Figure 3). Sa queue s'atténue progressivement jusqu'au dernier noyau somatique et se prolonge par une zone claire d'environ 20 µ.

Figure 3 : Larve de *Dirofilaria immitis* (**Scott D.W., 2001).**

Les noyaux somatiques longe de 2 – 3 µ, sont disposés dans la partie antérieure ; ils sont inégalement disposés et moins nombreux dans la partie postérieure (figure 4). La disposition de ces taches est la suivante :

- Extrémité antérieure claire sur une longueur de 8 – 10 µ, avec en général un noyau isolé à l'extrémité postérieure mal définie ;
- Bande claire correspondant à l'anneau nerveuse à 50 – 55 µ de l'apex ;
- A 20 µ plus en arrière, se trouve la tache excrétrice en forme de "V " ;
- Le corps interne n'est pas visible ;
- La première cellule génitale, de teinte éosinophile à 150 de l'apex ; elle est suivie d'une ou de deux cellules plus petites de 10 à 20 µ en arrière ;
- Le pore anal qui se trouve à 180 µ environ de l'extrémité antérieure (33 microns en avant de la dernière cellule somatique) ;
- Une zone claire à 15 µ en arrière du pore anal qui parait constante ;
- L'espace caudal en toute dernière position. **(Pinger, R.R. 1982).**

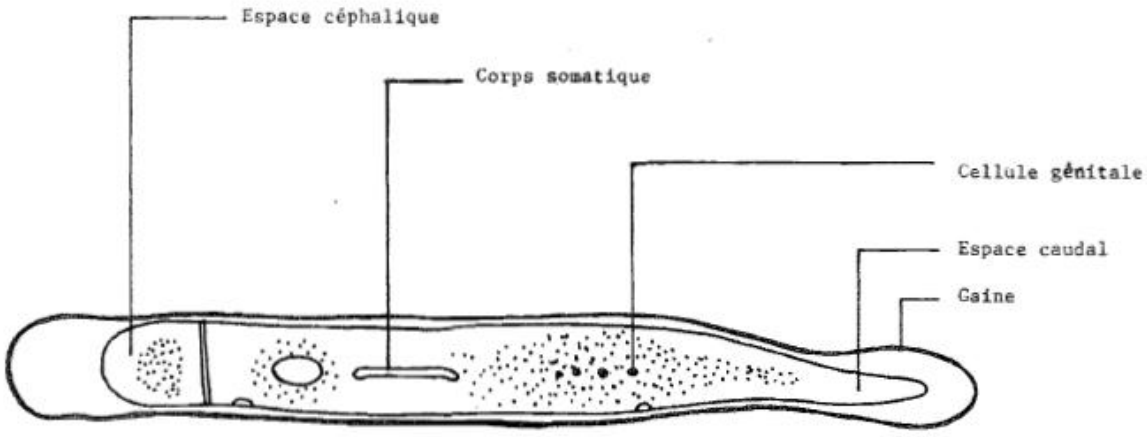


Figure 4: Structure schématique d'une microfilaire **(Mercky, T., 2002)**

III.BIOLOGIE

III.1.Habitat

Dirofilaria immitis vit à l'état adulte dans le ventricule droite avec quelquefois possibilités d'une embolisation en amont de l'artère pulmonaire ou en aval au niveau de la veine cave postérieure ; ce qui donne des localisations erratiques**. (Gortázar, C., 1998).**

III.2.Nutrition

Les filaires et les microfilaires se nourrissent des substances plasmatiques. (**Montoya-Alonso, J.A; 2010)**

III.3.Longévité

Bien que non précisée, la longévité des vers adultes est certainement de plusieurs années jusqu'à 3 ans selon **Wilcox (1960)** ; celle des microfilaires n'est pas bien déterminée, 9 mois au moins d'après **Bailey** (**1958)**.

III.4.Cycle évolutif

Il s'agit en effet d'un cycle dit hétéroxène dont l'évolution commence par la ponte des microfilaires chez la femelle, qui sont entrainées par la circulation sanguine jusqu'au niveau de capillaires de tous les organes (viscères profonds et peau). Ces embryons de constitution uniquement cellulaire sont capables d'envahir alternativement les viscères profonds et les capillaires cutanés ; ainsi sans disparaitre complètement de la peau. Les microfilaires se concentrent dans la rate, les muscles, le foie généralement le matin ; et le soir elles se concentrent dans les capillaires cutanés. Il y a variation nycthémérale de la microfilarémie. (**Abraham, D., 1988).**

Chez l'hôte intermédiaire (Culicidés); Les microfilaires sont absorbées, lors d'un repas sanguin, par un arthropode vecteur appartenant à la famille des culicidés à savoir : Culex (*Culex pipiens, fatigans*), Aèdes (*Aèdes aegypti, gemiculatus, punctor*) et Anophèles (*Anophèles maculipennis*) et selon le biotope de la région, il y aura dominance d'une espèce à l'autre. (**Ménier, K., 2000).**

Les microfilaires ne restent que très peu de temps dans l'estomac et après 24 à 36 heures, elles gagnent les tubes de Malpighi ou va s'accomplir le reste de l'évolution celle-ci passe par des stades larvaires qui vont de la larve de 1er âge à la larve de 3^{e} âge dite larve infestant. (**Abraham, D., 1988).** (Figure 5)

Le développement des 3 stades d'effectue dans les organes excréteurs de l'insecte puis la larve L_3 perfore les parois du tube de Malpighi, gagne le thorax puis la trompe où elle loge dans la cavité de labium. (**Abraham, D., 1988).**

Devant cette migration, la larve achève sa croissance, elle mesure 800 à 900 µ. La période prépatente est de 10 à 15 jours. En pays tropical, cette durée est plus court 8 à 10 jours alors qu'en pays tempéré, le moustique devient infestant 15 à 18 jours après s'être lui-même infesté. (**Abraham, D., 1988).**

Cette évolution ne peut se poursuivre que si le moustique entre en contact avec un hôte définitif : chien au cours de son repas sanguin.

Chez l'hôte définitif (le chien) : la larve L_3 pénètre dans la peau, reste dans le conjonctif sous cutané et musculaire, se transforme en larve L_4 ; celle-ci passe à l'intérieur d'une veine et parvient jusqu'au cœur, ceci au bout de 85 à 120 jours deux mois plus tard, le ver atteint la maturation sexuelle (figure 5), et le chien devient source naturelle de parasites. **(Khechine-Martinez, R; 2009).**

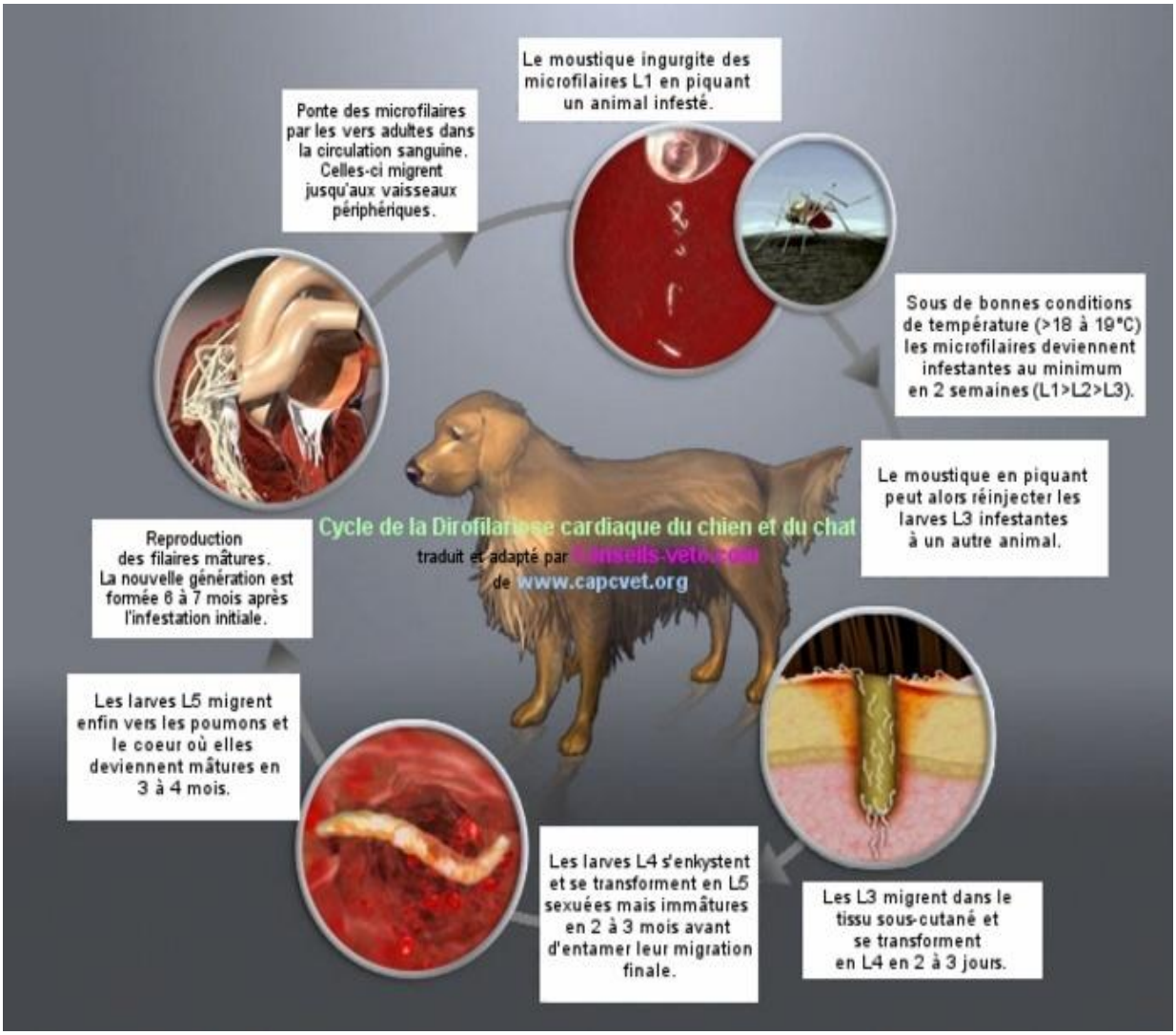


Figure 5: Cycle évolutif de *Dirofilaria immitis*. (**Resseguier, P., 2011)**

IV. PATHOGENIE

IV.1.Action pathogène

L'action pathogène est l'œuvre des formes adultes comme des microfilaires, elle s'exerce selon diverses modalités :

IV.1.1.Action mécanique

Elle résulte des phénomènes d'obstruction intéressant le cœur ou certains vaisseaux et réalisée par :

IV.1.1.1. Les vers adultes

Les parasites provoquent un gène mécanique au fonctionnement valvulaire. Les filaires s'enroulent autour des cordages du cœur ou s'amassent au voisinage des valvules, ce qui accroit la résistance à l'éjection systolique. **(Vallin, C., 2002)**

L'obstruction de l'artère pulmonaire apporte à l'hémostase des troubles sérieux et aggrave considérablement les perturbations circulatoires. Après la mort des vers adultes, il y a :

- Possibilité de passage de ceux-ci dans les artères pulmonaires avec embolisation (d'où ce syndrome aigu qui ne serait dû qu'à une action mécanique) ;
- Possibilité de vers erratiques :
  - Dans l'encéphale (risque de quadriplégie),
  - Dans des kystes interdigités,
  - Dans les bronchioles. **(Grandi, G., 2007)**

IV.1.1.2. Les microfilaires

Elles peuvent provoquer l'embolisation des capillaires pulmonaires, cutanés, encéphaliques, médullaires et parfois obstruent les artérioles coronaires. Possibilité de passage dans les vaisseaux oculaires, et même dans la chambre antérieure ou postérieure de l'œil. **(Grandi, G., 2007)**

IV.1.2.Action irritative :

IV.1.2.1. Les vers adultes.

Les vers adultes provoquent des réactions inflammatoires du tissu artériel, il s'en suit des lésions d'endocardite et d'endoartérite pulmonaires. Ces lésions pulmonaires sont à l'origine des thrombi qui peuvent s'emboliser et aggraver l'action propre des parasites. La formation des caillots mêlés aux parasites conduit à des troubles de l'hydraulique cardiopulmonaire. L'irritation permanente du revêtement vasculaire entraîne une hypertrophie de l'intima et de la média des artères puis une sclérose de celle-ci. **(Featherston D., 1984)**

IV.1.2.2. Les microfilaires

Elles provoquent des graves troubles circulatoires, irréversibles du fait de la fibrose Pulmonaire. De plus, ces embryons engendrent les mêmes lésions au niveau des capillaires pulmonaires, cutanés mais aussi céphaliques et rénaux **(Featherston D., 1984)**

IV.1.3.Action toxique

Elle est due à l'effet des produits du métabolisme des vers. Cette imprégnation toxique explique en partie, la cachexie observée aux périodes terminaux de la maladie. **(Featherston D., 1984)**

IV.2.Conséquences :

IV.2.1. Conséquences cardio-pulmonaires

Le syndrome cardio-pulmonaire apparaît comme un syndrome d'insuffisance cardiaque, avec ses deux périodes classiques :

- Période d'hypertrophie ventriculaire (phase d'insuffisance compensée) : dyspnée d'effort, tachycardie et la période de dilatation cardiaque (phase d'insuffisance décompensée) d'où stase sanguine **(Cheylan, J., 2014)** avec :
- Congestion pulmonaire : dyspnée, toux rauque, sèche, quinteuse, respiration haletante, râles fins et crépitant.
- Congestion rénale : oligurie parfois albuminurie
- Congestion hépatique caractérisée par une hypertension portale. Aux stades très avancés, possibilité d'ascite, d'hydro thorax, œdème
- Congestion intestinale : diarrhée parfois hémorragique.

Toutefois selon (**Kume, 1957)** sur le poumon, l'embolisation des parasites adultes ou des microfilaires, l'endoartérite et les thromboses vasculaires entraînent l'apparition d'une pneumonie éosinophile. L'action térébrante des parasites qui peuvent provoquer de véritables abcès filariens, vient aggraver la pneumonie. **Jacson (1972)** parle de "Pneumonie filarienne ".

Sur le cœur droit, l'endocardite valvulaire et surtout l'obstruction du ventricule et de l'artère pulmonaire, provoquent des troubles de la réplétion et de la vidange du cœur ; il en résulte, des phénomènes de stases dans les viscères situés en amont et dans l'encéphale, ainsi que la congestion passive des poumons. **(Baumgartner, C., 2004).**

La difficulté circulatoire dans le cœur droite ne tarde pas à provoquer des troubles au niveau du ventricule gauche et l'insuffisance cardiaque devient totale, d'abord compensée par l'hypertrophie ventriculaire, puis décompensée, lorsque le cœur, défaillant, se dilate. Enfin l'embolisation des ramifications coronariennes explique les lésions nécrotiques de certaines aires myocardiques, et les modifications de l'électrocardiogramme. **(Vallin, C., 2002).**

IV.2.2. Conséquences nerveuses

Les troubles circulatoires se font également ressentir à ce niveau : ils entraînent des crises d'anémie cérébrale par défaut d'irrigation. Les embolies des microfilaires dans les capillaires encéphaliques et médullaires entraînent des symptômes paralytiques ou paraplégiques. Les phénomènes de congestion passive et les œdèmes fugaces qui leur succèdent, provoquent l'apparition de torpeur, de crises convulsives et d'excitation : il y a alors modification du comportement. **(Fradin, E., 2009).**

IV.2.3. Conséquences hépatiques et rénales

Le ralentissement du flux sanguin et l'hypertension portale retentissent sur l'intestin et peuvent provoquer une diarrhée. La congestion passive du rein explique l'oligurie et l'albuminurie souvent observées. L'embolisation des microfilaires peut être à l'origine d'une glomérulonéphrite. **(Margaillan, S., 2005).**

IV.2.4. Conséquences cutanées

Les lésions cutanées sont l'œuvre directe des microfilaires qui se trouvent dans les capillaires : dépilations, plaques ulcéro-pustuleuses surtout situées à le pointe et base des oreilles suintement et mauvaise nutrition dermo-épidermique sont dues à des phénomènes de congestion passive. De plus, les phénomènes allergiques locaux provoquent des lésions pseudo-eczémateuses. **(Rodhain, F; 1998).**

IV.2.5. Syndrome de la veine cave (syndrome hémolytique aigu).

Encore appelé “Hémoglobinurie dirofilarienne“ correspond au passage de nombreux vers adultes dans la veine cave postérieure et dans l’atrium . Il est fréquemment rencontré en zone endémique. Le syndrome de la veine cave se manifeste de manière brutale sur des chiens et la mort peut survenir 12 à 72 heures. **(Canini, L, 2010).**

Les chiens présentent de l’asthénie soudaine, avec anorexie, dépression, tachycardie, muqueuse décolorée, albuminurie est considéré comme pathognomonique par **Jackson (1972).** Selon cet auteur, on note un cœur “frappé“ avec absence de souffle, de la polypnée et de la toux. Le taux d’urée sanguine est très élevée et les tests hépatiques notablement perturbés, ce qui dénote une grave atteinte des cellules hépatiques. L’ascite est souvent absente. L’examen nécropsique met en évidence dans le cœur droit une masse de vers qui envahit les veines caves antérieure et postérieure (figure 6), quelquefois jusqu’à la jugulaire et à la veine iliaque commune.

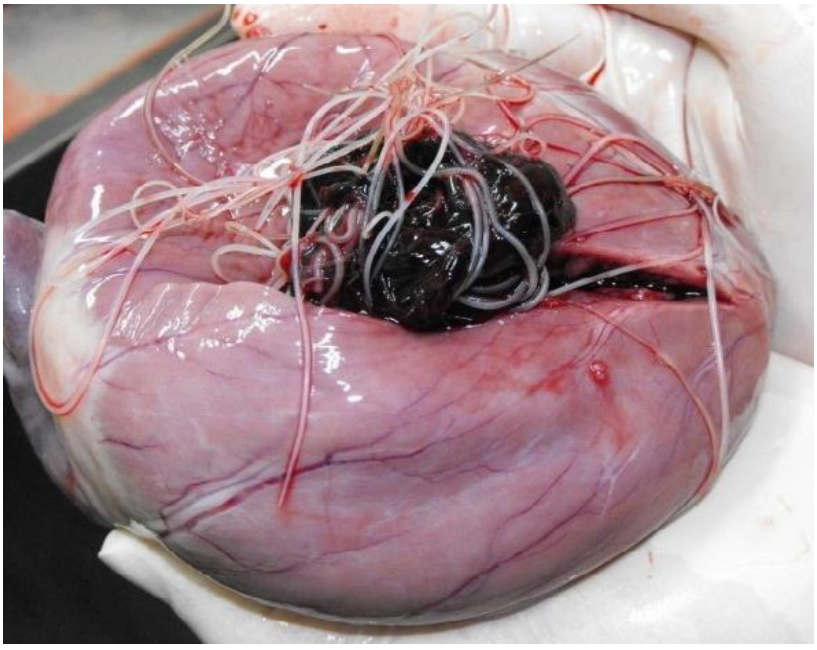


Figure 6 : *Dirofilaria immitis* dans le cœur d’un chien. **(Cheylan, J., 2014).**

V. IMMUNITE

V.1. Propriétés antigéniques des filaires

Les filaires possèdent un pouvoir antigénique. Ce caractère existe aussi bien chez les adultes que chez les microfilaires, et semble t'il avec une intensité plus grande chez ces dernières. **(Toral, Y., 2005)**

V.1.1. Nature et qualité du matériel antigénique

Des nombreux extraits filariens ont été utilisés pour tester les réactions sérologiques des populations canines. Tous ces extraits plus ou moins purifiés, représentant des fractions de filaires, réagissent avec les anticorps d'infestation ou anticorps témoins **(Caro M., 2005)**. On met donc en évidence l'existence d'antigènes somatique et exo-antigènes.

V.1.2. Les Antigènes somatiques

A l'origine d'une réponse sérologique qui n'est pas susceptible de conférer un état d'immunité à l'organisme parasite. Ce pouvoir antigénique des filaires est représenté en grande partie par la fraction protidique du parasite. Cela permet de comprendre que la purification des antigènes est un facteur de la qualité primordiale dans le diagnostic immunologique de la filariose. **(Houzé, S., 2015).**

En effet, il est bien établi que des tests immunologique utilisant l'extrait aqueux ou extrait salin de parasite, montrent une haute fréquence de réactions non spécifiques. Dans certains cas l'élimination des composants indésirables est simple. **(Post, J.I., 2001).**

L'utilisation d'extraits salins délipidés dans les tests de fixation du complément s'avère positive. Mais d'une manière générale, la préparation d'antigènes satisfaisants nécessite

un fractionnement supérieur. On obtient des bons résultats en isolant les protéines actives du point de vue sérologique et les hydrates de carbone, des extraits aqueux ou salins.

Mc. Neilson (1975) utilise la chromatographie séquentielle sur colonne sèphadex suivie de l'électrophorèse sur gel polycridique pour scinder des extraits somatiques de filaires.

Les différents fragments obtenus sont mis en contact avec des sérums préparés sur lapin. Des études d'immuno diffusion permettent d'établir leur pouvoir antigénique spécifique.

V.1.2.1. Les Exoantigènes

Il existe une excellente source antigénique fournie par les excrétions et sécrétions des parasites : il s'agit des exoantigènes. Il est établi que la valeur est considérablement supérieure à celle des extraits somatiques **(Weinstein, 1959).**

Fife, (1971) suggère d'ailleurs que les anticorps produits en réponses à ces excrétion et sécrétions ont un pouvoir protecteur élevé. Des chercheurs ont réalisé des études sur l'utilisation des exoantigènes notamment dans la maladie de Chagas avec *T. cruzi* et avec les cercaires. Le facteur limitant réside bien sûr dans les difficultés rencontrées pour maintenir à disposition les parasites vivants. Néanmoins, il fait préciser que c'est une approche d'avenir dans le diagnostic des maladies parasitaires et en particulier dans la filariose.

Wong (1966) démontre *in vivo* et *in vitro,* que les microfilaires ont, elles aussi, un pouvoir antigénique. Ce pouvoir n'est pas directement superposable à celui des filaires adultes. Certains anticorps apparaissent en plus grande quantité et plus longtemps lorsqu'on utilise les antigènes filariens, tandis que d'autres sont plus facilement isolés lorsqu'on fait appel aux antigènes microfilariens.

V.2. Réaction immunologique de l'hôte définitif

V.2.1. Action immunologique défavorable

Il peut en résulter, dans l'organisation des individus infestés, des réactions allergiques, sur l'importance desquelles plusieurs chercheurs ont insisté. Ces réactions allergiques sont d'autant plus marquées que les quantités d'allergènes intervenant sont plus élevées : c'est ce qui explique les phénomènes réactionnels observés au cours du traitement des filarioses quand, du corps des parasites en voie de désintégration sont libérées les antigènes. **(Bibaloud F.D., 1993)**

Réactions anaphylactiques et hypersensibilité

Il existe dans la filariose des phénomènes d'hypersensibilité spécifique immédiate. Ces phénomènes sont encore mal compris. Il semble que l'hypersensibilité localisée consécutive à l'injection d'antigènes filariens, ne diffère du choc anaphylactique que par le degré de réaction de l'animal. **(Silverman, H. J., 1988).**

L'intradermo-réaction utilisée dans le diagnostic de la filariose, se caractérise par l'apparition d'une petite papule au lieu d'injection de l'antigène. Or si on utilise des fortes quantités de matériel antigénique, on assiste à l'apparition d'une forte réaction locale doublée d'un choc anaphylactique. (**Bibaloud F.D., 1993)**

Ce choc anaphylactique est également observé à la suite d'un traitement lorsqu'il y a destruction massive et simultanée des parasites. L'étiologie de ce choc est mal connue, on sait seulement qu'il s'accompagne de la libération massive d'histamine et de perturbation neurovégétatives. Ce choc est prévenu par l'injection d'atropine et d'antihistaminiques. (**Bibaloud F.D., 1993)**

V.2.2.Action immunologique favorable

V.1.2.1.Immunité à médiation cellulaire

Comme dans toutes les maladies chroniques, il s'installe progressivement dans la filariose une immunité de prémunition ou d'infestation. Cette immunité repose sur le système réticulo-endothélial et en particulier les histiocytes transformés en macrophages.

Elle se manifeste par une gêne apportée au développement des larves de sur infestation et par une destruction accrue de ces larves. **(Savary-Bataille, K. 2003).**

Baston et **Beson** (**1970)** relient ce mécanisme à l'augmentation de l'éosinophilie sanguine. Observée dans la filariose. Ils démontrent que les lymphocytes sensibilisés produisent un facteur diffusible qui stimule la moelle osseuse.

V.2.2.2.Immunité à médiation humorale

Selon **Wong (1966)** l'immunité antifilarienne repose en partie sur l'existence d'exoantigènes qui sont les produits d'excrétions et de sécrétion des parasites. Ces exoantigènes, à l'origine d'anticorps protecteurs, sont de plusieurs types :

- métabolites des larves L_3 et (ou) L_4 : cela est suggéré par le fait que les vaccins faits à partir de larves mortes sont totalement inefficaces. Un certain degré d'immunité n'est atteint que lorsque mes larves ont eu un contact suffisamment long avec l'hôte. Les larves irradiées à 25 Krad meurent trop vite pour être immunigènes.

- Liquide de mue des larves L_3 et surtout L_4 : cela est suggéré par le fait que la meilleure immunité s'obtient 3 mois après l'infestation : période de mue des larves L_4.

- enzymes de migration : **Wong**, confronté par les études de **Lee et Lewert (1957)** attribue aux larves L_5 la faculté de produire des enzymes protéolytiques facilitant leur migration vers le cœur. L'auteur attribue un rôle antigénique majeur à ces enzymes. **Fife (1971)** confirme l'existence d'exoantigènes produits par les formes adultes. Il n'a pu démontrer leurs rôles dans l'immunité antiflarienne. Cependant leur haute spécificité trouve des applications dans le diagnostic immunologique.

V.2.2.3.Apparition des anticorps témoins (Etude cinétique)

Le pouvoir antigénique des filaires est démontré par l'apparition d'anticorps dés le 2^{e} mois de l'infestation. On relève la présence dans le sérum des animaux infestés, de précipitines, agglutines et les anticorps fixant le complément. **Kume (1954)** montre qu'il existe une corrélation entre la réponse sérologique de l'individu et "l'histoire" du parasite chez cet individu.

Orihel, (1961) et Kume (1954) établissent un rapport entre l'apparition des premiers anticorps et la 4^{éme} mue larvaire qui a lieu 8 à 10 semaines après l'infestation par les larves $L_{3.}$ **Allain D.S et al., (1972)** confirment ces observations à la faveur d'infestations expérimentales. Le titre d'anticorps s'élève dés la 8^{é} semaine, mais il décroît et s'annule lorsque les microfilaires apparaissent dans le sang périphérique.

On obtient ainsi une courbe d'anticorps assez typique de l'invasion filarienne. Cependant, l'aspect de cette courbe doit être modulé en fonction du degré de l'infestation et de la nature des anticorps recherchés. En effet, chez les chiens faiblement et fortement parasités, les titres obtenus grâce au test d'hémagglutination passive ont tendance à décroître un peu avant l'apparition des microfilaires.

Chez les chiens modérément atteints, cette décroissance est postérieure à l'apparition des microfilaires. Chez les chiens faiblement infestés, l'apparition des premiers anticorps est légèrement postérieure à la 4^{éme} mue larvaire (10^{e}-12^{e} semaine).

On note enfin que chez les chiens très parasités, les taux d'anticorps sont toujours inférieurs à ceux que l'on observe chez les autres chiens. **(Denham, D.A., 1977).**

Les résultats obtenus avec le test d'agglutination des particules de bentonite sont sensiblement différents. Ils révèlent de plus grandes fluctuations des taux d'anticorps.

En général, les réactions positives persistent un petit peu plus longtemps qu'avec le test d'hémagglutination passive et ne deviennent pas négatives avant l'apparition des microfilaires. **(Denham, D.A., 1977).**

Pacheco G. en **1966** et **Tulloch** en **1970** observent un premier pic d'anticorps un mois après l'infestation expérimentale, suivi d'un second après 4 à 5 mois. Selon ces auteurs, le premier pic correspondrait à la migration tissulaire des larves du 3^{éme} âge. Le fait qu'il n'y ait pas de concordance rigoureuse entre les résultats obtenus par les différents chercheurs est imputable à l'absence de standardisation des moyens de recherche et du matériel antigénique.

Par contre, la chute du taux d'anticorps concomitante avec l'apparition des microfilaires est rapportée par tous les auteurs. **Minning et Mac Radzean (1956)** émettent plusieurs hypothèses explicatives :

- Les microfilaires absorbent les anticorps ;
- Les anticorps sont neutralisés par un fluide antigénique secrété par les adultes au moment de la parturition ;

- Le système réticulo–endothélial est altéré par les produits du métabolisme des formes adultes.

V.2.2.4.Caractéristiques de l'immunité

Il existe une immunité antiflarienne et les travaux de **Wong, et al., (1974)** semblent ouvrir une perspective intéressante dans la prévention des filarioses. Il semble en effet qu'on puisse parler de vaccination contre la filariose, même si l'emploi des larves irradiées nécessite une plus ample expérimentation.

Outre la dualité du mécanisme immunitaire dans la filariose, il convient de noter le caractère sélectif de cette immunité. En effet la plupart des auteurs qui ce sont intéressés au problème **(Wong, et al., (1974)** ont remarqué que l'immunisation s'exerce stade par stade. Cela signifie que les microfilaires "se protègent " des larves infestantes, et que les adultes "se protègent" des adultes ; confirmant ainsi l'hypothèse selon laquelle le pouvoir antigénique des adultes est différent de celui des microfilaires.

VI.DIROFILARIOSE HUMAINE

VI.1.Filarioses animales en impasse chez l'homme :

Des filarioses du raton laveur (*Dirofilaria tenuis*), du chien ou du renard (*D. repens*, *D. immitis*) en impasse parasitaire chez l'homme peuvent entrainer d'exceptionnels manifestations cliniques (nodules sous cutanés ou oculaires, manifestations pulmonaires ou cardiaques). **(Boysson, H., 2012).**

VI.2.Les filarioses ont un cycle parasitologique comparable :

Un vecteur, arthropode femelle hématophage (moucherons, moustiques ou taons), transmet au cours d'une piqûre des larves infestantes qui pénètrent activement le revêtement cutané et se développent chez l'homme (tissus ou vaisseaux lymphatiques) en adultes mâles et femelles. Les femelles émettent des embryons, ou microfilaires, sans évolution chez l'homme. Prélevées par l'insecte hôte intermédiaire, ces microfilaires se transforment en larves infestantes, assurant ainsi la transmission. **(Anane, S., 2006).**

VI.3.Les signes cliniques :

Pour la majorité des espèces de filaires, la dirofilariose humaine est asymptomatique. Dans les cas ou on observe une manifestation clinique, on peut distinguer les dirofilarioses superficielle et les dirofilarioses viscérales**. (Hassouna, J.B., 2015).**

Les dirofilarioses viscérales sont le plus souvent de fait de *Dirofilaria immitis* .la dirofilariose pulmonaire est le plus souvent asymptomatique mais peut parfois se traduire cliniquement par une toux, des douleurs thoraciques, une hémoptysie ou une fièvre. Les nodules pulmonaires restent stable avec le temps et finissent par se calcifier s'ils ne sont pas retirés. La dirofilariose cardio-pulmonaire, habituelle chez le chien est exceptionnelle chez l'homme. Les dirofilariose adulte qui meurent rapidement, peuvent se retrouver embolisés dans la circulation pulmonaire au niveau des artères moyenne et de petite taille, et provoquer un infarctus **(Basset D., 2010).**

VII. PREVALENCE DE LA DIROFILARIOSE DANS LE MONDE

VII.1.EN AMERIQUE

VII.1.1. A Washington :

La prévalence sérologique de l'infection à *Dirofilaria immitis* dans 601 chiens à Washington a été étudiée en 1989-1990. Des échantillons de sang (le sérum) ont été obtenus à partir de chiens d'environ 2 ans d'âge ou plus vieux dans des abris de la société humaines (n = 392) et cliniques vétérinaires (n = 209). Des échantillons de sérum ont été testés pour Dirofiliariose en utilisant un dosage par immunosorbant test de l'antigène lié à une enzyme. Trois (0,5%) chiens étaient positifs pour l'infection *D. immitis*, qui sont nés et ont vécu plusieurs années dans les pays autres que Washington. La dirofilariose n'a été détecté qu'au cours de la dernière 9 ans, la probabilité d'infections Dirofilariose autochtones chez les chiens à Washington reste faible à ce moment. **(Foreyt, W.J., 1991).**

VII.1.1. Au Québec :

Une étude réalisée sur 36 054 chiens en 2002 (53 521 en 2001) a révélé 57% des chiens positifs testés par la détection des microfilaires, 42,5% par la sérologie et 0.5% par une combinaison des deux techniques. 64 952 chiens ont reçus une médication préventive (81 529 en 2001). 74% des chiens testés en 2002 étaient sur médication préventive en 2001 (76% en 2001). 26 nouveaux cas de dirofilariose canine ont été diagnostiqués au Québec en 2002 (53 en 2001). La prévalence, toujours constante depuis plusieurs années, est moins de 0,1%. Parmi les chiens trouvés infectés en 2002, 42% ont été dépistés à la fois par détection de microfilaires et d'antigènes, 39% par détection de microfilaires

seulement, 15% par détection d'antigènes seulement, 4% présentaient des antigènes en absence de microfilaire, 4% des chiens étaient sur médication préventive en 2000, 73% des chiens ne démontraient aucun signe clinique, 62% étaient âgés de plus de trois ans, 23% entre un et trois ans, 42% habitaient en région rurale, 27% en banlieue, 23% n'avaient jamais quitté leur région, et 30% avaient visité une région endémique et la majorité avaient un déplacement inconnu. (**Sylvie F., 2003)**

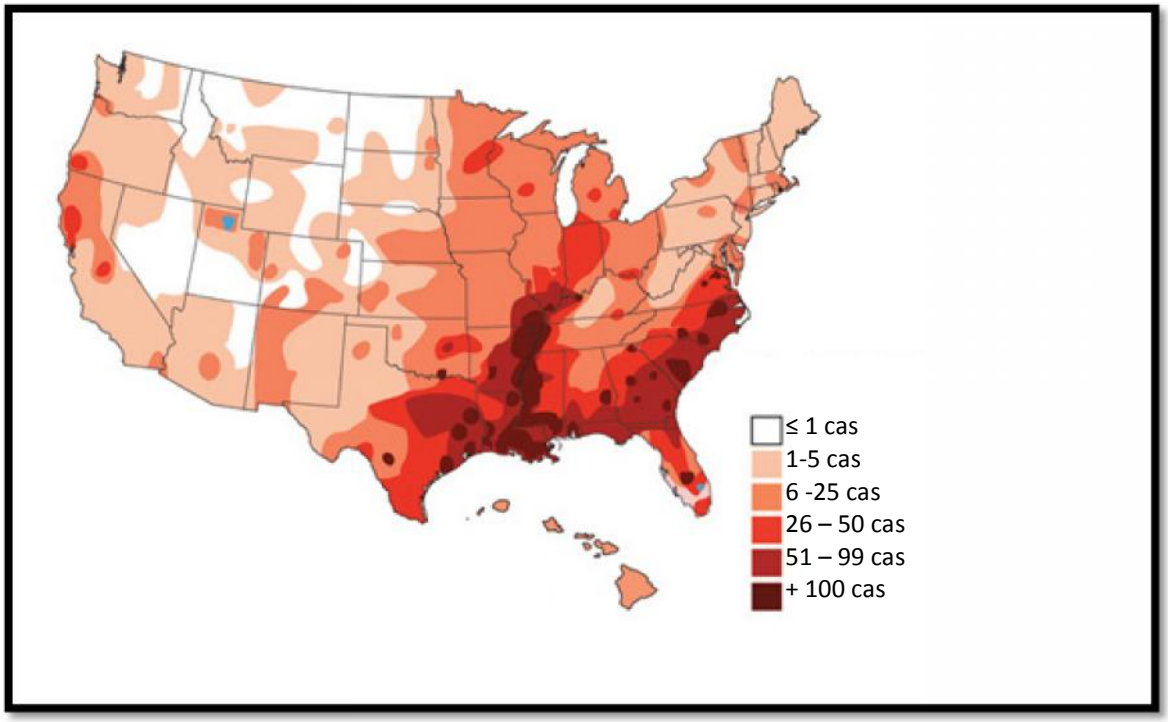


Figure 07 : Prévalence de la dirofilariose canine aux Etats Unis. **(Adler P., 2006).**

VII.2. En Australie

Quatre cent quatre chiens de 9 régions à Sydney ont été examinés pour la recherche des microfilaires et des antigènes de *Dirofilaria immitis*. Une centaine d'entre eux ont également été examinées post-mortem pour rechercher les *Dirofilaria* adultes. La

prévalence de l'infection dans les 404 chiens était de 11,4%, et 5,9% avaient des microfilaires de *D. immitis* circulant. Filaires adultes étaient présentes dans 15 des 100 chiens. La Dirofilariose est encore un parasite commun et important du chien dans la région de Sydney **(Bidgood, A., 1996).**

VII.3. En Europe:

Sur la base des enquêtes publiées récemment et les données nouvellement acquises, une étude a été menée pour vérifier la distribution du dirofilariose canine due à *Dirofilaria immitis* en Europe. Un système d'information géographique sur la base de traitement thermique a été construit comme un moyen d'identifier les zones potentiellement appropriées pour la transmission du ver du cœur, en tenant compte du fait que le développement des larves de *D. immitis* chez le moustique ne se produit pas en dessous de la température de seuil d'environ 14°C **(Genchi C., 2005).** En outre, un modèle bionomique de *D. immitis* dans ses moustiques vecteurs, qui calcule le paramètre de développement de dirofilariose a été appliquée en utilisant les données de température disponibles pour évaluer le temps de transmission théorique de dirofilariose en Europe **(Genchi C., 2005).** Les résultats montrent que le risque d'infection plus tôt se produit en Espagne le 21 Mars et le dernier risque se produit en Espagne le 11 Septembre. La période de risque le plus long se produit en Espagne (station de Murcia: Mars 21-Novembre 11), et la période de risque le plus court se produit dans Europe du nord **(Genchi C., 2005).** L'étude fournit également les premières cartes d'évaluation des risques pour l'Europe et suggère que, si la tendance climatique réelle continue, la dirofilariose devrait se propager dans des zones précédemment indemnes d'infection. **(Genchi C., 2005).**

Les changements environnementaux peuvent jouer un rôle causal dans l'expansion de la distribution géographique du dirofilariose à *D. immitis*. La dynamique et de l'activité des hôtes intermédiaires culicidés sont très sensibles à la température et de l'humidité, et le développement des larves de nématodes dans des vecteurs est également connu pour être dépendant de la température **(Jenkins E.J., 2006)** *D. immitis* a une vaste gamme d'espèces vectrices compétentes et ses hôtes définitifs canins sont distribués dans le monde entier. En conséquence probable de ces facteurs, les articles les plus récents font état d'une tendance dans la répartition géographique de *D. immitis*, dans des régions auparavant indemnes **(Genchi C., 2009 ; Morgan, 2009 ; Otranto D., 2009; Helm J.R., 2009 ; Morgan E.R., 2008)**. La Transmission de *D. immitis* par les moustiques est strictement dépendante d'un climat propice permettant le développement des larves dans les vecteurs, les températures ainsi environnementales sont les principaux facteurs favorisant le cycle de vie de ce parasite **(Genchi C., 2009 ; Medlock J.M., 2007, Kalluri S., 2007)**.

Certains modèles basés sur le climat ont été développés pour étudier les changements possibles qui peuvent se produire en termes de distribution et de la saisonabilité pour *D. immitis* en réponse au réchauffement climatique **(Genchi C., 2009 ; Rinaldi L., 2007 ; Genchi C., 2005).**

Ces études ont clairement démontré que les infections *Dirofilaria* en Europe ont des modes de transmission saisonniers avec des activités de pointe dans les mois d'été et que les climats chauds facilitent le développement des larves dans les hôtes intermédiaires **(Genchi, 2009).** Par conséquent, les changements climatiques sont susceptibles d'avoir un fort impact sur les modes de distribution des parasites, de développement et de

transmission. La tendance actuelle de la hausse des températures va probablement permettre la propagation du nématode dans plusieurs pays **(Genchi, 2009).**

Il y a un grand intérêt à comprendre les raisons de la propagation du ver du cœur et d'élucider les facteurs, le réchauffement climatique ou autre (s), qui peuvent être impliqués.

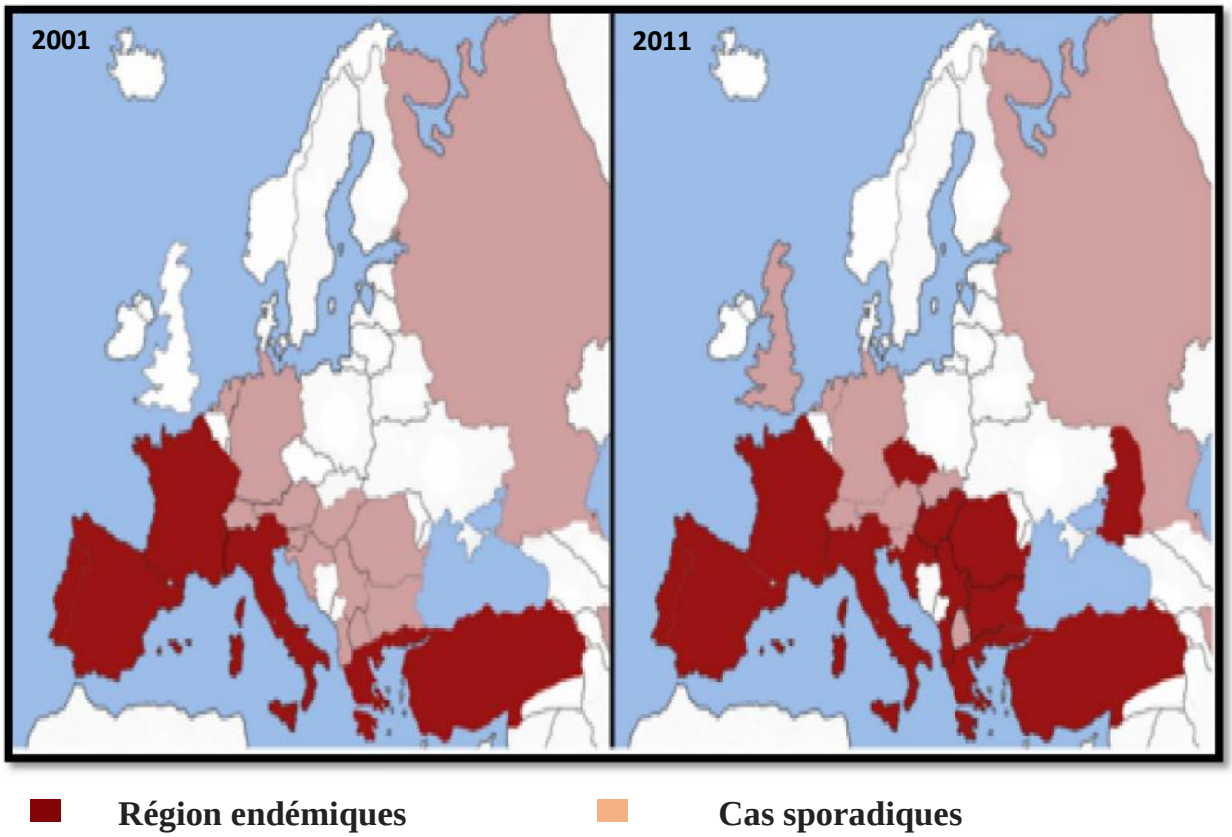


Figure 08 : Comparaison de la répartition géographique de la dirofilariose canine en Europe entre 2001 et 2011. **(Morchón R., 2012)**

Tableau 01: Prévalence de la dirofilariose canine en Europe et les vecteurs responsables de la transmission (**Basset, D., 2016).**

Les pays	2001	2002-2011	Vecteurs	Prévalence
Portugal	●	●	*Culex theileri*	**S**
Espagne	●	●	*Culex pipiens, Culex theileri*	**0,6**
Italie	●	●	*Culex pipiens, Ae. albopictus, Ae. caspius, An maculipennis. Cq richiardii*	**0,6**
France	●	●		**0,5**
Grèce	●	●		**10**
Turquie	●	●	*Cx.pipiens, Ae.vexans*	**S**
Suisse	≤10 .7%□	?	?	**1,6**
Autriche	□	?	?	
Allemagne	□	≤2.9%	?	
Angleterre	□	■	?	**S**
Hollande	■, □	?	?	
Macédoine	≤0.9%	?	?	
Roumanie	≤67%	●	?	**S**
Croatie	■	●	?	**S**
Serbie	■	●	?	**6,2**
Slovénie	≤5%		?	
Bulgarie	≤12.5%	●	?	
Albanie	≤13.5%	≤7%	?	**S**
Slovaquie	?	■	?	**S**
République Tchèque	?	●, □	?	**S**
Hongrie	□	?	?	**S**
République d'Azerbaïdjan	■	?	?	
Turkménistan	■	?	?	
Russie (Région de Rostov)	■	■,●	?	

(●) : Région endémique, (■) : Cas isolés, (□) : Cas importés, (?) : Pas de données, (**S) :** un seul rapport

VII.4. Dans les pays de L'Est

VII.4.1.En Iran

Une étude menée en Iran avait comme objectif de diagnostiquer l'infection par *Dirofilaria immitis* dans la population canine des zones urbaines et rurales de Ahvaz (sud-ouest de l'Iran) par immunoélectrophorèse et comparé avec la méthode de Knott modifiée. 200 chiens (80 en milieu urbain et 120 en milieu rural), ont été évalués pour la détection de l'infection à *Dirofilaria immitis. Ainsi,* Pour le test immunoelectrophorese 9,5 % des chiens (19 cas) ont été infectées, mais dans le test Knott modifié, seulement 8 pour cent été détectés (16 cas). **(Azari-Hamidian, S.H ,2007).**

Le test immunoélectrophorèse a montré que les trois cas positifs non détecté par la méthode de Knott (un urbain et deux chiens ruraux) étaient probablement due à une infection occulte. Toutefois, la différence ne soit pas significative ($p > 0,05$). Sur la base des résultats du test d'immunoelectrophorese, 6,25 % des males et 0 % des femelles dans les zones urbaines et 13 % mâles et 7,6 % des chiens femelles dans les zones rurales ont été infectées respectivement. La plus forte prévalence de l'infection dans le groupe de 6 ans ou plus-âge était de 23,3 et 14,29 pour cent chez les chiens urbains et ruraux respectivement. L'analyse statistique n'a montré aucune différence significative entre l'infection et des facteurs tels que l'âge et le sexe des chiens étudiés ($p > 0,05$). **(Azari-Hamidian, S.H ,2007).**

VII.5. En Afrique :

VII.5.1. En Tunisie :

La dirofilariose chez les chiens a été évaluée en utilisant des méthodes moléculaires (PCR et séquençage) pour identifier les différentes espèces impliquées dans la transmission de cette pathologie ; un échantillon de 200 chiens du nord et du centre de la Tunisie a été prélevé **(Rjeibi, M.R, 2016).** La prévalence moléculaire globale de *Dirofilaria* spp était de 17,5% (35/200). La prévalence de *D. immitis* (14,5%) était significativement plus élevé que pour *D. repens* (3%). la prévalence moléculaire de *D. immitis* était significativement plus élevée dans la banlieue par rapport aux régions urbaines et rurales. Il n'y avait aucune différence de prévalence moléculaire de *D. immitis* ou *D. repens* selon les chiens (sexe ou utilisation). La comparaison des séquences partielles du gène D. repens ITS2 ADNr (KR676387) a révélé 99,6% de similarité avec *D. repens* rapportés chez les chiens des Etats Unis. Il y avait aussi 97,6% de similarité avec *D. repens* de moustiques en République Tchèque. **(Rjeibi, M.R, 2016).**

VII.5.2. En Algérie

La situation épidémiologique de cette parasitose en Algérie reste inconnu à ce de jour, même si ce pays a le biotope idéal pour le développement de cette maladie. Le but d'une étude réalisée par Benmahdi et *al.,* était l'étude de la prévalence de l'infection par *D. immitis* chez les chiens dans le nord de l'Algérie (Alger). Des échantillons de sang ont été prélevés sur 184 chiens partir de Novembre 2006 à Septembre 2007 et ont été examinés par la méthode Knott modifiée pour détecter microfilaires circulants. Un total de 34 sujets était microfilaires positifs, ce qui donne une valeur de prévalence de 18,48%. Tous

les échantillons ont ensuite été testés par ELISA-antigène afin de détecter les chiens souffrant d'infection Dirofilariose occultes. La prévalence est passée à 24,46% (avec 45 chiens séropositifs). Le sexe mâle (14,13%) est plus touché que les femelles (10,33%), mais il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes. Ce premier rapport sur l'état de l'infection *D. Immitis* chez les chiens domestiques à Alger. **(Benmahdi M.H., 2009).**

CHAPITRE 2 : ETUDE DU VECTEUR DE *DIROFILARIA IMMITIS*

I. Taxonomie

Les culicidés appartiennent à l'embranchement des **Arthropodes.** Ils peuvent être reconnus aux caractéristiques suivantes :

*Corps composé de parties ou segments dont certains peuvent être articulés ;

*Corps recouvert d'une carapace épaisse appelée exosquelette ;

*Corps garni de pattes et d'antennes articulées, en paires.

Les arthropodes sont représentés par de nombreuses classes, parmi lesquelles, la classe des **Insectes** dont les culicidés font partie. Les caractéristiques morphologiques de la classe des insectes sont :

*Corps divisé en trois segments : tête, thorax, abdomen ;

*Tête portant une paire d'antennes et une paire des yeux composés ;

*Thorax portant trois paires de pattes.

Les culicidés appartiennent à l'ordre des **Diptères**, les insectes de ce groupe présentent les caractéristiques suivantes :

*Une paire d'ailes visibles ;

*Des ailes postérieures vestigiales, ce sont de fins filaments mobiles connus sous le nom d'haltères ou balanciers, utilisées surtout pour maintenir l'équilibre en vol.

Les culicidés appartiennent au sous ordres des **Nématocères**, à la famille des **Culicidae** qui se divise en trois sous familles : les *Taxorhynchitinae,* les *Anophelinae*, les *Culicinae***.** (Tableau 2). La famille des Culicidae comprend environs 3000 espèces (**Knight et Stone, 1977**). En Algérie, 50 espèces des Culicidés appartenant à 6 genres différents sont

regroupés dans les sous- familles des *Anophelinae* et les *Culicinae* **(Hassaine, 2002).**

Tableau 2 : Systématique générale des Culicidés présents en Algérie (**Berchi, 2000**).

Règne	Animal	
sous. Règne	Métazoaires	
Embranchement	Arthropodes	
sous. Embranchement	Antennates	
Classe	Insectes	
sous. Classe	Ptérygotes	
Ordre	Diptères (Linné, 1758)	
sous. Ordre	Nématocères (Latreille, 1825)	
Infra. Ordre	Culicomorpha (Wood et Borkent, 1989)	
Super. Famille	Culicoidae (Wood et Borkent, 1989)	
Famille	Culicidae (Latreille, 1907)	
sous. Famille	Anophelinae	Culicinae
Genre	*Anopheles* (Meigen, 1818) *Aedes* (Meigen, 1818) *Culiseta* (Neveu-Lemaire, 1902) *Orthopodomyia* (Theobald, 1904) *Uranotaenia* (Lunch Arribalzaga, 1904)	*Culex* (Linné, 1758)

II. Cycle de développement

Le cycle vital des moustiques présente de nombreuses variations selon les espèces. Tous sont des insectes à métamorphose complète (holométaboles). Les stades de l'œuf, de la larve et de la nymphe sont aquatiques, alors que l'adulte est aérien. Le cycle s'effectue en plusieurs étapes allant de l'accouplement à l'émergence, passant par la ponte, l'éclosion, le développement post embryonnaire et la nymphose (Figure 9).

II.1.L'accouplement

L'accouplement des moustiques à lieu en vol ou dans la végétation. Chez les Nématocères, il s'effectue la nuit chez les formes solitaires, les culicidés mâles s'appliquent contre les femelles ventre à ventre et les deux insectes continuent à voler ensemble. La fertilisation est rapide mais exige une température d'au moins 20°C. Un seul mâle peut s'accoupler avec plusieurs femelles à intervalles plus ou moins rapprochés **(Seguy, 1950)**. Les femelles gardent la semence du mâle dans leur spermathèque, petite poche située dans l'abdomen. Une fois fécondées, elles partent en quête d'un repas de sang. Les mâles ne vivent généralement que quelques jours, puisant dans le nectar des fleurs, les sucres qui leur fournissent de l'énergie.

II.2.L'oviposition

Après avoir absorbé du sang, la femelle se pose dans un endroit abrité pour digérer son repas. Quelques jours plus tard, selon l'espèce, elle pond dans différents milieux aquatiques ou sur le sol humide. Les œufs sont déposés sur substrat humide des creux

d'arbre dans le cas des espèces dendrotelmes. De 50 à 300 œufs sont pondus en quelques heures ou en plusieurs jours, selon les espèces. Les œufs d'*Aedes* sont pondus isolément et doivent subir une période de dessiccation avant d'éclore **(Rioux, 1958).**

II.3.L'éclosion

Selon l'espèce et la période de l'année, l'éclosion peut se produire après quelques heures ou bien elle est plus ou moins retardée. Parfois de plusieurs mois. Certains œufs de culicidés peuvent résister à une période de sécheresse de trois à cinq ans **(Anonyme, 2003)**. Les œufs des *Aedes,* pondus à la fin de l'été dans les cavités qui retiendront l'eau des pluies d'automne ou hiver, se maintiennent en état de vie latente. L'éclosion se produit brusquement au début du printemps au contact de l'eau **(Seguy, 1950).**

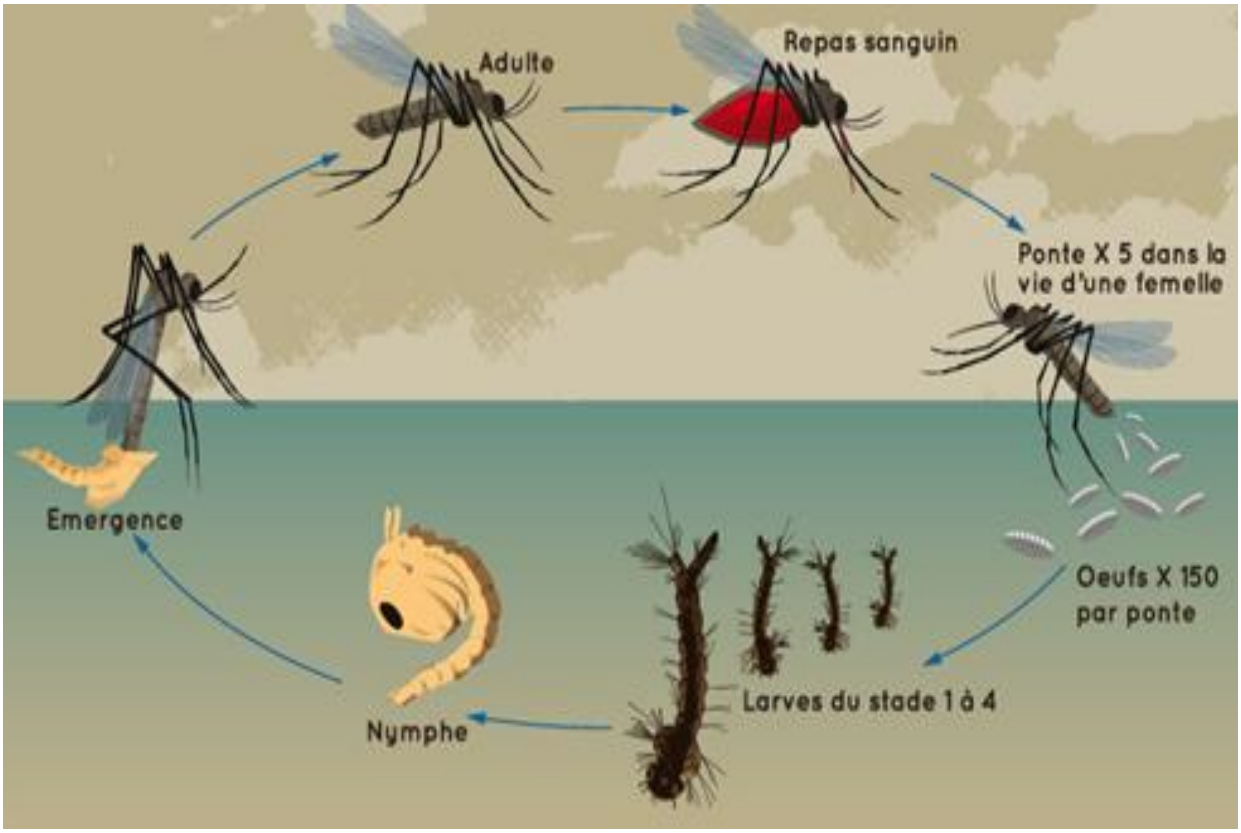


Figure 9: Cycle de développement des culicides **(Brunhes et *al.*, 1999).**

II.4.La nutrition et la croissance

Après sa sortie de l'œuf, la minuscule larve grandit en passant par quatre stades larvaires. Au cours de sa croissance, le corps adipeux est le plus développé. Il emmagasine les réserves énergétiques qui seront utilisées pendant la métamorphose **(Seguy, 1950).** La croissance des larves est soumise à la nature de l'alimentation, à l'humidité et à la température et aussi sous la dépendance de la composition de l'eau **(Seguy, 1950).**

Au 1er âge, la larve du Diptère est un petit ver agile à téguments opalins et transparents, ce premier âge est de courte durée. La larve de 2^{e} âge est fortement influencée par la nourriture, c'est à cet âge que la forte mortalité est signalée en général chez les populations de larve. Le 4^{e} âge, d'une durée plus étendue, termine la vie larvaire (**Seguy, 1950).** La larve des *Aedes* présente un tube respiratoire (siphon) qu'elle utilise aussi pour rester suspendue à une certaine distance de la surface de l'eau **(Anonyme, 2003).**

II.5.La nymphose

Lorsqu'elle a terminé sa croissance, la larve devient moins active. Elle se transforme en nymphe ou pupe. Celle-ci, beaucoup plus trapue que la larve, a la forme d'une virgule. La nymphe est active mais il lui arrive de rester immobile juste sous la surface de l'eau, absorbant l'air par ses tubes respiratoires. Si elle est dérangée, elle plonge vers le fond pour échapper aux prédateurs. La nymphe des Culicidés, même si elle est active, ne se nourrit pas **(Pihan, 1986).**

II.6.L'émergence

L'émergence de l'insecte adulte a lieu à la surface de l'eau, elle dure environ 15 minutes **(Roubaud, 1933)**. La nymphe s'étire, son tégument se fend dorsalement, et très lentement

l'imago s'extirpe de l'exuvie (Figure 10). L'adulte qui vient d'émerger est plutôt mou. En général, avant de s'envoler, il reste à la surface jusqu'à ce que ses ailes et son corps sèchent et durcissent. Souvent les mâles émergent avant les femelles, car il leur faut davantage de temps pour développer leurs glandes sexuelles **(Anonyme, 2003)**. Ils se rassemblent en essaims, souvent le soir, au-dessus des herbes hautes, des masses d'eau ou d'objets proéminents, ou encore dans des clairières. Les femelles viennent les y rejoindre. Les couples se forment et quittent l'essaim pour copuler **(Anonyme, 2003**). En général, la durée de vie des adultes varie d'une semaine à plus d'une trentaine de jours. Certains individus ont vécu deux mois en élevage. Les femelles vivent plus longtemps que les mâles, qui meurent peu après l'accouplement (**Anonyme, 2002).**

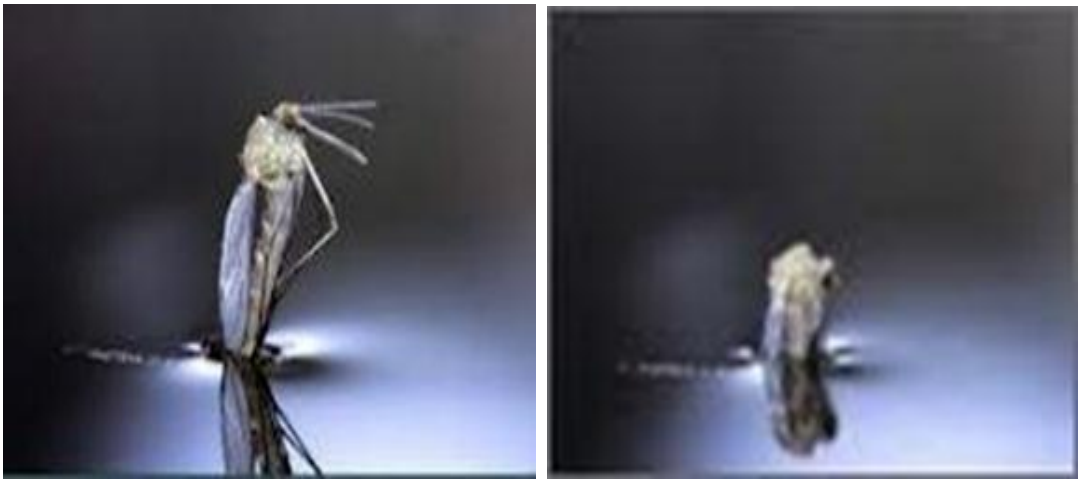


Figure 10 : L'émergence d'une pupe (**Anonyme, 2000**).

III. Morphologie générale des Culicidés

III.1. L'œuf

L'œuf des Culicidés (Figure 11) est généralement fusiforme et mesure environ 0.5 ± 0,02 mm. Au moment de la ponte, il est blanchâtre et prend rapidement, par oxydation de

certains composants chimiques de la thèque, une couleur marron ou noire. Il comprend de l'intérieur vers l'extérieur: l'embryon, la membrane vitelline pellucide, l'endochorion épais, l'exochorion plus ou moins pigmenté, gaufre ou aréolé **(Berchi, 2000).** Les œufs des *Aedes* sont pondus isolément sur substrat humide, et flottent à la surface de l'eau par l'intermédiaire d'un système de réticulation tensioactif **(Hassaine, 2002).**

Œuf *Culex* œuf *Aedes*

Figure 11: Forme typique des œufs des deux genres de Culicidés **(Berchi, 2000).**

III.2.La larve

Le développement larvaire des Culicidés se fait en quatre stades, dont les trois premiers stades ne présentent pas des caractères taxonomiques précis, seule la larve du 4ème stade rend la dichotomie facile. La larve se compose de trois parties (Figure 12) : la tête, le thorax, et l'abdomen.

Les larves d'*Aedes* se distinguent par l'absence de plaques abdominales, la présence de l'ouverture respiratoire située à l'extrémité d'un tube cylindrique court, trapu et porteur d'une seule touffe de soies médianes.

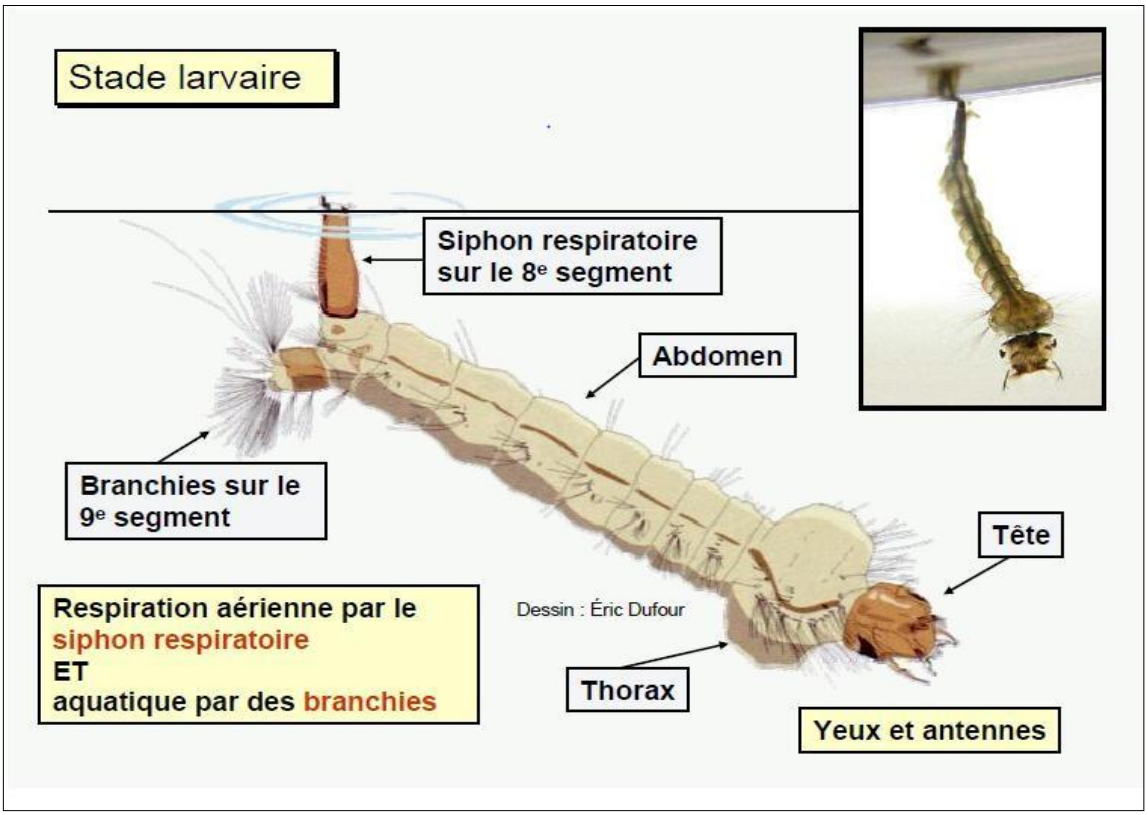


Figure 12 : Vue générale d'une exuvie (Culicinae) **(Brunhes et *al.*, 2000).**

* **La tête**: Porte deux tâches oculaires et une paire d'antennes formant un «V» dirigé vers lavant portant toujours des soies caractéristiques selon les groupe, la soie (6c) est la plus importante du point de vue taxonomique et comporte une branche, deux branches, ou trois branches et plus (Figure 13). Elle comporte une plaque chitineuse appelée le fronto-clypeus, garnie de 5 soies.

* En avant du fronto-clypeus s'insèrent les épines préyclypéales. On distingue au niveau de la tête la plaque mentale qui se compose d'une forte dent médiane avec un certain nombre de dents latérales.

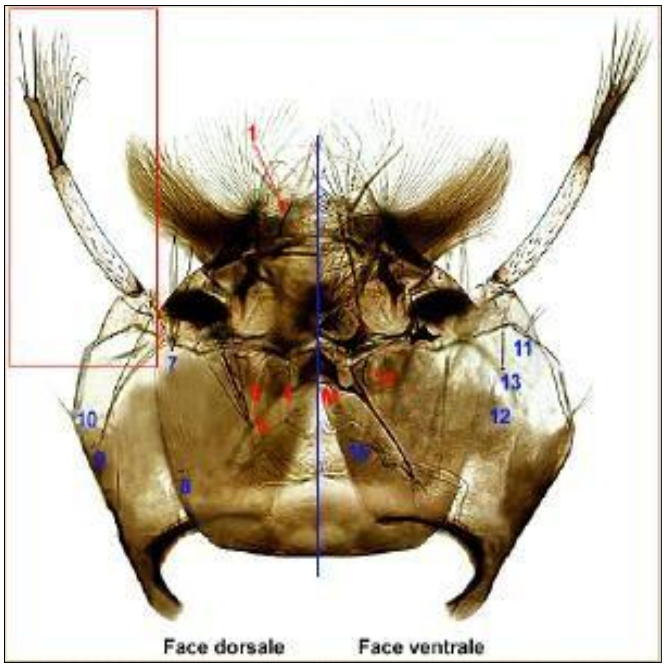


Figure 13 : Les soies céphaliques **(Brunhes et *al.*, 2000**).

1-C : épines clypéale**,**
4-C :soie clypéale postérieure,
5-C : soie frontale interne**,**
6-C : soie frontale externe,
14-C: soie post maxillaire M mentum)

* **Le thorax**: Subdivisé en prothorax, mésothorax et métathorax. Le thorax porte des soies (Figure 14). L'arrangement des soies prothoraciques permettent de reconnaître les espèces **(Rioux, 1958 ; Senevet et Andarelli, 1955).**

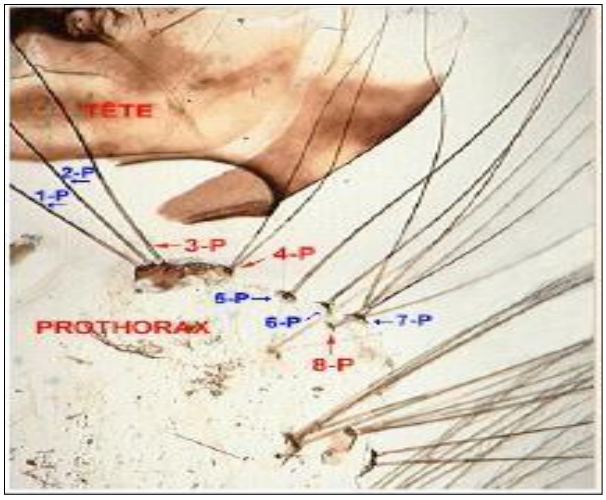


Figure 14: Les soies prothoraciques **(Brunhes et *al.*, 2000).**

3-C :soie prothoracique submédiane**,**
4-C :soie prothoracique latérale**,**
8-P :soie ventrale des séries Latérales).

*** L'abdomen** : Allongé sub-cylindrique est composé de neuf segments individualisés dont le 8ème possède un intérêt majeur en taxonomie (Figure 15). L'abdomen se termine

en général par deux structures importantes: le peigne, situé sur la face latérale et qui est constitué par un ensemble d'épines, et le siphon respiratoire qui comporte un certain nombre de critères taxonomiques, tels que le crochet subapical, le peigne siphonique ventral et les soies siphoniques. La selle portée par le segment anal sur sa face dorsale est une partie lisse ou chitinisée spiculeuse, sur laquelle s'insère la soie latérale, nous y trouvons aussi les soies de la brosse ventrale et les soies caudales.

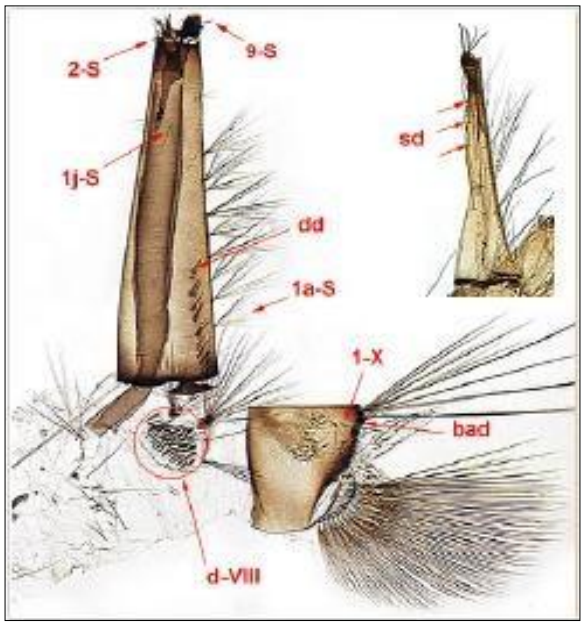


Figure 15 : Soies du siphon et du segment VIII et X **(Brunhes et *al.*, 2000**).

1a-S : soies ventrales,
1j-S : soies latérales,
Sd: soies dorsales**,**
Bad: bord apico-dorsal,
2-S: épine sub-apical
Dd : dent distal**,**
d-VIII : dents du segment VIII**,**
1-X : soie caudale du segment X)

III.3.La nymphe

Les pupes des Culicidés, qui ont une forme de virgule (Figure 16), sont suspendues juste sous la surface de l'eau et nagent activement lorsqu'elles sont dérangées. Il est assez difficile de reconnaître les pupes des *Aedes* de celle des Culex et de celles des *Anophelinae* sur le terrain **(Anonyme, 2003).** La nymphe comprend trois parties **(Hassaine, 2002).**

- Les nageoires ou palettes natatoires, très aplaties, de forme généralement ovale, parfois asymétrique;

- Les segments abdominaux qui sont au nombre de neuf, cependant, la poche génitale, visible à la nageoire constituerait le dixième segment;

- Le céphalothorax constitué de tubercules métathoraciques, de trompettes respiratoires qui fournissent de bons caractères taxonomiques et des soies céphaliques.

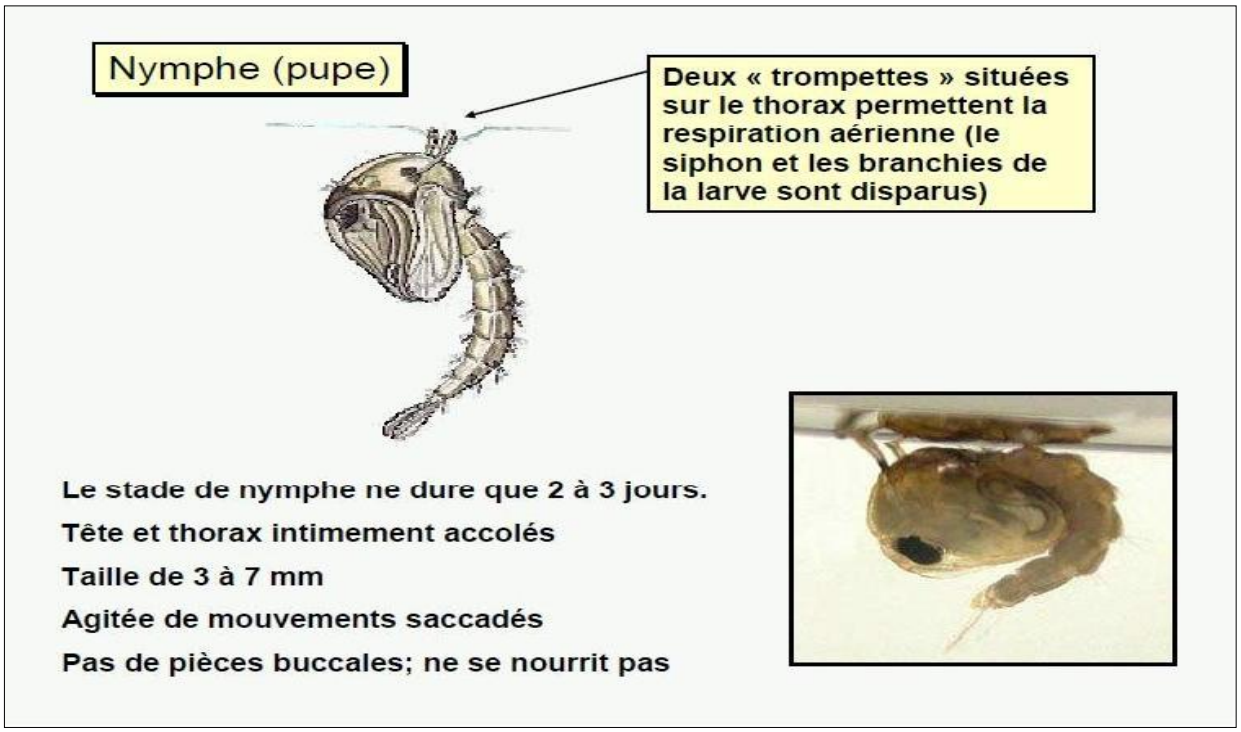


Figure 16: Aspect général d'une nymphe d'*Aedes* **(Brunhes et *al.*, 2000).**

III.4. L'adulte

Les adultes des Culicidés sont de petits insectes au corps élancé. Le corps se compose de la tête, le thorax et l'abdomen (Figure 17). Le corps et les pattes ont une coloration variant de brun pâle à noire, parfois marquée de taches et de bandes.

* **La tête** porte deux grands yeux composés et une paire d'antennes formant un V dirigé vers l'avant. Les antennes des femelles sont discrètes et ornées d'un petit nombre de soies

courtes. Celles des mâles sont plumeuses, touffues et munies de soies longues. Elle porte aussi une longue «trompe », ou proboscis, caractéristique. Celle de la femelle est allongée et presque droite. Elle comporte six pièces buccales très effilées, dont quatre sont des stylets fins et pointus capables de percer l'épiderme des vertébrés. Ce proboscis permet à la femelle de piquer et d'aspirer le sang. Les pièces buccales du mâle, qui ne pique pas, sont moins rigides et réduits **(Seguy, 1950).**

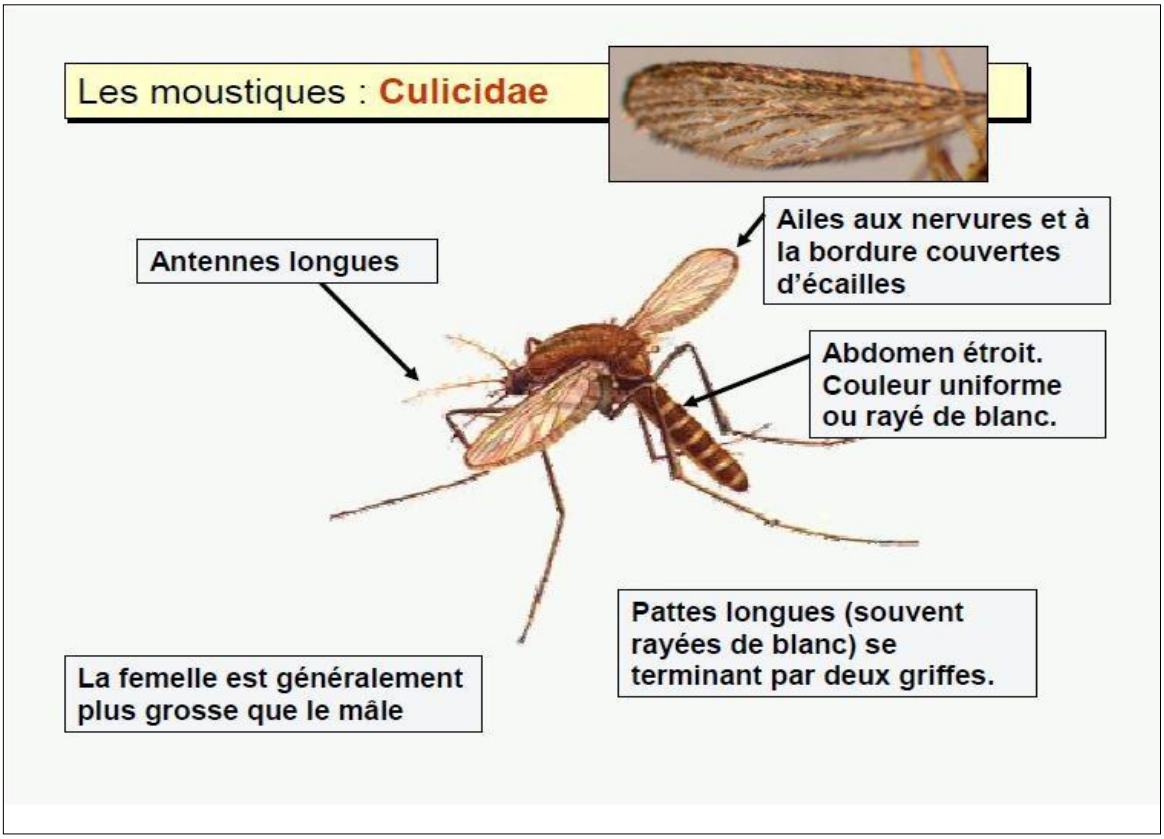


Figure 17 : Aspect général de l'adulte **(Brunhes et *al.*, 2000).**

***Le thorax** trapu porte une seule paire d'ailes longues et étroites. Les ailes sont ornées de minuscules écailles qui soulignent les nervures et forment parfois des taches. Nous trouvons aussi sur le thorax une paire de petits balanciers, ainsi que trois paires de pattes

longues et grêles, souvent marquées de bandes blanches près du corps ou à l'autre extrémité. Chaque patte se compose de cinq parties: le coxa, le trochanter, le fémur, le tibia, le tarse lui-même composé de cinq articles, dont le dernier porte deux griffes **(Anonyme, 2003).**

***L'abdomen** du Culicidé est allongé et beaucoup plus étroit que son thorax. Il est formé de dix segments mais seuls les huit premiers sont différenciés et visibles extérieurement. Ils sont composés chacun d'une plaque chitineuse dorsale, le tergite et d'une plaque ventrale ou sternite. La localisation des écailles et leur disposition sur les tergites abdominaux, aident à déterminer les espèces. Les deux derniers segments sont modifiés pour les fonctions reproductrices **(Berchi, 2000).** Chez les *Aedes*, l'alternance de bandes claires et de bandes sombres, permettent de les reconnaître d'où l'appellation du moustique-tigre.

IV. Etude éthologique des Culicidés

IV.1.Activité biologique

Les rythmes d'éclairement jouent un rôle très important dans le comportement et la physiologie du Culicidé. En effet, chaque espèce possède un rythme endogène d'activité et de repos qui peut varier d'une région à une autre et chez une même espèce entre le mâle et la femelle. Il existe deux types des rythmes d'éclairement :

- **Les rythmes nycthéméraux** c'est-à-dire les activités des espèces pendant la journée, ils correspondent à l'alternance de l'activité et de repos au cours de 24h.
- **Les rythmes saisonniers** caractérisés par une diapause, dans les régions arctiques et

tempérées du Nord où les variations photopériodiques et thermiques sont nettement marquées au cours de l'année, les Culicidés suspendent leur activité à la saison froide, au stade d'œuf, de larve ou d'adulte **(Sinegre, 1974)**. Plus au sud, l'activité est continue toute l'année, dépendantes directement des aléas climatiques locales. Le repos est généralement déclenché par des températures trop basses en hiver **(Hassaine, 2002).**

IV.2.Hôte et comportement trophique

Les moustiques sont surtout connus par le repas sanguin pris par les femelles adultes. Elles piquent de préférence les vertébrés (animaux à sang chaud) mais ont presque toujours, une attirance pour un groupe bien précis soit par un mammifère, un oiseau ou un animal à sang froid, les batraciens ou les reptiles par exemple (**Limoges, 2002 ; Seguy, 1950**). Le comportement trophique des Culicidés est très différent entre les mâles et les femelles. Les mâles floricoles et saprophages, se nourrissent de nectar et d'eau ; ce régime alimentaire indique la présence des pièces buccales rudimentaires. Seule la femelle est hématophage et son appétence vis-à-vis de tel ou tel groupe de vertébrés est en fonction du genre, de l'espèce ou du biotope auquel elle appartient **(Sinegre, 1974)** : un repas de sang constitue la source de protéine nécessaire pour le développement des œufs.

IV.3.Les espèces de culicidés isolées en Algérie

En Algérie, des inventaires des moustiques ont été realisés dans différents milieux et regions (Tableau 2). Ils ont révélés une diversité de la faune culicidienne avec une large répartition géographique et une abondance notable de *Culex pipiens* et *Culiseta*

longiareolata. Leur répartition est liée essentiellement à des facteurs environnementaux, au changement climatique, à l'urbanisation, aux systèmes d'assainissement, et aux modifications des pratiques agricoles (**N. Soltani, 2015**).

Dans le nord, les régions étudiées sont l'Est (**Lafri I., et *al.*, 2014 ; Boudemagh et al., 2013 ; Berchi, 2000**), Dans la région d'Alger et de Tizi ouzou (**Lafri I., et *al.*, 2014** ; **Lounici, 2003),** à l'Ouest (**Lafri I., et *al.*, 2014 ; Hassaine, 2002).** Dans le sud algérien, (zones arides)(**Lafri I., et *al.*, 2014 ; Bebba, 2004 ; Clastrier et Senevet, 1961)** et dans la région de Biskra (**Lafri I., et *al.*, 2014 ;Merabeti et ouakid, 2011**).

Dans **l'Algérois**, l'inventaire des culicidés dans le jardin d'Essai d'El hamma et la ferme pilote d'El Alia, a révélé la présence notamment de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata.*

A **Milla**, une étude faunistique a mis en évidence sur 1567 moustique inventoriés, Les espèces les plus abondantes ont été respectivement *Culex pipiens* (61,14 %), *Culiseta longiareolata* (15,06 %) (**N. Messai et *al.*, 2011**). L'inventaire réalisé dans le sud a révélé la présence de quelques espèces isolées également dans le nord du pays à savoir *Culex pipiens* (Linné, 1758) la plus abondante (1906 individus) et *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838) la moins abondante (91 individus).

Dans la région de **Biskra** (**B. Merabeti et M.L. Ouakid, 2011**) ces deux espèces sont les plus abondantes à savoir sur 1686 individus inventoriés, 484 étaient des *Culex pipiens* et 466 des *Culiseta longiareolata.* De plus *culex pipiens* est active toute l'année tandis que *Culiseta longiareolata* est active du mois de novembre au mois de Mai (7 mois).

Dans la région de **Tebessa**, notamment en ville et au pourtour (zones rurales)*Cx. pipiens* présente une abondance relative de 22,26% et *C. longiareolata* a un taux de 24,41 % dans

plusieurs gites en 2006-2007 et dans la station d'El hammamet (*Culiseta longiareolata* 62,20% et *Culex pipiens* 26,75% **(Bouabida,H ; 2012, Aïssaoui ,L ; 2014).**

A l'Est du pays (région humide) comme la région du Parc National **d'El-Kala** (P.N.E.K), une étude réalisée par **Lakhdara D. (2009)** a révélée une proportion inverse, avec **4087** individus de *Culex pipiens* et **549** individus de *Culiseta longiareolata*.

En 2014, **Lafri et *al.*,** ont réalisé un inventaire des culicidés dans tout le pays (Nord, Sud, Est et Ouest). *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* ont été isolés dans toutes les régions. Toutefois, *Culex pipiens* n'a pas été isolée dans le sud du pays (Bechar et Tindouf).

Ces deux espèces présentent une répartition mondiale avec quelques zones particulières à chacune d'elles. Ainsi, ***Culisata longiareolata*** est une espèce répartie dans plusieurs pays de l'Europe, de l'Amérique, de l'Afrique et de l'Asie (Égypte, Russie, France, Jordanie, Liban, Lesotho, Mauritanie, Maroc, Namibie, Slovaquie, Somalie, Soudan, Syrie, Espagne, Inde, Iran, Irak, Italie, Tadjikistan, Tunisie, Turquie, Ukraine, Yémen) (https://en.wikipedia.org/wiki/Culiseta_longiareolata).

Quant à ***Culex pipiens***, est retrouvée dans les mêmes continents (Allemagne, Russie, Autriche, Bosnie-Herzégovine, Bulgarie, Chypre, Espagne, Grèce, Hongrie, Irlande, Israël, Italie, Japon, Jordanie, Lituanie, Maroc, Pakistan, Pologne, Portugal, Roumanie, Serbie, Slovaquie, Suède, Tadjikistan, Tunisie, Turquie, l'Angleterre, Uruguay, la hollande, U.S.A) (https://www.everipedia.com/Culex_pipiens/#ixzz4Q4gKqYXc).

Tableau 3 : Récapitulatif des différentes espèces de culicidés isolés en Algérie.

Régions d'Algérie	Espèce isolée	Auteurs
Mila	*Anopheles pharoensis* *Anopheles labranchiae* *Culex modestus* *Culex antennatus* *Culex deserticola* *Culex laticinctus* *Culex theileri* *Culex hortensis* ***Culex pipiens*** ***Culiseta longiareolata*** *Uranotaenia*	**Messai N. et *al.*, 2011**
Biskra (Nord est de l'Algérie).	*Aedes (o) caspius* *Aedes (o) annulipes* *Aedes vexans* *Aedes dorsalis* *Anopheles multicolor* *Anophles sergentii* *Anopheles sp* *Culex hortensis* ***Culex pipiens*** *Culex modestus* *Culex theileri* *Culex laticitus* *Culex torentium* ***Culiseta longeareolata*** *Culiseta annulata* *Culiseta subochrea* *Culiseta ochroptera* *Uranautenia unguiculata* *Orthopodomya pulcirtarsis*	**Merabeti B. et Ouakid M.L., 2011**
Biskra (Oasis d'Ouled Djellal)	*Anopheles multicolor* *Aedes caspius* *Aedes vexans* ***Culex pipiens*** *Culex theileri* *Culex deserticola* *Culex modestus* *Culex torrentium* *Culex pusillus* *Culex antennatus* ***Culiseta longiareolata***	**Benhissen S. et *al.*, 2014**

Tebessa	***Culex (Culex) pipiens*** *Culex (Culex) theileri* *Culex (Culex) laticinctus* *Culex (Neoculex) hortensis* *Culex (Culex) perexiguus* ***Culiseta longiareolata*** *Culiseta (Theobaldia) annulata*	**Bouabida H. et *al,* 2012**
Tebessa	*Culiseta (Theobaldia)subochrea* *Ochlerotatus caspius* *Culex mimeticus* *Culex perexiguus* ***Culex pipiens*** *Culex theileri* *Culex antennatus* *Culex laticinctus* *Culex univittatus* *Culex torrentum* *Culex modestus* *Culex pusillus* *Culex hortensis* *Culex impudicus* *Culex territans* *Culex deserticola* *Culiseta Allotheobaldia* ***Culiseta longiareolata*** *Culiseta subochrea* *Culiseta annualata* *Uranotaenia unguiculata*	**Aissaoui L., 2014**
El tarf (Est nord pays = Lac Tonga, Oubeira, Mellah)	*Culiseta morsitans* *Aedes vexans* *Culex modestus* *Orthopodomyia pulcripalpis* ***Culex pipiens*** ***Culiseta longiareolata*** *Aedes caspisus* *Culex.annullata* *Aedes biskraensis* *Anophelinae* *Anopheles labranchiae*	**Lakhdara D., 2009**
Algérois (Jardin d'Essai d'El Hamma, El Alia)	***Culex pipiens*** ***Culiseta longiareolata***	**Tamaloust N., 2007**
Algérois (Reghaia)	*Culex pipiens*	**Lounaci Z., 2014**
Tlemecen	*Culex pipiens*	**Benkalfate-El Hassar, 1991**

Tizi-Ouzou	*Aedes (Stegomyia) albopictus*	**Lafri I., et *al.*, 2014**
Ghardaïa	*Aedimorphus vexans*	
Blida, Tizi-Ouzou	*Anopheles (Anopheles) labranchiae*	
Tamanrasset, Ghardaïa, Tindouf - Naama, Tlemcen	*Anopheles (Cellia) multicolor*	
El Tarf, Annaba - Saida, Mostaganem, Tlemcen -Alger, Blida, Tipaza, Médéa, Tizi-Ouzou	***Culex (Culex) pipiens***	
Alger	*Culex (Culex) theileri*	
Alger, Blida	*Culex (Maillotia) deserticola*	
Alger, Blida - Tindouf	*Culex (Maillotia) hortensis*	
Tizi-Ouzou	*Culex (Neoculex) territans*	
El Tarf, Annaba - Saida,Mostaganem, Tlemcen, **Bechar** Alger, Blida, Tipaza, Médéa, Tizi-Ouzou **Tindouf**	***Culiseta longiareolata***	
Alger (N)	*Culiseta (Culicella) litorea*	
Tipaza (N)	*Ochlerotatus flavescens*	
Boumerdes (N)	*Ochlerotatus (Finlaya) geniculatus*	
Tipaza (N)	*Ochlerotatus coluzzii*	
Tipaza (N)	*Ochlerotatus detritus*	
Ghardaïa (S)	*Ochlerotatus dorsalis*	
Alger, Blida (N)	*Uranotaenia unguiculata*	

IV.4.Les espèces vectrices de *Dirofilaria* dans le monde

À la fin du 19ème siècle, le monde scientifique découvrit que les moustiques transmettaient de graves maladies telles que les filarioses (1899)(*Dirofilaria)* **(Fain A., 1947).** Bien qu'on ait démontré que plus de 70 espèces de moustiques permettent le développement des microfilaires au 3e stade infectieux dans le laboratoire, il est généralement admis que seules quelques espèces de moustiques sont responsables de la transmission du parasite à des animaux sensibles dans des conditions naturelles **(Otto & Jackowski 1981)**.

Les facteurs favorisant la transmission varient considérablement d'une région à une autre. Dans certains endroits, 50% des chiens sont infectés, tandis que dans d'autres régions géographiques les animaux ne sont pas infectés **(Luzon-Pena & Gomez-Bautista 1993).** *Dirofilaria immitis* est cosmopolite et adapté à un large éventail d'espèces de moustiques, notamment, les genres *Aedes, Culex, Anophèlès*, et *Mansonnia*.

Aux Etats Unis, les pricipaux vecteurs sont *Aedes taeniorhynchus, Ae. solicitons, Culex salinarms, Cx. quinquefasciatus et Anophèles quudnmaculatus* (http://www.collie-online.com/colley/insectes/dirofilariose.php, insect et acarins). Au Quebec (Canada), (www.heartwormsociety.org), *D. immitis* a été fréquemment isolé à partir d'échantillons de *Cx. pipiens* and *Cx. tarsalis* en relation avec leur activité saisonnière et la répartition mondiale suggérant un rôle central de ces espèces dans la transmission de la dirofilariose (**Shaoming Huang et al., 2013**). En Illinois, une étude sur le rôle vectoriel de *culex pipiens* a été démontrée par **Bolaji Nelson Akande** (1977).

En Argentine, une étude réalisée sur 2 années (2007-2008), l'ADN de ***D. immitis*** a été isolée sur des moustiques comme *Aedes aegypti* and *Culex pipiens* dans les régions urbaines (**Vezzani D. et *al*., 2011).**

Au Brésil, une étude a été menée dans l'Itacoatiara dans l'état de Rio de Janeiro, de Mars 1995 à Février 1996, durant la laquelle des moustiques ont été disséqués pour la recherche des larves de *D. immitis*. Les meilleurs vecteurs de ce parasite sont *Ae. scapularis*, *Ae. taeniorhynchus,* et *Cx. quinquefasciatus* **(Norma Labarthe et *al*., 1998)**

En Turquie, durant 02 saisons d'activités des moustiques (2008-2009) dans la province de Kayseri au centre du pays, l'ADN de *D. immitis* a été isolée chez *Ae. vexans* (51.7%) suivi de *Cx. pipiens* (42.1%), *Cx. theileri* (3.1%), *Cs. annulata* (1.5%), *An. maculipennis* (1.0%) et *Cx. hortensis* (0.6%) (**Yildirim A. et al., 2011**).

Au Portugal, une étude a été réalisée sur le poteniel rôle vecteur des espèces autochtones. Trois saisons ont concerné cette étude à savoir l'été, l'automne et le printemps durant trois ans (2011 à 2013). Les auteurs ont mis en evidence l'AND de *D. immitis* par PCR sur 05 espèces de moustiques: *Culex (Cux) theileri* (ERI=0.71%), *Cx. (Cux) pipiens f. pipiens et f. molestus* (ERI=0.5%), *Anopheles (Ano) maculipennis s.l.* (ERI=3.12%), incluant *An. (Ano) atroparvus, Aedes (Och) caspius* (ERI=3.73%) et *Ae. (Och) detritus s.l.* (ERI=4.39%) (**C.A. Costa Ferreira et *al*., 2015**),

En Espagne, des femelles de moustiques ont été capturées durant **deux années (**2012-2013) dans le sud du pays, pour la recherche de *D. immitis* par la détection de L'ADN par PCR. Pour la 1^{ere} fois en Espagne, L'ADN de *D. immitis* a été détecté chez *Cx. pipiens* supposant ainsi sont rôle vecteur potentiel dans la transmission de cette filaire.

En France, selon **Yvon Perrin (**http://archives.varmatin.com/derniere-minute/ce-

moustique-qui-peut-tuer-votre-chat-ou-votre-chien.2276212.html)**,** entomologiste médical, spécialisé dans la lutte contre les moustiques à Montpellier, le moustique tigre, particulièrement répandu en zone tropicale, est un vecteur possible de la dirofilariose, au même titre que l'espèce autochtone, (*Culex*).

En hongrie, 95% des moustiques récoltés appartenaient à l'espèce *C. pipiens* et cette dernière a été confirmée vectrice de *D. immitis* (**Attila Trajer, 2015**)

En Algérie, de nombreux travaux d'inventaire ont été entrepris dans le pays, mais aucune étude n'a mis en évidence le potentiel rôle vecteur de *D. immitis* des moustiques isolés.

CHAPITRE 3 : LE DIAGNOSTIC DE LA DIROFILARIOSE

La confirmation de la Dirofilariose passe nécessairement par le diagnostic de laboratoire qui repose sur la mise en évidence soit des microfilaires de *D. immitis*, soit des témoins de l'infestation (Ac ou Ag) nonobstant les présomptions apportées par l'examen clinique ; cette épreuve est nécessaire pour affirmer l'existence de la filariose ; elle l'est, aussi pour déceler les porteurs des filaires dans une population d'animaux apparemment sains. On utilisera soit le sang périphérique, soit le sang veineux selon la technique choisie. Deux groupes de méthodes permettent de déceler l'existence des filaires ou de leurs témoins :

- Les méthodes directes se basant sur la recherche des microfilaires dans la circulation sanguine (périphérique ou générale) ;
- Les méthodes indirectes dites immunologiques. **(Basset, D ; 2016).**

I.LES TECHNIQUES DE RECHERCHE

I.1.. LES PRELEVEMENTS SANGUINS

I.1.1. Moment du prélèvement

Le moment du prélèvement ne semble pas être fondamental. Si l'on se refaire aux observations d'**Euzeby (1961)**, la simple opération qui consiste à ponctionner une goutte de sang suffit à provoquer un stress et par là, la libération des microfilaires dans le réseau sanguin périphérique.

I.1.2. Lieu du prélèvement

Le sang destiné à la recherche des microfilaires peut être prélève soit dans les capillaires cutanés ou muqueux, soit dans une veine périphérique. Pour la ponction veineuse, chez le chien la saphène externe, la radiale ou la jugulaire sont utilisés; 1 à 10 cc de sang sont recueillis. En ce qui concerne la ponction des capillaires cutanés, à la face interne de l'oreille sera choisie après avoir effectué une friction locale pour provoquer une vasodilatation "*in situ*". Il faut prélever la première goutte parlante au point de ponction car elle est la plus riche en parasites. **(Develoux, M., 2005).**

II.. EXAMEN DIRECT : PROCEDES D'ISOLEMENT DES MICROFILAIRES DANS LA CIRCULATION SANGUINE

II.1.Examen du sang capillaire

Cet examen ne comporte que des méthodes simples, rapides sans enrichissement. Il peut être immédiat ou différé. **(Kougoum, G.P., 2014).**

II.1.1. Examen extemporané à l'état frais

Une goutte de sang est examinée entre lame et lamelle immédiatement après son prélèvement. On peut y ajouter un anticoagulant (le complexon ou le citrate de soude) qui évite la gêne constituée par l'agglutination des globules rouges.

L'examen microscopique est pratiqué immédiatement et à faible grossissement (23 x). La recherche des microfilaires est facilitée par l'emploi de colorants vitaux : bleu de

méthylène à 1p 5000. Azur II à 1 p 3000 a une goutte de sang, on ajoute une goutte de colorant. Les microfilaires apparaissent alors bien que la coloration vitale soit une qualité inconstante **(Kougoum, G.P., 2014).** Cet examen ne permet pas cependant l'identification de l'espèce parasite.

II.1.2. Examen différé

Il se déroule sur plusieurs étapes : l'étalement, la dessiccation, la fixation et la coloration du sang. Nous disposons de deux techniques qui sont généralement utilisées : la goutte épaisse et le frottis mince.

A. La goutte épaisse

Le principe consiste à étaler sur une petite surface 2 à 3 gouttes de sang. Les parasites éventuellement présents seront rassemblés et plus facilement décelables. Ce procédé exige une hémolyse préalable sans laquelle l'observation microscopique serait impossible. **(Forse, B. 2002).**

La goutte épaisse est laissée à l'air libre pendant 24 heures ou séchée à l'étuve à 37°C pendant une heure. Elle est ensuite déshémoglobinisée à l'eau distillée en mettant la lame verticale dans un cristallisoir puis séchée à la température ambiante.

La préparation est fixée grâce à l'alcool méthylique pendant 5 minutes, on rince légèrement à l'eau distillée puis on sèche à nouveau.

A défaut de l'alcool méthylique, on peut utiliser le May – Grunwald – Giemsa sur goutte épaisse d'hémolinisée et séchée ; l'hémalun éosine, l'hématoxyline ferrique, ou la pyronine vert de méthyle en suivant les mêmes étapes.

B. Le frottis mince

Cette technique consiste à l étalement d'une goutte de sang, en couche mince sur une surface plus ou moins grande de la lame, suivi de la coloration au May-Grunwald-Giemsa. Les microfilaires s'accumulent sur les bords et la queue de l'étalement.

D'une manière générale, l'examen d'étalements séchés est une technique qualitative permettant d'apprécier uniquement la morphologie des microfilaires et donc l'identification des parasites. **(Savary-Bataille, K., 2003)**

II.2. EXAMEN DU SANG VEINEUX APRES CONCENTRATION

Ces méthodes de concentration ont pour buts :

- De permettre de traiter une quantité appréciable de sang ;
- De concentrer dans le plus petit volume possible le plus grand nombre de microfilaires ;
- De ne pas altérer leur morphologie afin de permettre leur coloration et la détermination des espèces ;
- De faire appel qu'à des réactifs simples et être de réalisation facile.

L'avantage de ces procédés est de détecter des taux microfilarémique bas, voire très bas. **(Ndaguimana M., 1998).**

II.2.1. Technique des tubes capillaires

Cette technique utilise des tubes capillaires ou tubes à hématocrite de 2 à 5 de volume et mesurant 32 mm de long pour 0.8 mm de diamètre. Le sang est collecté dans des tubes

avec EDTA. Les tubes sont remplis aux 2/3 et scellés à la chaleur. Ils sont centrifugés à 16500 tour/mn pendant 2 minutes. Ces tubes sont maintenus verticalement pendant 2 heures et sont centrifugés à nouveau pour clarifier le plasma. La faible densité des microfilaires leur permet de rester dans le plasma tandis-que les éléments figurés du sang se retrouvent dans le culote de centrifugation. On examine donc le plasma au microscope à grossissement 80 x. les tubes sont fixés à un support du fait de leur petitesse.

L'examen de la colonne plasmatique permet d'apercevoir des microfilaires qui nagent au-dessus des sédiments. Puis ces embryons, après passage des tubes à la flamme, sont tués et restent droites. Ensuite, on emploie une méthode de numération particulière lorsqu'on découvre les microfilaires.

A un millilitre de sang, on ajoute 9 millilitres de solutions formolée à 2p 100. Les globules rouges sont lysés par la solution et les microfilaires sont rassemblées par centrifugation à 2000 tours/ mn pendant 10 minutes. On se débarrasse du surnageant et une portion mesurée du sédiment est placée entre lame et lamelle. Les microfilaires sont alors comptées.

Malheureusement, le rendement de la méthode est médiocre car l'examen microscopique est délicat : il faut analyser la colonne plasmatique plan sur plan. **(Bellier, S.,2010).**

II.2.2. Technique de KNOTT modifiée

On mélange un millilitre de sang frais à 10 millilitres de formol à 2p 100 dans un tube. Le tube est agité pendant quelques minutes pour lyser les globules rouges.

On les places ensuite dans une centrifugeuse pendant 5 minutes à 1000 tours/mn. Le tube est laissé en place pendant une heure afin qu'une bonne décantation s'opère puis on fait passer un agitateur en bois sur les parois du tube pour décoller les microfilaires adhérentes. En outre, soit en recueille quelques gouttes du sédiment sur une lame auxquelles on ajoute une goutte de bleu de méthylène à 1p 1000 pour la coloration des microfilaires, soit on ajoute le colorant directement sur le sédiment. **(Tarello, W., 2000).**

On relève un échantillon du mélange qu'on analysera entre lame el lamelle.

II.2.3. Technique de filtration

La filtration se fait avec des tamis métalliques à maille de 23µ, sur lesquels on fait couler du sang hépariné puis hémolysé à l'eau distillée. Les microfilaires arrêtées par les mailles sont concentrées par centrifugation puis colorées au May-Grunwald–Giemsa ou à chaud à l'hématoxyline ferrique. En **1974**, l'EVESCO pharmaceutical corporation a mis sur le marchée un " nécessaire" permettant en moins de deux minutes, et sans centrifugation d'enrichir les prélèvements de sang en microfilaires, par simples filtration sur une membrane. Le "Difil test kit" comporte un flacon de produit hémolysant, des membranes filtres avec leur support, et un flacon colorant fixateur. Ce matériel à la portée de tout praticien simplifie considérablement les dépistages de la Dirofilariose canine.

En résumé, il est conseillé pour la recherche des microfilaires de faire appel à l'examen direct qui est simple, rapide et un peu coûteux. Il doit être utilisé de façon systématique même s'il faut le compléter par la suite, s'il s'avère positif en présence d'un tableau clinique évocateur, on se dispensera de tout autre examen. S'il est négatif ou si le

diagnostic différentiel l'oblige, on aura recours aux techniques de filtration ou de Knott modifiée. Cependant ces deux dernières méthodes n'offrent pas pour autant une fiabilité totale en raison de l'existence des cas de filarioses microfilarémique.

III. EXAMENS INDIRECTS: METHODE IMMUNOLOGIQUE

III.1. Réaction de fixation du complément

III.1.1.Principe

Certains complexes antigène – anticorps, de même que le systéme hématies – hémolysines, peuvent fixer le complément mais ce phénoméne se produit sans manifestation visible. On utilisera alors dans un deuxième temps, le système hématies hémolysines, pour révéler la fixation ou non fixation du complément par le premier système antigène – anticorps.

La réaction s'effectue en deux temps :

- 1er temps : on met le sérum suspect et l'antigène correspondant en présence de complément
- 2e temps : on ajoute le système hémolytique comme (hématies + sérum hémolytique correspondant)

Si le complément a été fixé dans le premièr temps de la réaction, c'est-à-dire si le sérum suspect contenait des anticorps, il n'y aura plus de possibilités d'hémolyse dans le deuxième temps :

La réaction est positive

Si au contraire, le complément n'a pas été fixé dans le premier temps, il entrera en jeu dans le deuxième temps et permettra l'hémolyse des globules rouges :

La réaction est négative.

La présence des anticorps dans le sérum à examiner est révélée par l'inhibition de l'hémolyse dans le système hémolytique mis en jeu dans le deuxième temps de la réaction. **(Ridley D.S., 1956).** Nous citerons ici une seule technique celle de KOLMER.

III.2. Technique de KOLMER

La technique de KOLMER, fait appel à des quantités de complément constantes (à 4°C). Les sérums à tester sont décomplémentés par la chaleur (30 min à 56 °C). Le sérum, l'antigène et le couple hémolytique sont introduits dans les tubes à la dose de 0,05 millilitre. Le diluant utilisé est le tampon véronal. On procède aussi au titrage des antigènes qui s'effectue en présence de deux pools de sérum humains (malades atteints de loa-loa). La dilution des pools de sérum va 1/5^{e} à 1/320 ^{e}. La fixation dure une nuit à 4°c en présence d'un témoin globule rouge, couple hémolytique et d'un témoin sérum et antigène pour s'assurer que sérum et antigène n'ont pas de propriétés anti-complémentaires

La dilution des sérums correspondant à 50% est considérée comme seuil de positivité.

La sensibilité de test est suffisante pour permettre un dosage quantitatif des anticorps. Le seuil de dilution positif est apprécié par le chercheur, il est en fonction de la fréquence de l'infestation et de parasitoses annexes. En effet, la spécificité du test de fixation du

complément n'est pas optimale. On note des réactions croisées avec certains parasites intestinaux (Ancylostomes et trichures). La valeur diagnostique du test n'est pas reconnue unanimement. Des études réalisées par **Wang et Lu (1974)** rapportent que le test est efficace à 87% dans le diagnostic des filarioses.

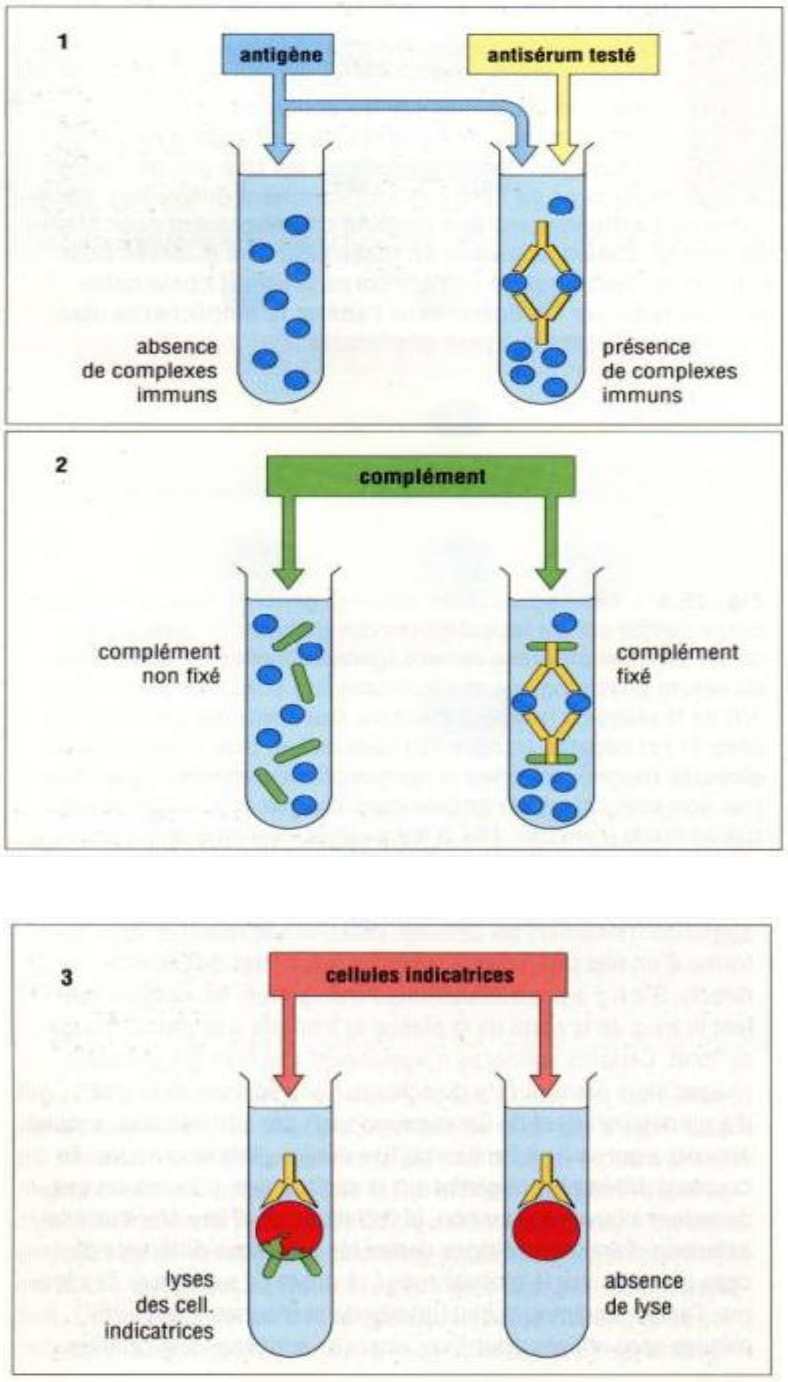


Figure 18 : Principe de test de fixation de compliment **(Chanteau, S., 2003)**

III.3. Réaction de précipitation en gélose

- **Technique en boite de pétri.**

C'est la technique de double diffusion en gélose l'antigène et l'anticorps migrent à partir de deux alvéoles creusées dans un gel d'agarose. Les lignes de précipitation matérialisent l'apparition de complexe immun et leur siège dépend de la vitesse de diffusion et de la concentration des deux réactifs. Les résultats obtenus avec les antigènes microfilariens semblent être supérieurs à ceux que l'on obtient avec des antigènes filariens (**Montaron, 1975).** La sensibilité de ce test est nettement inférieure à celles des autres tests sérologiques. Selon **Fife (1971)** vingt fois plus complexes immuns sont nécessaires pour donner une ligne de précipitation, que pour donner une réaction dans le test de fixation.

Cette faible sensibilité rend le diagnostic précoce de filariose délicat. Cependant, le faible coût, la facilité d'exécution, rendent ce procédé utilisable dans n'importe quel laboratoire. Il constitue le premier temps d'une analyse plus fine et beaucoup plus spécifique qui permet l'immuno électrophorèse. Toutefois, on note des nombreuses réactions croisées entre *D. immitis, Toxocara canis* et *Toxascaris leonina.*

III.4. L'immunoélectrophorèse

Ce test combine l'immuno diffusion et l'électrophorèse pour une identification rapide (< 2h) d'antigène dans le sang. L'échantillon et un anticorps spécifique sont placés dans des cupules aux 2 côtes opposés d'une plaque et soumis à l'électrophorèse. L'antigène migrera vers l'anode et l'anticorps vers la cathode et une ligne de précipité se formera au lieu de rencontre. Cette méthode peut être utilisée pour tenter d'identifier soit les anticorps, soit les antigènes aussi bien des vers adultes que des microfilaires. L'immuno

électrophorèse est considérée comme un test sensible et spécifique qui évite quelques unes des difficultés encourues à l'ELISA.

Dans des cas des chiens infestés expérimentalement, l'élévation et la baisse de tous les antigènes solubles circulants et anticorps ont été déterminé à l'intervalles réguliers. Les antigènes solubles sont d'abord détectés au premier mois, et les uns ou les autres anticorps sont détectés tous le long de l'infestation. La présence d'anticorps n'était pas consistante, mais un niveau élevé de l'antigène circulant était présent en général. L'immuno électrophorèse a la potentialité d'un diagnostic sûr et utilisable, car elle peut détecter rapidement et simultanément tous les antigènes et anticorps. **(Savini, H, 2013)**

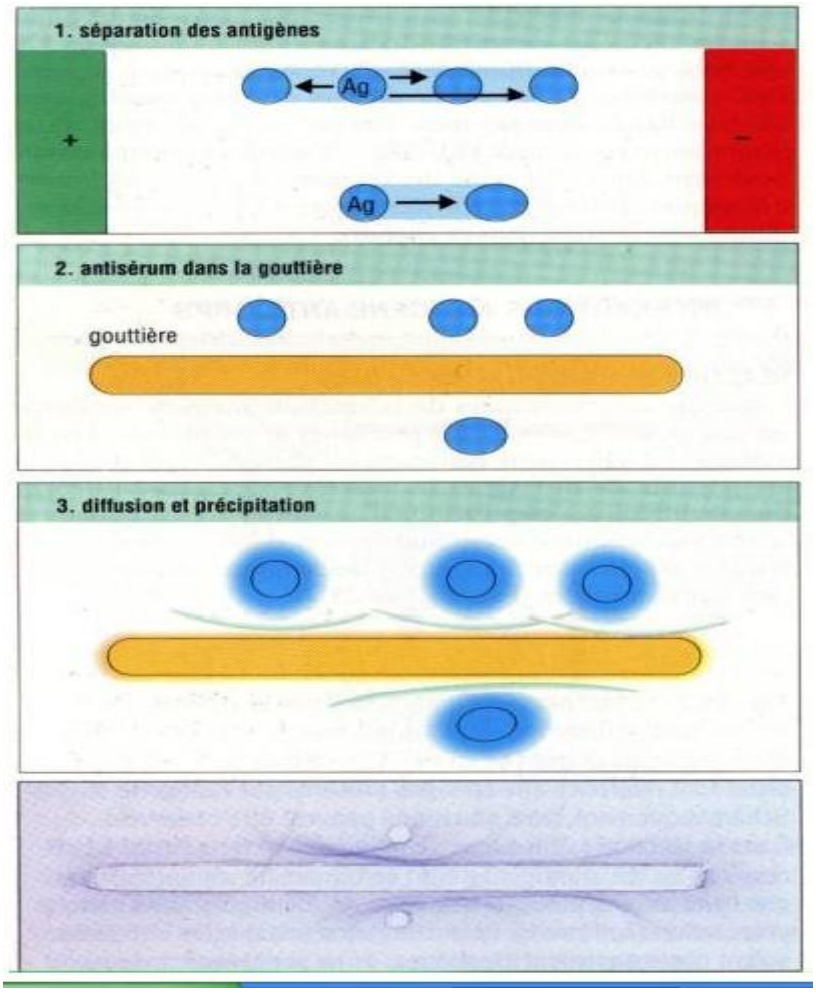


Figure 19 : Principe de test immunoélectrophorèse. **(Chanteau, S., 2003)**

III.5. Réaction d'agglutination passive ou conditionnée

III.5.1. Principe

Ces réactions d'agglutination mettent en jeu un antigène constitué par une suspension d'éléments figurés. Elles sont plus sensibles que les réactions de précipitation.

De ce fait, certaines techniques sont basées sur la transformation d'une réaction de précipitation en réaction d'agglutination en fixant l'antigène soluble sur un support insoluble, en particulier des particules de latex (test d'agglutination au latex), de bentonite (test d'agglutination à la bentonite) ou des hématies (hémagglutination).

L'avantage des réactions d'agglutination :

- Elles sont peu sensibles au phénomène de zone, du fait de la structure particulaire de l'antigène.

- Elles demandent des quantités moins grandes d'antigènes que des réactions de précipitation.

- Elles permettent de déceler des quantités d'anticorps plus faibles.

En résumé, la technique est relativement simple et les méthodes sont plus sensibles.

- Difficultés :

Les principales difficultés de ces réactions sont le choix des particules absorbantes et la préparation de la suspension.

Le choix de l'absorbant est fonction de la nature de l'antigène. **(Denis, C. 1967).**

III.6. Réaction d'hémagglutination passive

III.6.1.Principe :

Il consiste à absorber sur des globules rouges des protéines antigéniques des globules rouges ainsi sensibilisés sont mis en contact avec différentes dilution des sérums à tester.

Les anticorps réagissent avec les antigènes de surface et provoquent une hémagglutination. Pour certain auteurs, le test d'hémagglutination est considéré comme plus sensible que le test de fixation du complément **(Kagan, 1963). Mantovanni et Kagan (1963)** étudient, grâce à ce test, les sérums de chiens infestés ou non par *D.immitis*. Les sérums sont testés avec 12 fractions antigéniques de *D.immitis* :

- Les sérums des animaux sains ne donnent aucune sécrétion,
- Chez les animaux parasités, une seule des 12 fractions réagit avec les sérums, ce qui laisse à penser que la réaction est assez spécifique.

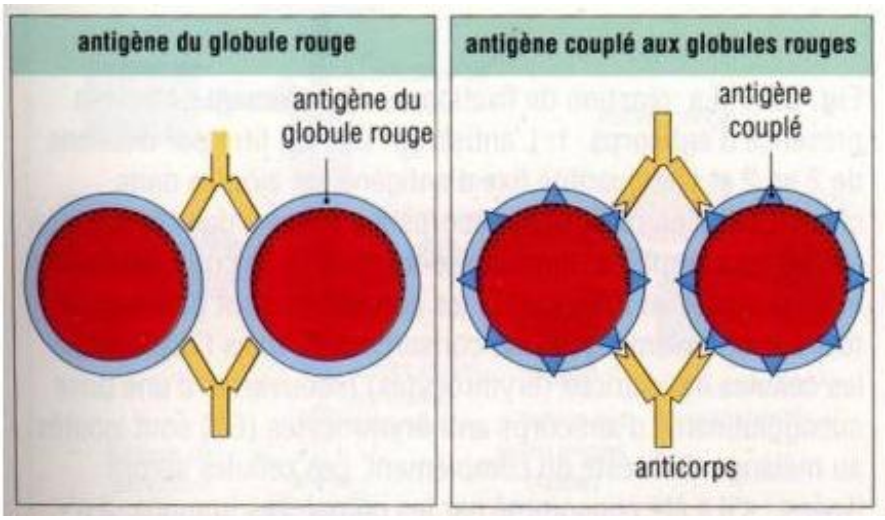


Figure 20 : Principe de test hemagglutination. **(Chanteau, S., 2003)**

III.7. Test d'agglutination au latex

III.7.1. Principe :

L'antigène est fixé directement sur les particules de latex. Ces particules sensibilisées sont ensuite mises en contact avec le sérum contenant les anticorps.

La lecture des résultats peut se faire immédiatement ou, mieux, après 2 à 3 mn de repos. On compare les agglutinations obtenues à celles des sérums témoins positifs et négatifs.les dilutions de sérums à examiner permettent un dosage quantitatif. La lecture des résultats est exprimée en intensité de la réaction :

- Agglutination en brique pilée + + +
- Agglutination en gros flacon + +
- Petits agglutinats +
- Quelques agglutinats dispersés ±
- Aucune agglutination (opalescence) 0.

Ce test ainsi pratiqué est spécifique et d'une sensibilité suffisante pour un diagnostic de dépistage. Toutefois, il est moins sensible surtout en dosage quantitatif, que la réaction de fixation du complément. **(Wytsman, R., 2003)**

III.8. Test d'agglutination à la bentonite

Ici, il s'agit des particules de bentonite qui sont sensibilisées avec du matériel filarien.

Healy et Kagan (1963) travaillant sur des chiens, provenant des zones endémiques (*D.reconditum*), obtiennent 100% de réaction positives. La méthode semble très sensible, mais manque peut être de spécificité. En **1963, Kagan, Norman et Allain** font appel à 6

fractions antigéniques de *D.immitis*, testées sur des sérums de chiens infestés expérimentalement. La méthode apparaît, ici aussi, assez sensible puisque 65 % de réactions positives sont observées. On note cependant des réactions croisées (36 %) avec l'ascaridiose.

III.9. Anaphylaxie cutanée passive (PCA)

Cette réaction est utilisée dans l'étude d'anticorps causant l'hypersensibilité immédiate.

Un anticorps ou anti sérum est injecté par la voie intradermique à un animal de laboratoire et contrôlé 24 heures après par injection intra veineuse de l'antigène spécifique et un colorant tel que le bleu Evans qui enveloppe de l'albumine. Le bleuissement de la peau au lieu d'injection indique que la perméabilité vasculaire a été altérée par la présence de l'albumine colorée. Au moins deux chercheurs ont utilisé l'anaphylaxie cutanée passive avec comme antigène des fractions de Dirofilaria adultes et des produits de sécrétion – excrétion de cultures des femelles de dirofilaria gravides.

Il n'y avait aucune corrélation entre la taille de la tache et le nombre de *Dirofilaria*. Ce système antigénique a eu des réactions croisées avec des parasites intestinaux. Un chercheur utilisant des produits de sécrétion – excrétion de *Dirofilaria* gravides a conclu que l'anaphylaxie cutanée passive était hautement sensible dans les infections occultes à médiation immunitaire mais que la sensibilité et la spécificité étaient limitées pour détecter d'autres infections. **(Maud, M. D., 1980).**

III.109. L'immunofluorescence indirecte (I F I)

L'immunofluorescence indirecte est un test sérologique qui permet la détection d'anticorps dans un sérum au moyen d'un frottis réalisé avec l'antigène correspondant. Elle fait intervenir un réactif supplémentaire : antiglobuline fluorescente qui sert d'indicateur "marquer" de la réaction anticorps – antigène.

Pratiquement, la réaction se fait en 3 temps :

- 1er temps : mise en contact antigène – anticorps,
- 2e temps : adjonction antiglobuline spécifique, marquée par un fluorochrome,
- 3e temps : lecture de la fluorescence.

Si le résultat est positif, une réaction antigène- anticorps se fait. Et l'anticorps fixé sera détecté par l'anticorps antiglobuline du chien marqué à la fluorescéine. Le test est hautement sensible.

Dans les infections expérimentales du chien, l'I.F.I est constamment négatif avant l'infection, durant la période prépatente et pendant la microfilanémie. Lorsque la microfilanémie décroît, une réaction positive apparaît résultante de la production des anticorps (I g G) qui entraînent l'élimination des microfilaires. Les résultats positifs sont détectés dans 85 à 95 % des cas cliniques antimicrofilarémique. Par conséquent un résultat positif est toujours approximativement juste mais il peut y avoir 10 à 15 % de résultats faussement négatifs chez un chien immunisé ayant des signes cliniques discrets. Les résultats faussement positifs pourraient apparaître chez un chien débarrassé récemment de ces vers adultes après une maladie occulte et chez qui le niveau d'anticorps n'a pas baissé. Contrairement à d'autres tests, l'I F I est à 100 % spécifique et

sensible au cours de la Dirofilariose car elle détecte les anticorps ciblant les antigènes cutilaires des microfilaires. La possibilité des réactions croisées avec *Dipetalonema reconditum* et les vers intestinaux a été étudiés mais non confirmée.

Les autres tests immunologiques détectent habituellement soit des antigènes, soit des anticorps ciblant les antigènes somatiques des microfilaires ou des filaires.

En dépit du haut degré de spécificité, le test I F I est limité dans son utilisation chez les chiens suspectés d'avoir la dirofilariose occulte. **(O'Connor, T.P, 2006)**

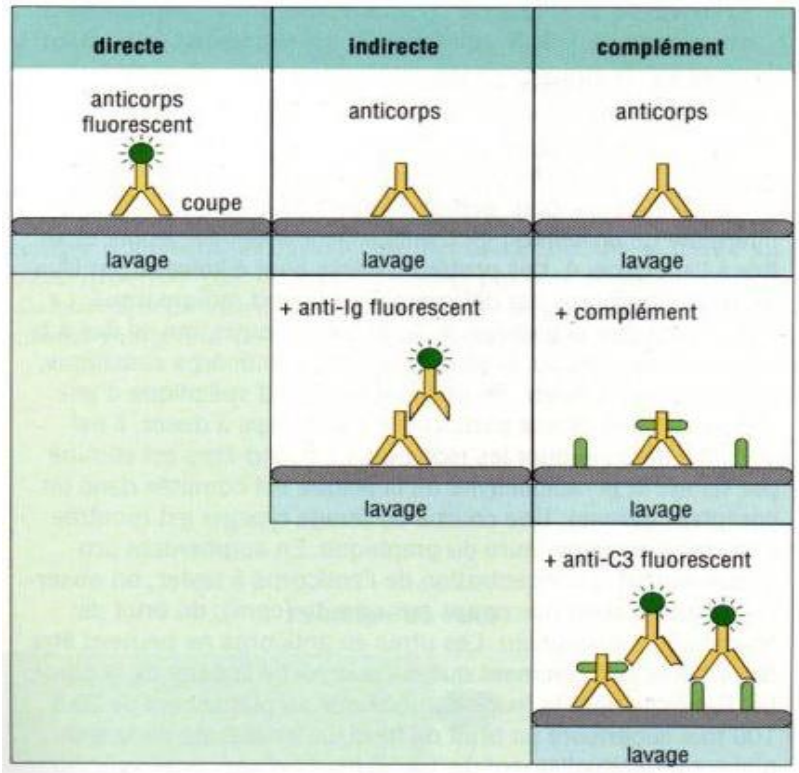


Figure 21: Principe de test immunofluorescence. **(Chanteau, S., 2003)**

III.11. Réaction d'immuno absorption d'enzyme (ELISA)

III.11.1. Principe

Il consiste dans la mise en évidence d'un complexe antigène – anticorps au moyen d'une antiglobuline spécifique " marquée " à l'aide d'une enzyme. Cette enzyme, en contact avec un substrat enzymatique approprié, provoque un changement de couleur qui peut être estimé visuellement, ou mieux, mesuré au spectrophotomètre.

Par le test ELISA, on recherche soit les anticorps, soit les antigènes circulants. Ainsi distingue-t-on deux types de test ELISA :

- Test anticorps –ELISA
- Test antigène –ELISA

III.11.2.Test de l'anticorps – ELISA (Acs – ELISA)

Ce test utilise soit des antigènes somatiques des adultes, soit des antigènes provenant des microfilaires et la spécificité du test est indiscutablement liée à la sélection d'antigène utilisé. Le test anticorps – ELISA recherchant les anticorps est moins spécifique que l'I F I et est enclin à donner des résultats faussement positifs.

L'utilisation des antigènes de parasites adultes permet la détection d'anticorps dès la 10^{e} semaine après l'infection expérimentale, avec une différence significative dés la 16^{e} semaine. Les titres d'anticorps restent généralement élevés pendant toute la durée de l'infestation avec une diminution fréquente entre le 6^{e} et 7^{e} mois. Il n'y a pas de corrélation avec le nombre de filaires adultes, ni le taux de microfilaires circulant. Quand les titres d'Acs – ELISA sont mesurés avant et après le traitement adulticide, les titres

devraient atteindre le pic à environ 4 semaines de traitement et décroître à des taux non décelables après environ 4 mois. La persistance des titres après le traitement indique la persistance des formes adultes. Avec l'utilisation des antigènes microfilariens, on observe que les titres d'anticorps augmentent et atteignent les pic 1 à 3 mois après les infestations expérimentales. Ces titres restent élevés pendant la durée de l'infestation. Par contre en I F I, les titres d'anticorps anti microfilariens ne sont pas décelables ni pendant la période prépatente, ni durant la microfilarémie. Le test Acs – ELISA est beaucoup moins spécifique que l'I.F.I. probablement parce que le test utilise les antigènes somatique. En outre, au cours des infestations tissulaires chroniques d'helminthe, il y a suppression de la réponse cellulaire aux antigènes parasitaires, alors que la réponse humorale à ces mêmes antigènes reste relativement élevée.

Les docteurs **John Mc Call et Don Gawe**, ont obtenu des résultats faussement positifs en pourcentages élevé avec des échantillons sanguins de chiens reconnus non infestés par les dirofilaria. Ces échantillons ont été prélevés sur des chiens de recherche, élevés dans un environnement infesté de moustiques. Certains n'ont connu aucune infestation, d'autres ont été infesté par *Dipetalonema reconditum* ou des vers intestinaux. Plusieurs types d'infestations produisent une réponse humorale croisée avec les Kits d'Acs – ELISA habituellement commercialisés. Des chiens sans dirofilaria adultes, traités à l'ivermectine et infesté par des larves infestantes donnent aussi des faux titres positifs. Ces titres sont probablement dus aux stades larvaires avant l'arrêt de leur développement par l'agent préventif Ivermectine. Par conséquent le test Acs – ELISA ne devrait pas être utilisé sur des chiens sous traitement d'Ivermectine d'après **Mc Call**. En bref, plusieurs

études ont montré que les tests Acs – ELISA ne sont pas spécifiques et que des réactions croisées peuvent apparaître avec d'autres réponses immunitaires.

III.11.3.Test de l'antigène – ELISA (Ag – ELISA)

Bien que similaire à l'anticorps – ELISA, l'antigène-Elisa utilise un anticorps pour détecter la présence d'antigène de surface circulant des Dirofilaria adultes.

L'anticorps utilisé est un Ac monoclonal. C'est une technique introduite en (1985). Des nombreux travaux réalisés ont montré que l'Ag – ELISA semble plus prometteur que l'Ac – ELISA. Cependant d'après les travaux de **Mac Call** et collaborateurs cités par **Rawling**, il existe encore de faibles réactions croisées avec *Dipetalonéma reconditum, Toxocara canis, Ankylostoma caninum* et *uncinaria.*

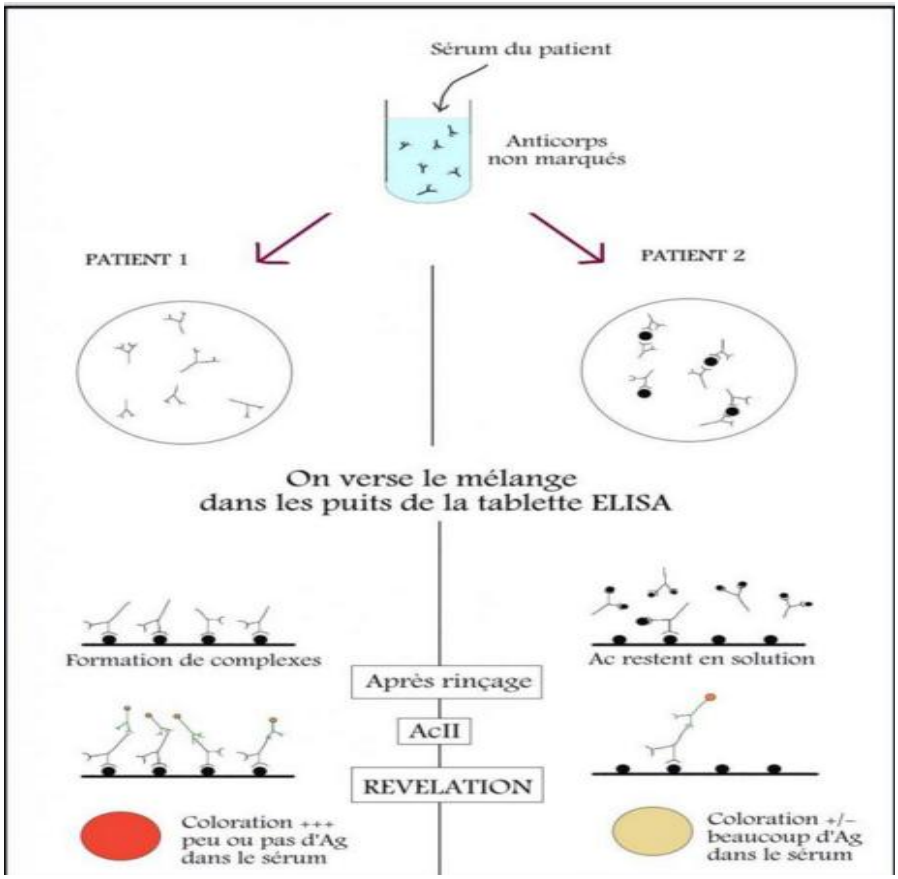


Figure 22: Principe de test ELISA. **(Chanteau, S., 2003)**

MATERIEL ET METHODES

I.DUREE DE L'ETUDE :

L'étude a été menée sur une durée de cinq années (de 2010 au 2015).

II. DESCRIPTION DE LA ZONE D'ETUDE : LA WILAYA DE TIARET

II.1.Caractéristiques de la wilaya de Tiaret :

Située à l'ouest du pays, la wilaya de Tiaret se présente comme une zone de contact entre le Tell au nord et les hautes plaines au sud. Le territoire de la wilaya est constitué de zones montagneuses au nord, et les hautes plaines au centre au sud la variation des reliefs et le caractère hétérogène de l'espace, induit une variété des paysages agricoles et autres espaces naturels. **(Benkhettou, A., 2015)**

Cette région s'étend sur un espace délimité entre 0°.34' à 2°.5' de longitude est et 34°.05' à 35°.30' de latitude nord. Elle couvre une partie de l'atlas Tellien au nord, et les hauts plateaux au centre et au sud, couvre une superficie de 20399,10 km^2. Elle est délimitée au nord par les wilayas de Mostaganem, de Chlef et de Tissemsilt, à l'ouest par les Wilayas de Mascara et de Saïda, à l'est par la wilaya de Djelfa, au sud et au sud-est par les wilayas de Laghouat et d'El Bayadh. **(Benkhettou, A., 2015)**

La région de Tiaret est caractérisée par un relief varie et une altitude comprise entre 800-1200 m. Leur superficie est répartie comme suite :

- Superficie agricole utile « SAU » : 684851 Ha.
- Forêts : 141842 Ha.

- Terres incultes : 10000 Ha.
- Steppe et alfa : 199.217 Ha.
- Les hautes plaines au centre des espaces semi-arides au sud, ceci démontre la variation des paysages agricoles et la variation des reliefs. **(Benkhettou, A, 2015)**

Figure 23 : carte de la situation géographique de la zone d'étude (Tiaret)

(Source : conservation des forêts de la wilaya de Tiaret, 2010).

II.2.Caractéristiques climatologiques

II.2.1-Aperçu climatologique

Le climat par définition est l'ensemble des éléments qui caractérisent l'état moyen de l'atmosphère dans une région donnée **(Miara, 2011).** Pour assurer une bonne représentation climatique de la zone d'étude, on recommande de rechercher les données du régime des phénomènes météorologique (pluies, température, vent, neige et gelée).

II.2.2-La température

L'importance de la température réside qu'elle est considérée comme l'un des éléments fondamentaux du climat, affectant directement les processus biologiques et chimiques dans la biosphère et l'activité humaine en général. (**Zerrouki, 2012)**

Tableau 4 : Les températures moyennes de la wilaya de Tiaret de 2009 à 2015. (Source : www.TuTiempo.com, 2015).

Température moyenne en ° C												
	Janv	Févr	Mars	Avril	Mai	Juin	Juill.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.
2009	5.5	6	9.9	9.4	17.9	23.9	28.7	26.2	19.2	16.3	11.7	8.9
2010	7.1	8.7	10.2	13.1	15	20.8	28.4	26.6	21.4	15.5	10.1	8.1
2011	6.6	5.7	9.3	14.5	17.4	22.1	26.2	26.2	22.7	15.9	10.3	6.2
2012	4.9	2.4	9.5	10.5	17.8	25.5	27.8	28.4	21.8	16.8	11.4	7.4
2013	6.2	5.1	9.4	9.6	13.8	20.2	25.5	25.6	21.3	11.2	8.6	6.2
2014	7.2	8	8.5	14.4	17.9	22	25.2	26.9	23.2	17.6	12	6.1
2015	5.2	4.7	9.3	15.6								

D'après le tableau N04, nous remarquons que les températures moyennes atteintes les basses valeurs en **Janvier, Février** et surtout en **Décembre,** et elles atteignent les valeurs les plus élevées en fin **Mai**, **Juin**, **Juillet** et surtout en **Août** Les mois les plus froids sont (**Décembre, Janvier, Février**), c'est la saison d'hivers. Les mois les plus chauds sont (**Juin, Juillet, Août, Septembre**), c'est l'été et le début d'automne.

2.3-L'humidité : C'est l'un des éléments les plus importants pour caractériser le type de climat.

Tableau 05 : l'humidité moyenne de la wilaya de Tiaret de 2009 à 2015 (Source : www.TuTiempo.com, 2015)

Humidité moyenne												
	Janv.	Fév.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Déc
2009	87.5	76.8	74.6	75.9	55.8	46.5	30.8	43	65.6	66.8	67.6	77.6
2010	83.6	76.9	75.5	68.2	63.5	48.1	33.6	41.2	51.4	60.5	81.4	70.7
2011	75.4	78.8	67.8	61.8	60.3	48	42.8	34.1	47.2	58.5	73.8	82.8
2012	73.8	76.5	69	74.2	53.2	40.4	30.4	27.4	46.9	62.2	79.9	82.8
2013	80.2	76.4	75.9	72.9	73.5	35	37	68	64	46.6	75.9	79.3
2014	80.4	76.5	76.3	57.3	52.9	46.1	38.4	33.6	49.4	57.3	75.4	84.2
2015	74.7	85.2	71.4	55.6								

Suivant le tableau N05, l'humidité relative moyenne atteint son minimum durant la fin du mois de Juin, Juillet et Août avec une moyenne qui est inférieur à 50% ; le maximum est dans le mois de Décembre, Janvier et Février avec une moyenne supérieur à 76 %.

2.4-Pluviométrie :

L'étude de facteur pluviométrique, sa répartition sur toute l'année et son intensité est très importante puisqu'il représente un facteur abiotique d'importance significative sur l'évolution et la répartition des espèces dans le milieu naturel (**Serbah B., 2011).**

Tableau 06 : La pluviométrie moyenne enregistrée dans la wilaya de Tiaret durant la période (2009 -2015) (Source :www.TuTiempo.com, 2015).

Pluviométrie moyenne												
	Janv.	Févr.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juill.	Aout	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.
2009	99.05	29.73	78.73	80.26	22.1	6.86	1.02	5.08	81.28	22.6	26.16	89.67
2010	52.34	136.13	67.56	13.71	41.66	5.84	0	35.05	7.1	38.6	46.75	28.19
2011	40.88	47.74	28.44	41.39	42.16	31.49	1.78	2.03	0	37.08	76.0	6.61
2012	12.9	36.07	39.37	107.2	15.24	1.02	0.51	5.08	12.19	49.52	98.79	19.56
2013	89.92	61.46	94.75	97.04	19.81	0	0	0	0	0	208.29	60.45
2014	60.7	57.14	98.3	4.31	7.87	9.17	0	2.79	109.99	33.02	56.13	62.48
2015	25.4	81.01	11.17	0.51								

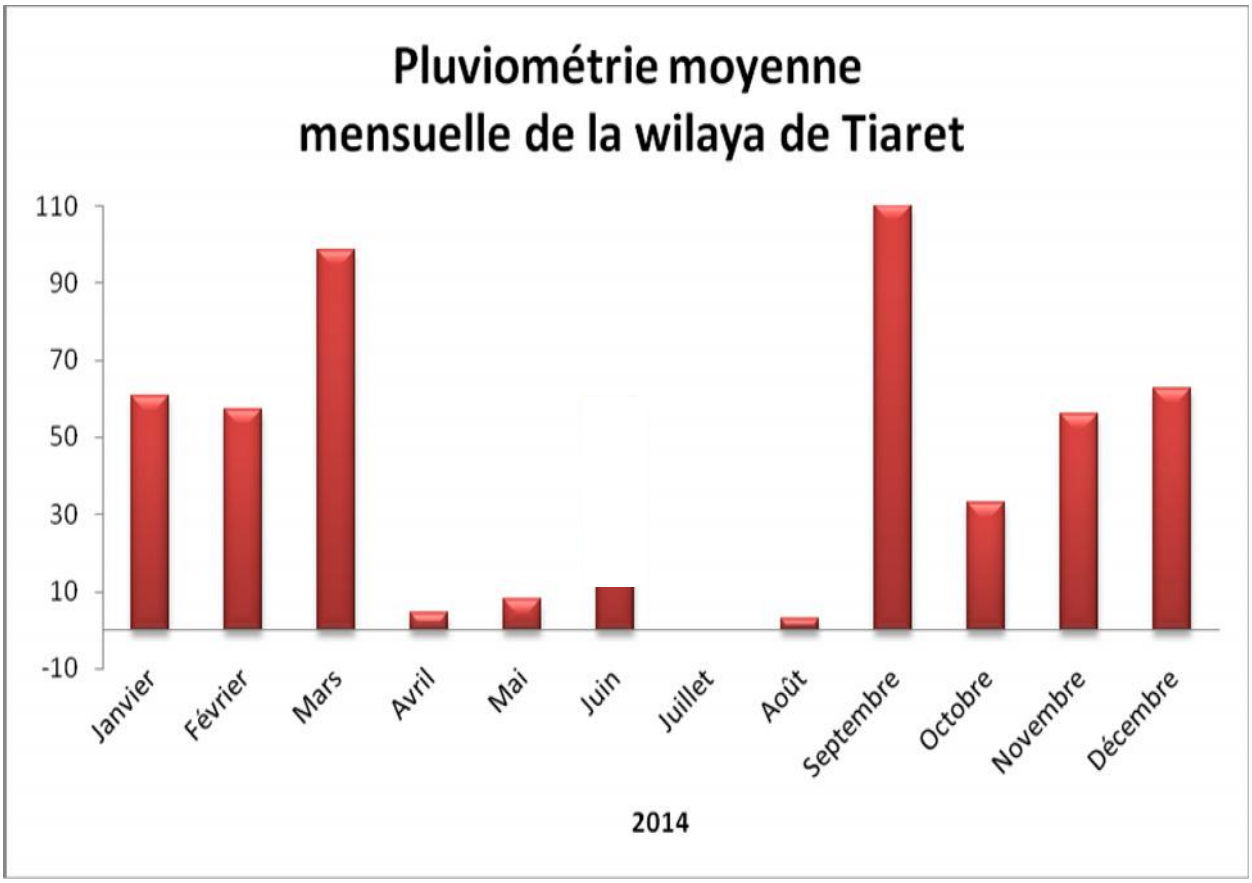


Figure 24 : Pluviométrie moyenne mensuelle de la wilaya de Tiaret année « 2014 »

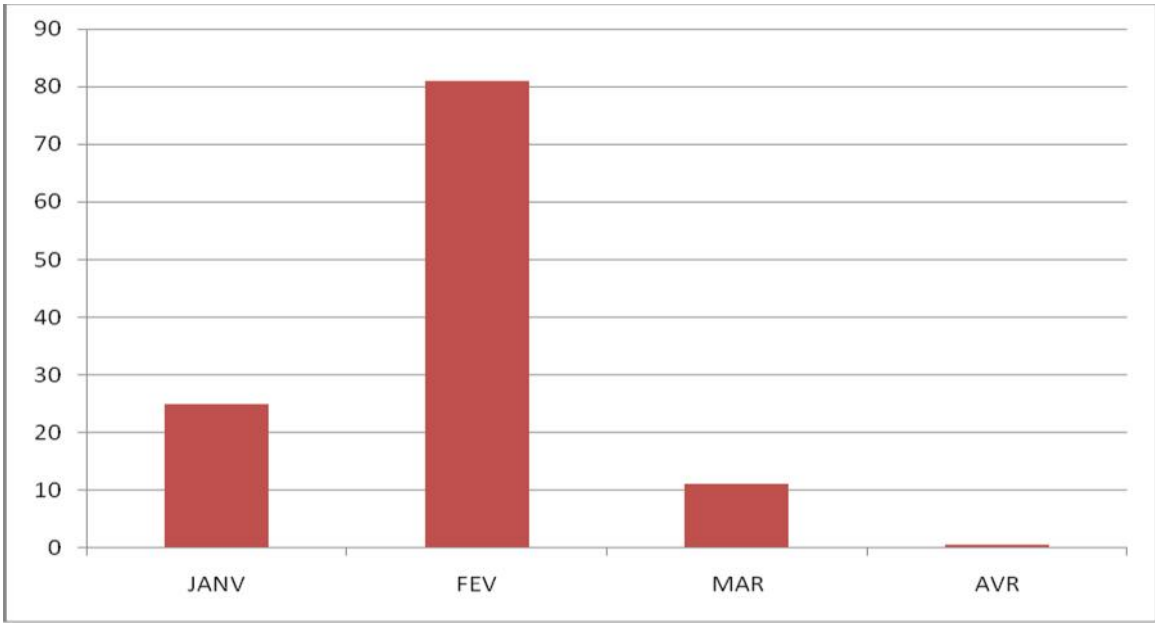


Figure 25 : Pluviométrie moyenne mensuelle de la wilaya de Tiaret année « 2015 »

Selon l'histogramme (Figure 24) qui représente la pluviométrie moyenne de l'année « 2014 », on remarque que les mois les plus pluvieux sont : Janvier, Mars, Septembre et Décembre avec respectivement 60.7 ; 98.3 ; 109.99 et 62.48mm. Le mois de Septembre est le plus pluvieux avec une moyenne de 109.99mm .Par contre dans la (fig.25), qui représente la pluviométrie moyenne de 2015 pendant une période de 4 mois, on remarque que les mois les plus pluvieux de l'année sont : Janvier, Février avec respectivement 25.4 ; 81.01mm; le mois le plus pluvieux est Février avec une moyenne de 81,01mm.

D'après les deux représentations graphiques on constate que l'année 2015 est une année moins pluvieuse par rapport à l'année précédente, dont on a enregistré une moyenne de 109.99mm du mois le plus pluvieux « Septembre », par rapport a cette année ou la moyenne du mois le plus pluvieux est enregistrée en mois de « Février » avec 81.01mm.

2.5-Le vent :

Le vent possède un régime de déplacement variable en fonction de l'altitude, la pression atmosphérique et les saisons. C'est un facteur climatique qui entraine des variations de température et d'humidité, et exercent une action mécanique et physiologique sur les arbres des forêts. Les vents dominants sont ceux d'une direction NORD OUEST, les vents de direction SUD-EST et EST sont les moins fréquents.

Tableau 07 : La vitesse moyenne mensuelle du vent enregistrée dans la wilaya de Tiaret durant la période (2010-2015) (Source : www.TuTiempo.com, 2015).

Vitesse moyenne du vent												
	Janv.	Fév.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.
2010	**24.9**	**23.8**	**16**	11.8	13.5	12.9	8.3	8.1	9.8	13.3	17.2	**18.2**
2011	7.11	9.15	13.6	11.1	10.8	9.3	12.5	11.7	10.4	9.8	**15.8**	**12.2**
2012	6.11	5.14	12.8	20.2	9.7	11.9	12.7	10.8	11.7	**17.3**	**16.6**	**14.1**
2013	**24.1**	**26.6**	**21.4**	14.8	14.4	**18**	9.8	14.6	11.3	12.1	**14.6**	**12.8**
2014	**20.5**	**21.9**	**19.4**	**15**	11.5	13.3	11.3	11.5	12.8	11.9	**19.7**	**16.8**
2015	**16.6**	13.5	13.3	12.8								

2.6-Le siroco :

C'est un vent très chaud et très sec soufflant du sud au nord souvent associé à des particules des sables et de terres et, fréquemment durant la période estivale. C'est durant cette période sèche, qu'il cause plus de dégâts aux sols déjà déshydratés par l'effet de la chaleur estivale. Les mois pendant les quels, il se manifeste sont très variables durant l'année. On enregistre 14 jours /an. Il faut remarquer que le siroco commence à souffler

en moyenne de 0,9 à 1,9 jours dès le début de mois d'avril, au moment où la végétation et en pleine croissance, ce qui cause des dommages aux jeunes plantes.

Le siroco peut souffler à n'importe quel moment de l'année sauf aux mois de Janvier et de décembre. Les maximums sont observés aux mois de Juillet avec 3.6 jours en moyenne et 2.8jours au mois d'août.

2.7-Gelée et chutes de grêle :

Les chutes des grêles sont peu fréquentes et irrégulières. Elles se manifestent généralement en hivers.

La période gélive débute le mois de Décembre et s'étend jusqu'au mois d'Avril. On a enregistré la chute de neige au mois de Décembre, Janvier et Février (Tableau 8).

Tableau 08: Autres paramètres climatique « Neige et Grêles » enregistrées dans la wilaya de Tiaret de l'année courante. (Source:www.Tutiempo.com –2015).

Mois	Nov.	Déc.	Janv.	Fév.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juill.	Aout	Sep.	Oct.
Chute de neige	0	**1**	**2**	**7**	0	0	-	-	-	-	-	-

2.8. Le climagramme d'EMBERGER-SAUVAGE :

Les données récoltées permettent de situer un poste donné dans son contexte régional, national, voire même international. Le Climagramme d'Emberger, mis au point pour la grande région méditerranéenne, permet de représenter chaque poste par un point. Louis Emberger a ainsi défini, au vu de la répartition des groupements végétaux, des bioclimats

méditerranéens allant du Saharien à l'Humide. On l'utilise pour établir l'étage bioclimatique de la région d'étude

En ordonnée : quotient pluviothermique **Q2=2000p / (Me^2-mh^2).**

Me=moyenne des maxima du mois le plus chaud.

Me et mh en ° Kelvin (=°c+273).

P= pluviométrie moyenne annuelle en mm.

Mh= moyenne des minima du mois le plus froid.

En abscisse la moyenne des minima du mois le plus froid (**mh** en °c). **(PANINI T. AMANDIER L.G., 1999).**

Q2 = 97,04

Mh = 5.9

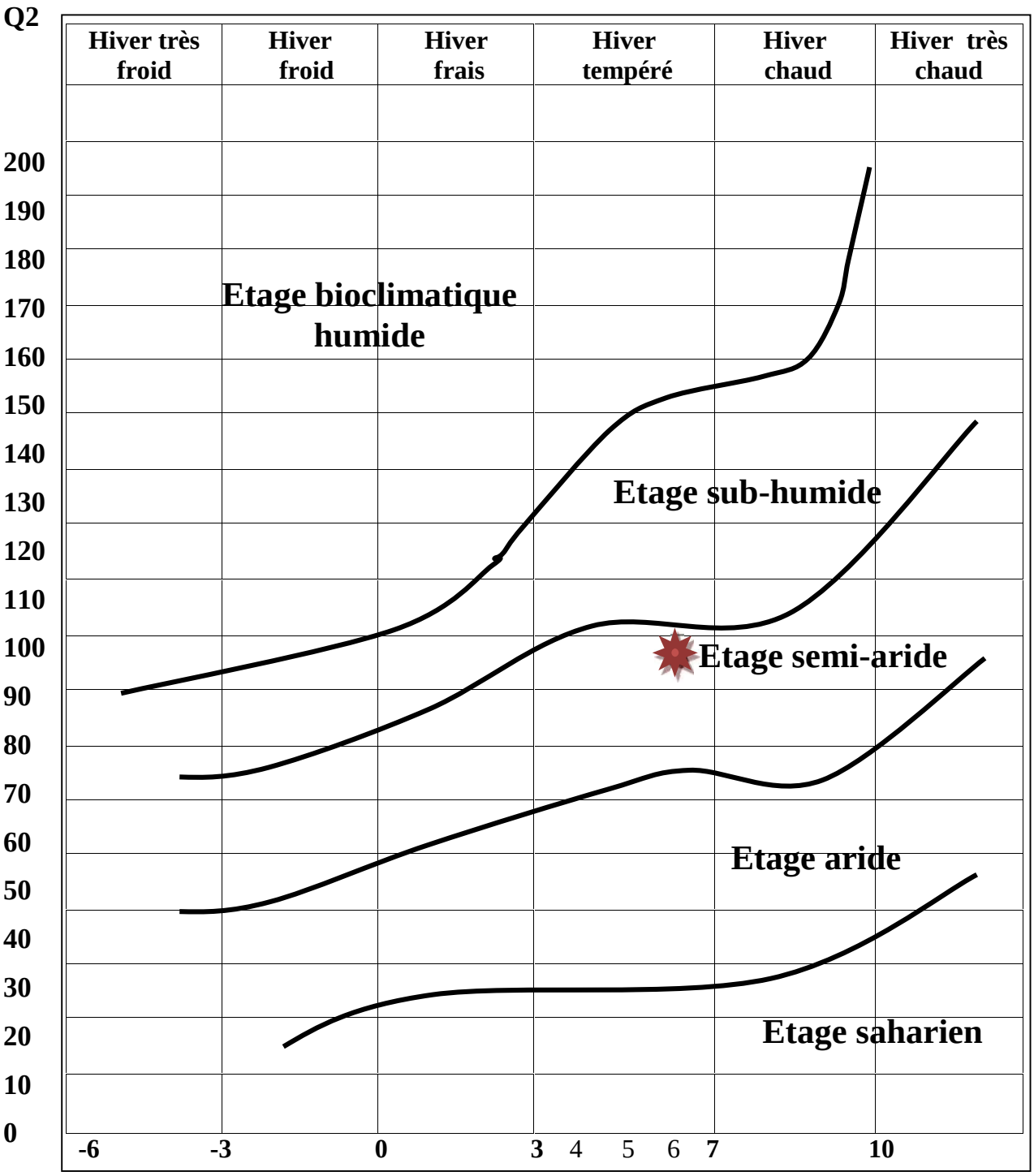


Figure 26 : Climagramme d'EMBERGER de la région de TIARET

III. MATERIEL

III.1 EFFECTIF CANIN

Les chiens réceptionnés au niveau de la clinique canine de l'Institut vétérinaire (l'université de Tiaret), proviennent de différentes régions de la wilaya de Tiaret. Durant la période de notre étude allant de 2000 à 2015, **1300** chiens ont été prélevés, de différents âges, races et sexes. Une fiche de renseignement a été établie pour chaque chien étudié.

IV.METHODOLOGIE

Pour mettre en évidence le parasite, notre démarche méthodologique est la suivante :

IV.1.EXAMEN CLINIQUE (Papite K., 2014 ; Hernandez J., 2011 ; et Moraillon R., 1990)

Lors des consultations, l'ensemble des commémoratifs concernant les animaux sont enregistrés (race, âge, sexe, localisation, mode de vie, signes généraux, modifications comportementales, modifications de l'appétit, vomissements, etc…). Par la suite, un examen clinique détaillé est réalisé.

A. La prise de température

C'est le premier paramètre à mettre en évidence avant d'entreprendre toute initiative lors de la consultation. En effet chez le chien, l'hyperthermie est un symptôme qu'on observe dans un très grand nombre de maladie. Si en général les causes de la fièvre sont faciles à

identifier, il y a des cas plus rares et plus complexes d'hyperthermie difficiles à diagnostiquer.

La température normale du chien est généralement comprise entre 38 et 39° C et lors d'une infestation à dirofilariose ou complication, la température corporelle de l'animal peut atteindre 40 voir 41°C. Après avoir stérilisé avec un tampon alcoolisé le bout du thermomètre électronique, on prélève la température de l'animal au niveau de rectum.

B.L'auscultation

C'est la partie de l'examen clinique qui consiste à écouter à l'aide d'un stéthoscope, ou simplement à l'oreille, divers bruits produits par les organes de l'animal, notamment ceux produits par le cœur, les poumons, les intestins etc.

Au niveau du cœur on cherche à déterminer le rythme cardiaque (Tachycardie, ou bradycardie) et aussi des souffles cardiaques.

Sur les intestins on peut mettre en évidence les bruits du transit (borborygme, ou atonie). Au niveau des poumons, on peut détecter des frottements pleuraux etc.

C. Examen des muqueuses

Des examens pointilleux au niveau des muqueuses oculaires, buccales, anales et vulvaires (cas des femelles), ont été réalisés afin d'en tirer plus de précision concernant notre diagnostic. Ceux-ci nous permettent d'avoir des renseignements sur :

Un état d'anémie si les muqueuses sont pâles ou décolorées.

Dans le contexte de la dirofilariose cela s'explique par le dysfonctionnement cardiaque, due à la présence des parasites dans le sang.

Les ulcérations des muqueuses, s'il y a présence de kératites et stomatites ulcéreuses.

Un état de congestion, si les muqueuses sont rouges.

D. Palpation abdominale

Cette palpation a pour principal objectif de rechercher des signes de douleurs abdominales (l'animal se plaint ou réagit, se contracte), mais aussi la présence éventuelle d'une masse intra-abdominale, d'un organe de taille anormale (rein hypertrophié, par exemple). Dans le cas de la dirofilariose, la palpation abdominale nous permet de vérifier l'aspect de la rate. En effet la splénomégalie est un signe clinique constant et très précoce dans cette pathologie.

IV.2.EXAMENS COMPLEMENTAIRES

IV.2.1.LA FORMULE DE NUMERATION SANGUINE = FNS :

La Numération sanguine consiste à compter le nombre des éléments figurés du sang (Globules). Le résultat s'exprime en éléments par mm3 (millimètre cube). La Formule sanguine donne la proportion de chacun des types de globules blancs (Polynucléaires neutrophiles, Polynucléaires éosinophiles, Polynucléaires basophiles, Lymphocytes (Petits + Grands), et les Monocytes (Tableau 9).

Tableau 09: Caractéristiques des éléments figurés dans le sang **(Lecointe, D., 2000).**

Eléments figurés du sang	Description
Polynucléaire Neutrophile	o Taille: 12-14 µ arrondi. o Noyau: Polylobé 2-6 lobes (2-3 les plus nombreux) o Cytoplasme: clair acidophile o Granulations: neutrophiles violettes régulières très fines et nombreuses
Polynucléaire Eosinophile	o Taille: 12-14µ arrondi. o Noyau: 2-3 lobes o Cytoplasme: clair, acidophile presque pas visible recouvert par les granulations o Granulations: acidophiles, roses, rondes, nombreuses
Polynucléaire Basophile	o Taille: 11-13 µ arrondi o Noyau: 2-4 lobes denses o Cytoplasme: acidophile clair o Granulations: très nombreuses pouvant recouvrir le noyau anguleuses bleu-violet foncé.
Lymphocytes	o Taille: 10-15 µ Arrondi déformable (les bords épousent la forme des cellules mitoyennes). o Noyau: rond ovale ou en drapeau o Cytoplasme:bleu très clair o Granulations: quelques rares granulations azurophiles en paquet
Monocyte	o Taille: 18-21 µ arrondi très déformable o Noyau: rond ou encoché o Cytoplasme: basophile clair o Granulations: très fines et très nombreuses azurophiles

Les FNS sont habituellement effectuées par des automates de laboratoire, mais l'étude fine des Formules sanguines se fait au microscope après coloration au May- Gründwald - Giemsa (M.G.G.).

Pour la numération on utilise surtout la cellule de Malassez. Nous comptons quatre carrés de la cellule au fort grossissement. Ces carrés contiennent chacun seize (16) petits carrés que nous comptons en zigzag nous additionnons les leucocytes des petits carrés.

Pour le calcul (nombre de leucocytes par litre) nous multiplions le nombre de cellules dans quatre carrés par 50.10.

IV.3.EXAMENS PARASITOLOGIQUES DE CONFIRMATION

Les méthodes utilisées sont la coloration au **M.G.G.** des frottis sanguins, la Méthode de **knott** modifiée et le test **"Witness *dirofilaria*".**

IV.3.1.Prélèvements du sang :

- les chiens réceptionnés au niveau de l'institut : prise de sang et éventuellement autopsie des chiens morts et /ou euthanasiés.

- les chiens réceptionnés dans les cabinets vétérinaires et les fermes : prise de sang (tube sec et tubes avec anticoagulant). Les prélèvements ont été orientés vers le laboratoire pour y être analysés.

Le prélèvement de sang effectué au niveau de la veine céphalique de l'avant bras du chien et recueilli dans (2) tubes stériles (tube sec et tube avec E.D.T.A.).

Le prélèvement sanguin est un acte très délicat qui, nécessite une attention particulière lors de sa réalisation qui souvent s'effectue en présence du propriétaire de l'animal. Il doit être initié après que l'animal est été bien contentionné. Pour notre étude, le prélèvement a été opéré sur deux sites différents :

-Sur la patte antérieure de l'animal, au niveau de la veine saphène latérale pour la réalisation de l'hématocrite. Ce prélèvement nécessite une bonne compression manuelle

du membre en amont du lieu de ponction. A l'aide d'une aiguille Venoject montée sur un porte-aiguille, le sang est recueilli dans un tube avec E.D.T.A.

-Un prélèvement au niveau de la face interne du pavillon de l'oreille, destiné à la réalisation du frottis sanguin. On prélève la première goutte de sang recueillie après scarification ou ponction des capillaires du pavillon auriculaire. Cette ponction est réalisée avec un Vaccinostyle et la goutte obtenue est directement déposée sur la lame.

IV.3.2- Les techniques parasitologiques :

1- Sur le sang avec anticoagulant destiné à :

- La Recherche des microfilaires après coloration au May Grunwald Giemsa selon la méthode de **Bellier S. (2010)**

-La Recherche des microfilaires à l'examen direct après centrifugation selon la méthode de **Ciocan R. (2010).**

- La Recherche des microfilaires avec coloration au bleu de méthylène selon la méthode de **Marion E. (1981).**

2- Sur le sérum destiné à la sérologie de la dirofilariose (kit witness dirofilaria)

IV.3.2.1.Préparation du frottis

Le frottis peut se pratiquer sur lame ou sur lamelle.

- Déposer une goutte de sang de taille moyenne à 1.5 cm du bord droit d'une lame dégraissée,
- Étaler par capillarité la goutte au contact de l'arête d'une deuxième lame rodée tenue à 45 degrés,
- Pousser rapidement la deuxième lame vers la gauche de la première lame en entraînant le sang qui s'étale en une couche mono cellulaire (Frottis).
- Si la goutte de sang est de taille convenable, le frottis doit se terminer à 1 cm environ du bord gauche de la lame.
- Variante: on peut remplacer la deuxième lame par une lamelle couvre objet.
- Le frottis est séché rapidement à l'air à l'abri des poussières.

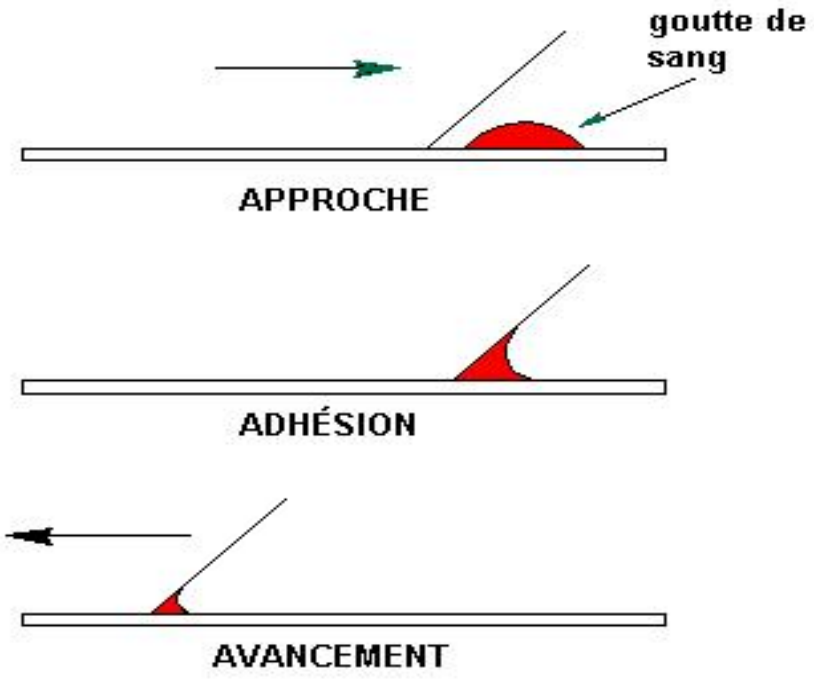


Figure 27 : Réalisation d'un frottis sanguin **(Drieu, 2009)**

IV.3.2.2.Coloration du frottis au May Grunwald Giemsa (M.G.G.)

-Déposer 10 à 15 gouttes de May-Grünwald sur le frottis et couvrir pour éviter l'évaporation.

- Attendre Pendant 3 mn.

-Déposer ensuite 10 à 15 gouttes d'eau tamponnée et mélanger par rotation de la lame durant 1 mn

-Égoutter

-Recouvrir de Giemsa dilué durant 15 mn.

-Égoutter

-Laver à l'eau neutre.

-Sécher au papier Joseph.

Conservation des frottis.

Les frottis après examen à l'immersion sont couverts d'huile qui a tendance d'abord à ramasser poussières et fibres puis à sécher. De ce fait un ré-examen ultérieur de la lame est rendu difficile. Son nettoyage au xylène n'est pas satisfaisant. Une bonne habitude consiste à déposer une grosse goutte d'huile de cèdre sur le frottis et de poser par dessus une ou deux grosses lamelles contiguës. Au bout de quelques jours le frottis est transformé en préparation permanente qui se conserve indéfiniment. La présence de lamelle malgré son épaisseur ne nuit pas la mise au point lors d'un futur examen à l'immersion.

IV.3.2.3. Witness *dirofilaria*: **(Alho A.M., 2014; Watier-Grillot S., 2011; Schnyder M., 2012; et Vezzani D., 2008).**

A-Principe du test :

Le test witness *dirofilaria* est un test de réalisation simple, basée sur une immuno-migration rapide. L'échantillon à tester contenant les anticorps anti-*dirofilaria* (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 sur anticoagulant (citrate ou héparine)

B-Réalisation du test

1- Préparation de l'échantillon :

- La plaquette test (1) est retirée de son étui, 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 puits échantillon. (Figure 28)

2 - 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 est répartie dans le puit échantillon.

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.

3 – 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) (Figure 30).

4 - 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 – *Dirofilaria*.**

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

- Il est possible de conclure la lecture du test avant 10mn si deux bandes de couleur rose (correspond respectivement a la bande test (2) et a la bande témoin (3) sont nettement apparues

- L'absence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (3) rend le test invalide.

	Figure 28 : Dépôt de l'échantillon pour le test Witness dirofilaria
	Figure 29 : Dépôt de la solution tampon
	Figure 30 : Résultat négatif (présence d'une seule bande au niveau du repère n° 3)
	Figure 31 : Résultat positif (présence de deux bandes au niveau des repères 2 et 3)

IV.3.2.4. Méthode de Knott modifiée

Cette méthode repose sur l'examen d'une plus grande quantité de sang après hémolyse et concentration, et donc permet une meilleure mise en évidence des parasites. La recherche des microfilaires se fait sur 1 ml de sang prélevé sur anticoagulant. A cela, 9 ml d'une solution hémolysante (acide acétique à 2%) sont ajoutés. Cette préparation est ensuite centrifugée 5 minutes à raison de 3000 tours par minute. Le surnageant est éliminé, tandis que le culot, contenant les éventuelles microfilaires est coloré au bleu de méthylène. Il faut veiller à décoller les parasites ayant adhéré à la paroi du tube. La lame est ensuite examinée au microscope, diaphragme fermé. Cette méthode est considérée comme la méthode de référence pour la recherche des microfilaires. L'examen de tout le culot permet de réaliser une numération des parasites. Mais il faut pour cela faire plusieurs préparations. 93,75% des chiens micro-filarèmiques sont ainsi détectés. **(Savić S., 2009)**

IV.4. AUTOPSIE DES CHIENS MORTS OU EUTHANASIES (Pajković, D., 2010; Jourde L., 2002).

Dans notre étude on s'est intéressé à l'appareil cardio-respiratoire, et surtout le cœur droit.

C'est souvent le vétérinaire ou la clinique qui aura intérêt à mieux connaître les modifications pathologiques macroscopiques ou histo-pathologiques de la maladie ayant entraîné la mort, voire d'une pathologie annexe. Dans ces cas, le vétérinaire devra demander l'autorisation aux propriétaires de l'animal. L'autopsie lui permettra éventuellement de confirmer son diagnostic anté-mortem, ou d'observer les lésions associées à la pathologie diagnostiquée ou de mieux comprendre la cause de décès. Après

l'autopsie, le corps sera de préférence incinéré, de la même manière que sans autopsie. L'autopsie peut donc s'avérer très intéressante et utile si on est conscient de ses limites.

Les organes cibles seront observés afin d'y rechercher les filaires adultes. Le cœur, et les poumons sont extraits. Une incision longitudinale le long du ventricule gauche et de l'artère pulmonaire est réalisée et la recherche des adultes ***Dirofilaria*** est effectuée. Une aspiration du contenu des artères et veines est réalisée pour la recherche des microfilaires de *Dirofilaria*.

IV.5. PIEGEAGES DE MOUSTIQUES

Il a pour but de récolter les moustiques pour identifier les espèces impliquées dans la transmission du parasite puis dissection des moustiques pour rechercher les microfilaires.

Les piégeages (pièges adhésifs ; papiers imbibées de huile de ricin, et pièges lumineux) ont été réalisées chaque année dans les mêmes régions pour étudier l'effet de la saison sur les moustiques. Afin de disposer d'un matériel représentatif, différentes méthodes d'échantillonnage ont été employées. Nous avons utilisé d'une part une technique ne fournissant que des exemplaires morts. Cette méthode rentable, peu sélective nécessite la mise en œuvre de pièges adhésifs. D'autres techniques offrent la possibilité de travailler sur du matériel vivant.

IV.5.1.Pièges adhésifs

Connue depuis les importants travaux des épidémiologistes russes **Vlazov, (1932)** et **Petrscheva, (1935) (*in* Croset et *al.*, 1974)**, la technique des pièges adhésifs est sans doute la mieux adaptée à l'inventaire qualitatif et quantitatif des moustiques en région méditerranéenne. Les pièges sont constitués de feuilles de papier blanc mat de format A4 (Figure 32) largement imbibées d'huile de ricin qui présente les avantages de ne pas être

répulsive, d'être très visqueuse et enfin d'être soluble dans l'alcool ce qui facilite la récupération ultérieure des insectes. Les feuilles de papier dont la transparence indique une bonne imprégnation huileuse sont placées dans différents biotopes (fissures des murs, terriers, végétations…) pouvant servir de gîtes de repos et de lieux de ponte aux moustiques. La durée de piégeage dépend de l'objectif de l'étude et des conditions climatiques (vent, pluies..). Généralement une nuit, (de 18h à 08h), est suffisante pour estimer la densité en nombre de spécimens par nuit et par unité de surface, au-delà d'une nuit, les pièges deviennent sales et les moustiques commencent à se décoller à cause de la poussière surtout durant la période d'été.

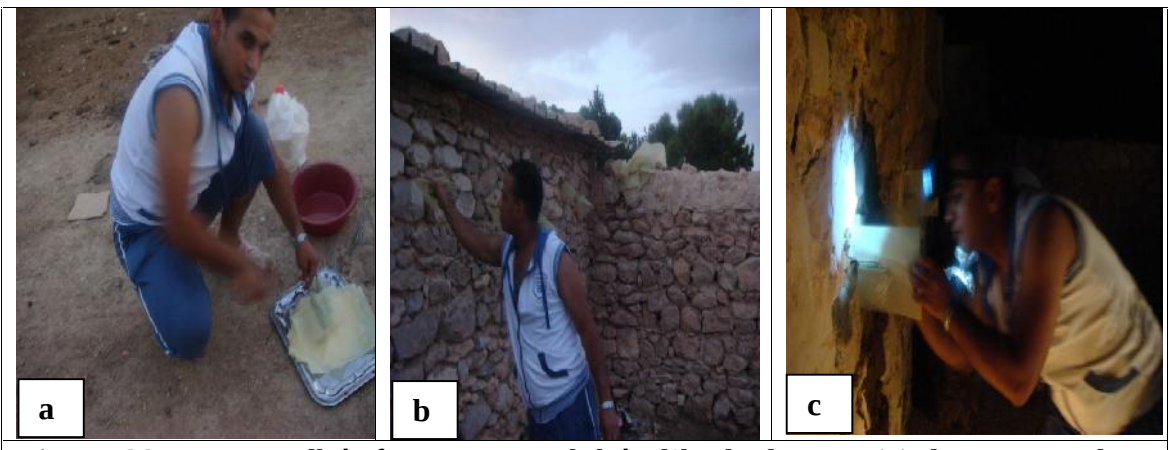


Figure 32 : pieges adhésifs : papiers imbibés d'huile de ricin **(a),** la mise en place des pieges avant le coucher de soleil **(b)**, la mise en place des pieges aprés le coucher de soleil **(c)** (Ammam A., 2013).

IV.5.2.Les pièges lumineux C.D.C.:

Presque tous les moustiques ont un phototactisme positif. Cette propriété rend possible l'échantillonnage des populations de moustiques pendant la nuit. L'utilisation de pièges lumineux permet d'obtenir des données sur l'abondance des moustiques et leur composition spécifique dans une localité donnée. Dans notre étude nous avons utilisé le piège lumineux C.D.C. (Center for Disease Control) ; Simple piège permet la capture d'un nombre important de moustiques par rapport aux autres insectes et souvent plus de

femelles que de mâles avec un double objectif : échantillonnage de la faune culicidienne, étude des préférences trophiques des espèces de moustiques. Le piège est formé d'une cellule constituée d'un cylindre en plastique dans lequel se trouve un moteur portant à ses extrémités une hélice et une ampoule électrique. Le moteur est alimenté par une batterie fournissant un courant continu de 6 volts. L'extrémité inférieure du cylindre est reliée à un filet moustiquaire à l'intérieur duquel pend un sas plombé. L'extrémité supérieure est recouverte d'un grillage qui empêche l'entrée d'insectes de grande taille pouvant être des prédateurs de moustiques. Ce type de piège est le plus souvent placé dans l'enceinte d'étables ou dans des enclos d'animaux tels que les bovins, les ovins, les caprins… De ce fait, la lumière et les odeurs dégagées, combinées au gaz carbonique produit par les animaux, attirent les moustiques qui sont piégés par le ventilateur qui les aspire à l'intérieur du filet.

IV.5.2.1. La pose du piège

La pose du piège doit se faire au moins une heure avant le coucher du soleil car certains moustiques sont actifs au crépuscule. Le relevé doit se faire au lever du soleil. La procédure de pose consiste à :

1. Accrocher le piège à son support habituel (pour information : le piège est à hauteur d'homme et si possible visible à 360 degrés),
2. Attacher le filet moustiquaire au piège (au besoin renforcer l'attache avec l'élastique),
3. Brancher le piège à la batterie,
4. Vérifier le bon fonctionnement (ventilation et lampe) du piège et que les branchements +et – sur la batterie sont correctes,
5. Renseigner la fiche de capture

Figure 33: Pièges lumineux mis en place (Ammam A., 2013).

IV.5.2.2.La procédure de relevé du piège:

Elle consiste à :

1. Vérifier que le piège fonctionne toujours (ventilation et lampe allumés). Si le ventilateur ou la lampe ne fonctionnent pas, le renseigner sur la fiche de capture,

2. Renseigner la fiche de capture,

3. Préparer une petite étiquette en papier cartonné (4 cm x 6 cm) en renseignant au crayon gris le code du piège, la date de la nuit de piégeage et le lieu de pose,

4. Détacher le filet moustiquaire du piège après avoir tapoter sur les côtés pour faire descendre les moustiques au fond,

5. Débrancher le piège de sa source d'alimentation électrique,

6. Mettre la petite étiquette de renseignement dans le filet moustiquaire contenant la récolte

7. Bien fermer le filet moustiquaire avec un nœud ou une attache en élastique sans trop forcer pour ne pas abimer les insectes,

8. Nettoyer l'intérieur du piège pour détacher les éventuels moustiques et gros insectes accrochés

9. Ranger le piège et la récolte

10. Relever les données du thermomètre min/max et de l'hygrométrie,

11. Ramener le filet moustiquaire contenant la récolte au laboratoire pour l'identification.

-Emplacement des pièges :

Des emplacements d'échantillonnage de moustiques adultes, ont été sélectionnés. Dans la mesure du possible, un emplacement maximisant la diversité et l'abondance éventuelle de moustiques a été choisi dans chaque région. Il s'agissait généralement d'un endroit relativement peu perturbé comportant un vaste éventail de types de milieux humides. Un second emplacement à l'intérieur ou à proximité d'un secteur urbain ou résidentiel a aussi été choisi. Dans certains cas, il s'agissait d'un endroit tel qu'un parc ou un terrain de camping fréquenté par des gens de centres urbains proches.

IV.5.2.3.Collecte des moustiques

Elle se fait tous les matins au lever du soleil pour restreindre au maximum les échappées de moustiques. Elle se fait avec un aspirateur à bouche ou un aspirateur électrique pour cueillir les moustiques piégés. Une étiquète sur laquelle sont écrites les références du piège est collée sur la paroi du tube de récolte de chaque piège pour éviter des erreurs. Pour faciliter la récolte, une lampe torche est placée pendant la récolte au dessus de la petite cage pour attirer les moustiques vers cette dernière. Renseigner aussi la fiche de capture et relever la température et l'hygrométrie. Après avoir démonté les pièges, les récoltes de moustiques sont transportées au laboratoire pour identification.

IV.5.2.4.Acheminement vers le laboratoire :

Dans notre laboratoire on dispose de quelques spécimens de moustiques collés à des pointes de carton (montés sur des épinglettes à insectes) à l'aide de vernis à ongles transparent. Ils ont placé sur chaque spécimen des étiquettes fournissant des renseignements sur le lieu de prélèvement (numéro d'emplacement, endroit, date, etc.). Ils ont été conservés dans le congélateur. Cette façon de procéder a permis aux spécimens de devenir partiellement lyophilisés, ce qui a beaucoup facilité leur identification ultérieure.

Dans le cas des espèces comportant des nombres élevés d'individus, on a seulement effectué le montage de quelques spécimens de chaque emplacement. Les individus non montés ont été identifiés puis entreposés dans des flacons en plastique. L'identification des espèces a été effectuée au moyen d'une loupe binoculaire.

Figure 34 : isolement et identification des especes vectrices

IV.5.2.5.Montage des spécimens entre lame et lamelle

Les moustiques capturés ont été traités différemment selon qu'il s'agisse des mâles ou de femelles.

a)Montage des mâles :

Eclaircissement préalable :

Cette étape est obligatoire et nécessite l'emploi du KOH. Son but est de faciliter l'observation des moustiques qui sont des insectes fragiles pourvus de nombreuses soies utiles à la diagnose. Il est donc nécessaire de les manipuler le moins possible et avec une grande délicatesse. Les échantillons conservés dans l'alcool sont versés directement dans une salière. L'alcool est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur munie d'une poire en caoutchouc. Le protocole utilisé est celui décrit par **Abonnenc (1972)** :

-Rinçage à l'alcool- éther pour dégraisser les moustiques capturés sur pièges adhésifs : 5 minutes,

-Solution de potasse (KOH) à 10% : 4 à 8 heures,

-Eau : 8 bains de 15 minutes,

-Liquide de Marc-André : 1 heure et plus.

•**Montage rapide dans la gomme au chloral :**

Sous la loupe binoculaire, le phlébotome est disposé puis étalés coté dorsal, les pattes, coté ventral. La tête est détachée du corps et placée en position dorso-ventral, face ventrale en position supérieure dans le cas des Sergentomyia pour la mise en évidence du cibarium armé. Face dorsale en position supérieure pour les moustiques c'est la face ventrale qui est placée en position supérieure pour mis en évidence de l'armature de la plaque dorsale du pharynx. L'armature génitale du mâle est disposée de façon à mettre en

évidence les valves péniennes qui sont, d'une grande importance pour diagnose **(Depaquit, 1995).**

Cette technique est rapide mais les préparations se détériorent en quelques mois et leur observation devient alors plus délicate.

b) Montage des femelles :

• Eclaircissement préalable :

La technique est la même que celle utilisée pou les mâles. Un simple séjour de plusieurs heures à froid dans le liquide de Marc-André permet de visualiser les spermathèques. Une méthode plus rapide à chaud a également été utilisée: Il s'agit de placer les femelles dans un tube à essais contenant du liquide de Marc-André porté à ébullition durant une minute. Cette dernière méthode **(Léger et al., 1983)** provoque le gonflement les spermathèques dont la morphologie devient particulièrement nette.

•Montage rapide dans la gomme au chloral :

Cette technique permet une meilleure conservation des collections. Les spermathèques y sont suffisamment réfringentes pour être bien visibles surtout lors des premières heures suivant le montage. Nous avons observé préalablement les femelles dans le liquide de Marc-André, puis nous avons disséqué les spécimens observés pour dégager les spermathèques qui ont été montées dans la gomme arabique pour l'identification.

IV.6. Identification des moustiques

L'identification s'est effectuée grâce à la clé d'identification des culicidés d'Afrique méditerranéenne (**J. Brunhes et *al*., 1999** - IRD de Montpelier et Institut Pasteur de Tunis).

IV.6.1. Identification de l'espèce :

Les moustiques sont morphologiquement différents les uns des autres. Il existe des différences entre les deux sous-familles *Anophelinae* et *Culicinae*, qui portent sur les œufs, les larves, les nymphes, les palpes maxillaires, les antennes et la position au repos. Ainsi, selon l'O.M.S (2003):

- Les palpes maxillaires des *Anophelinae* femelles sont aussi longs que la trompe, alors que ceux des *Culicinae* sont très réduits. Les mâles des *Anophelinae* ont des palpes massés à l'extrémité, tandis que ceux des *Culicinae* sont effilés.

- Les antennes des deux mâles sont plumeuses mais celles des *Anophelinae* sont majestueuses et moins longues que les palpes. Celles des *Culicinae* s'incurvent en rejoignant les palpes. Les femelles des *Anophelinae* ont des antennes plus discrètes que celles des *Culicinae*.

- Les ailes d'*Anopheles* ont des taches caractéristiques brun foncé sur les bords antérieurs. Celles du genre *Culex* sont gris brun sans aucune tache sur les ailes. Le genre *Aedes* est facilement reconnaissable par son corps très foncé avec des taches blanches.

IV.6.2. Identification du sexe des moustiques :

L'identification de la femelle repose sur la morphologie externe : répartition et couleur des écailles, structure de l'aile et celle de l'extrémité postérieure abdominale permettant la distinction des genres et des espèces. Chez les mâles, la structure et la chétotaxie de l'hypopygium sont nécessaires pour la détermination du genre et de l'espèce.(**Chott , J ;2010).**

IV.7. Indices écologiques :

L'analyse des résultats obtenus concernant les espèces Culicidiennes inventoriées, est réalisée par le calcul des indices écologiques.

IV.7.1. Indices de compositions écologiques :

Ils sont représentés par:

IV.7.1.1. Richesse spécifique (totale) et moyenne

La richesse totale d'un peuplement est exprimée par un nombre d'espèces (S) inventoriés dans la région d'étude. Par contre la richesse moyenne (S') est le quotient du nombre total des individus (Ki) pour chaque espèce sur le nombre total des prélèvements effectués (N).

S' = Ki / N

IV.7.1.2. Abondance relative

La fréquence (F) est le pourcentage des individus d'une espèce (ni) par rapport au nombre total des individus (N) **(Dajoz, 1971).**

AR % = (ni x 100) / N

ni : Abondance spécifique de l'espèce i.

N : Abondance du peuplement.

IV.7.1.3. Fréquence d'occurrence:

Parmi les indices écologiques de composition utilisés pour l'exploitation des résultats, la fréquence d'occurrence d'une espèce, qui présente le rapport exprimé en pourcentage du nombre de prélèvements où cette espèce est notée au nombre total de prélèvements effectués:

$$FO\ \% = P/P' \times 100$$

F: est la fréquence d'occurrence de l'espèce.

P est le nombre total de prélèvements contenant l'espèce prise en considération.

P' est le nombre total de prélèvements effectués.

Selon **Dajoz (1985)** il existe trois groupes distincts en termes de constance :

Les espèces du **premier groupe** sont qualifiées de constantes (espèces communes) lorsqu'elles se retrouvent dans 50 % ou plus des relevés effectués dans une même communauté.

Celles du **second groupe** sont accessoires car elles ne sont présentes que dans 25 à 49 % des prélèvements.

Celles du **troisième groupe** sont des espèces accidentelles possèdent une fréquence d'occurrence inférieure à 25 %.

I. RESULTATS :

Fréquence de consultation par an :

Sur les **1300** chiens consultés durant la présente étude, **59 ,07%** étaient des mâles et **40,92%** étaient des femelles ; répartit en 14 races avec une prédominance de la race berger allemand (**35,61 %**)(tableau 10). Quant à leur utilisation, **69,23%** comme animaux de compagnie.

Selon leurs habitats, **68,84%** vivaient en milieu urbain et **31,15%** vivaient en milieu rurale, **98,84%** avaient un propriétaire et **1,15%** sans propriétaire.

En ce qui concerne leurs âges, l'échantillon a été répartit en 7 tranches d'âge dont le pourcentage le plus élevé est représenté par les chiens âgés entre 2 à 3 ans. (**28,63%**).

Tableau 10 : Fréquence de consultation par an.

Année	Nombre totale	Mâles	Femelles
2010	84	54	30
2011	234	198	36
2012	271	175	96
2013	191	105	86
2014	354	219	135
2015	166	121	45
Totale	**1300**	**872**	**428**

III.1.2. Classe d'âge :

Nous avons réparti les individus en sept (07) tranches d'âge. Toutes les tranches d'âges sont représentées avec une prédominance de la tranche d'âge entre 2 - 3 ans avec **409** individus suivie de la tranche d'âge entre 4-5 ans avec 183 individus et enfin 6 mois-1an avec **172** individus (Tableau 11). .

Tableau 11 : Distribution des animaux en fonction de leur âge

Classes d'âge	**Nombre de chien**
[0 - 6 mois]	163
] 6 mois -1an]	172
] 1an - 2ans]	147
] 2 ans -3ans]	409
] 3ans - 4ans]	98
] 4 an - 5ans]	183
] 5 ans et plus	128
Total	1300

III.1.3. les différentes races de chiens

14 races sont comptabilisées ; la race Berger Allemand est prédominante avec **35,61%** (tableau 12) suivie des races commune (**7,84%**), croisée (**7,38%**) et chien de chasse (**7,22%**).

Tableau 12 : Différentes races de chiens prélevés.

Races	Chiens		Mâle		Femelle	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Berger Allemand	463	35,61	301	65,01	162	34,98
Commune	102	7,84	79	77,45	23	22,54
Croisée	96	7,38	55	57,29	41	42,70
Chien de chasse	94	7,22	76	80,85	18	19,14
Caniche	88	6,76	12	13,63	76	86,36
Braque Allemand	71	5,45	61	85,91	10	14,08
Berger Belge	69	5,30	43	62,31	26	37,68
Doberman	62	4,76	43	69,35	19	30,64
Braque français	54	4,15	47	87,03	7	12,96
Epagneul	48	3,69	39	81,25	9	18,75
Pit bull	47	3,61	41	87,23	6	12,76
Rottweiler	43	3,30	30	69,76	13	30,23
Pointer	38	2,92	32	84,21	6	15,78
Setter	25	1,92	13	52	12	48

I.1 ETUDE CLINIQUE DE LA DIROFILARIOSE CANINE :

La suspicion clinique a révélé une symptomatologie assez variée mais beaucoup d'individus ne présentant aucun signe pouvant être rattaché à la dirofilariose. Le tableau suivant récapitule les principaux symptômes observés chez les chiens de l'étude :

Tableau 13 : Principaux symptômes observés chez les chiens de l'étude.

Symptômes	Nombre	Pourcentage (%)
Signes généraux	709	54 ,54
Signes digestifs	208	16
Signes respiratoires	154	11,85
Signes cardiaques	97	7,46
Signes ostéo-articulaire	29	2,23
Signes cutanés	34	2,62
Autres	69	5,30

Motifs de consultation :

Nous avons inclus dans le motif « lésions cutanées » ; alopécie, ulcère, érythème, les pétéchies.

Les « signes généraux » sont l'abattement, l'amaigrissement, l'hyperthermie, l'anorexie. Dans les « signes digestifs », on classe les vomissements, diarrhées et les constipations. Boiterie, algie des articulations, difficulté locomotrice, et arthrite ont été regroupés sous le terme de « pathologies ostéo-articulaires ».

Autres : englobent les affections de système nerveux, génitale, urinaire.

D'autres individu sans aucun symptôme (examinés pour une consultation anté-opératoire ou pour une vaccination) ont aussi été prélevé pour divers raisons :

- la dirofilariose canine peut présenter un tableau polymorphe. (**Juste K., 2014**).

- elle peut sévir sans symptômes révélateurs (ainsi beaucoup d'individus porteurs non décelés par la clinique, peuvent passer inaperçus et ils représentent donc un danger majeur car constituent le réservoir du parasite **(Cordonnier, C.2002)**

Tableau 14 : Tableau à double entrée récapitulatif des fréquences et des pourcentages des motifs de consultation

Motifs	Gén.	Dig.	Resp.	Car.	Osté.	Cut.	Autres	Total
Générale	543	53		46		32	35	**709**
Digestifs	74	11	87	22	14			**208**
Respiratoires	12	123		7	2		10	**154**
Cardiaques	30	17	44		5	1		**97**
Ostéo-articul.		2	21		6			**29**
Cutanés	4	2		5			23	**34**
Autres	46		2	17	2	1	1	**69**
Total	**709**	**208**	**154**	**97**	**29**	**34**	**69**	

Légendes : **gén** = signes généraux, **dig**=pathologies digestives, **resp** = pathologie respiratoire, **car** : signes cardiaques, **ostéo** = pathologie ostéo-articulaires, **cut** = pathologie cutanées, **autres** : autres signes).

En termes de fréquence, des signes généraux représentés par anorexie, abattement, hyperthermie constitue le motif de consultation le plus fréquent. Puis, en seconde position, viennent les signes digestifs. Ces deux motifs représentent, à eux seuls, **70,5 %** des motifs de consultation.

Certains individus présentaient un seul ou quelques signes cliniques de la maladie.

Les autres symptômes :

- symptômes cardiaques :

- La peau : Des ulcérations, furfures, dépilation

- Appareil locomoteur : Parfois boiterie des membres postérieurs.

L'épistaxis observée chez quelques chiens

Les symptômes relevés chez les individus suspects sont illustrés par les photos suivantes

Figure 34 : Amaigrissement marqué chez un chien suspect.

Figure 35 : Abattement.

Remarque :

L'atteinte rénale, hépatique et splénique, sera confirmée lors des autopsies. Tous les renseignements concernant ces animaux ainsi que tous les résultats enregistrés, lors de notre étude étaient consignés par des fiches cliniques (voir annexes).

Les signes d'appel :

Nous allons maintenant étudier les signes d'appel qui nous ont amené à établir un diagnostic symptomatologique de dirofilariose, **(Makouloutou P., 2007)** ces signes d'appel sont les symptômes qui ressortent de l'examen clinique, et qui ont été notés dans

les fiches cliniques de chacun des 1300 cas de notre étude. (Signes cardiaques, Signes respiratoires).

1. Étude des principaux symptômes

Les 2 grandes catégories de symptômes évoquant le mieux la dirofilariose canine d'après la bibliographie sont les symptômes cardiaques, les symptômes respiratoires. **(HEBERT, 2006)** Nous allons étudier ces différents symptômes au sein de notre étude. Les fréquences de ces symptômes sont regroupées dans le tableau 15.

Chez les **1300** chiens qui faisaient l'objet de notre étude, **251** soit **19, 30 %** les symptômes étaient caractéristiques de la maladie. Ces cas présentaient une symptomatologie assez complète suggérant une dirofilariose; ils s'avèrent négatifs par les tests de laboratoire.

Tableau 15 : Fréquences des symptômes respiratoires et cardiaques.

	Nombre	**Fréquence dans la population suspecte (%)**	**Pourcentage dans la population totale (%)**
Signes cardiaques	97	38,6	7
Signes respiratoires	154	61,3	11,8

Étude détaillée des symptômes :

Signes cardiaques :

Pour chaque chien de l'étude ayant des signes cardiaques, le détail de ces signes est inscrit dans les fiches cliniques. Nous avons donc répertorié et classé ces données. Le

tableau n°16 rend compte des fréquences et des pourcentages des différentes signes cardiaques.

Tableau 16 : Nombre et fréquence des chiens présentant des signes cardiaques.

	Nombre	**Tachycardie**	**Bradycardie**	**Arythmie**	**Bruits anormaux**
Signes cardiaques	97	83 (85,5 %)	8 (8,2 %)	2 (2,06 %)	4 (4,12 %)

La tachycardie est le signe le plus fréquent (**83** chiens) sur les **97** chiens ayant des signes cardiaques, la pathologie cardiaque pourrait être un signe d'appel fort en faveur de la dirofilariose canine. La bradycardie trouvée surtout chez des chiens en état de choc apres une longue souffrance avec une pathologie quelconque.

Signes respiratoires :

Suite a l'anamnèse, et l'examen clinique détaillé et l'examen de l'appareil respiratoire, et a l'aide de stéthoscope on a pu trouvés plusieurs anomalies respiratoires on les a classé dans le tableau suivant :

Tableau 17 : Nombre et fréquence des chiens présentant des signes respiratoires

	Nombre	**Tachypnée**	**Bradypnée**	**Dyspnée**	**Toux**
Signes respiratoires	154	36 (23,3 %)	11 (7,14 %)	9 (5,84 %)	98 (63,63 %)

Dans le terme « toux » on a regroupe les différentes causes inflammatoires de l'arbre respiratoire pouvant avoir comme signe la toux : pharyngite, laryngite, bronchite,

alvéolite. Constitue ainsi le taux le plus élevé des affections de système respiratoire (**63%**).

Symptômes généraux

Sont représentés par : hyperthermie, anorexie, abattement. La figure 36 représente la fréquence de différents symptômes généraux :

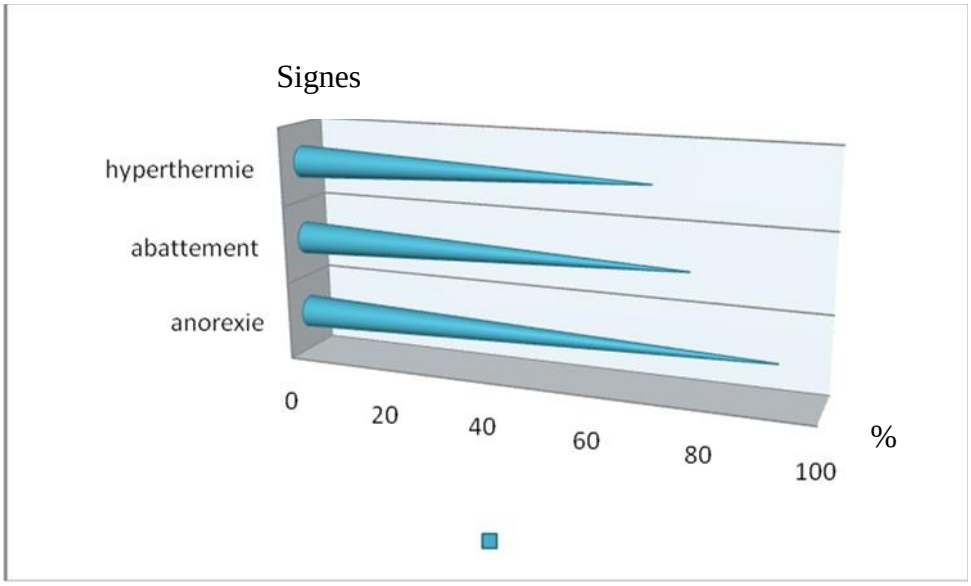


Figure 36 : Fréquence des signes généraux

Autres symptômes

Malgré l'incontestable importance des deux principaux symptômes « cardiaques et digestifs», d'autres symptômes accompagnent très souvent le tableau clinique. De plus, il ne faut pas oublier que des formes atypiques de la dirofilariose canine, même si elles sont plus rares, existent. Le clinicien doit donc apporter de l'importance à chaque symptôme, même isolé. Cela explique toute la difficulté pour le diagnostic.

Nous avons étudié les autres symptômes pour chacune des **1300** consultations et les résultats sont rapportés dans le tableau n°18.

Tableau 18 : Fréquences et pourcentages des autres symptômes

Signes cliniques	Fréquences (%)
Affection oculaire (kératite, uvéite, conjonctivite, traumatisme oculaire, cécité)	14
Affection urinaire (anurie, polyurie, hématurie)	16
Adénopathie (hypertrophie ganglionnaire)	2
Affection génital (tuméfaction de la vulve, testicule, coloration anormale, anoestrus, infertilité, avortement, dystocies	41
Signes nerveux (parésie, paralysie, comportement anormale)	27

Les affections de l'appareil génital constitue un signe aussi fréquent de consultation on assistait a des cas des tumeurs mammaires, de stérilité, d'infertilité, Les pathologies oculaires sont dominées par une conjonctivite, l'adénopathie est mal connu par le propriétaire représente par un taux très faible **(2%),** les affections urinaire dans plusieurs signes obligeant l'éleveur de ramener le chien a la clinique soit une coloration et /ou odeur anormal des urines ou anurie.

I.2. RESULTATS DU DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE :

I.2.1. Observation directe sous microscope :

Examen direct entre lame et lamelle des gouttes de sang de tous les chiens de l'étude, n'a pas révélé la présence de microfilaires de *D. immitis.*

I.2.2. La coloration des frottis au May-Grunwald Giemsa (M.G.G.):

La coloration M.G.G. n'a pas révélé de microfilaires dans les frottis sanguins réalisés chez tous les chiens de l'étude.

I.2.3. Witness *dirofilaria* :

Après la coloration de **MGG** on a utilisé des kits de Witness Test chez quelques chiens pour confirmer l'affection lorsque la coloration de **M.G.G.** fournit des résultats douteux. Le Withness *dirofilaria* est un test spécifique et sensible. il nous a fournit des résultats négatifs de tous les chiens testés.

I.3. AUTOPSIE :

Chez les chiens euthanasiés, l'hypertrophie de la rate et de foie qui sont les principales lésions notées, ont été suspects du vivant de l'animal et ont été confirmés après l'autopsie ; l'hypertrophie de ces organes confirme l'hyperplasie du système de phagocyte, mononuclé qui se localise dans ces organes.

Un effectif de **33** soit **2,53 %** présentaient une splénomégalie, **41** individus soit **3,15 %** présentaient une hépatomégalie. Aucun adulte de ***Dirofilaria immitis*** n'a été retrouvé dans le cœur ni dans l'artère pulmonaire de tous les chiens autopsiés.

I.4.RESULTATS DES PIEGEAGE DE MOUSTIQUES :

I.4.1.Les différents gîtes Culicidiens rencontrés

La prospection effectuée pour l'étude de la faune culicidienne de la région, nous a permis de visiter différents types de milieux (naturels et anthropiques) renfermant divers types d'habitats pouvant accueillir les moustiques, différents gîtes rencontrés, naturelle (marres et fosses), le reste est la genèse de l'être humain.

Le nombre de moustiques est variable d'un gîte à un autre. La figure suivante traduit en premier lieu la variation du nombre d'espèces dans les différents gîtes recensés. (Compagne de piégeage, 2012).

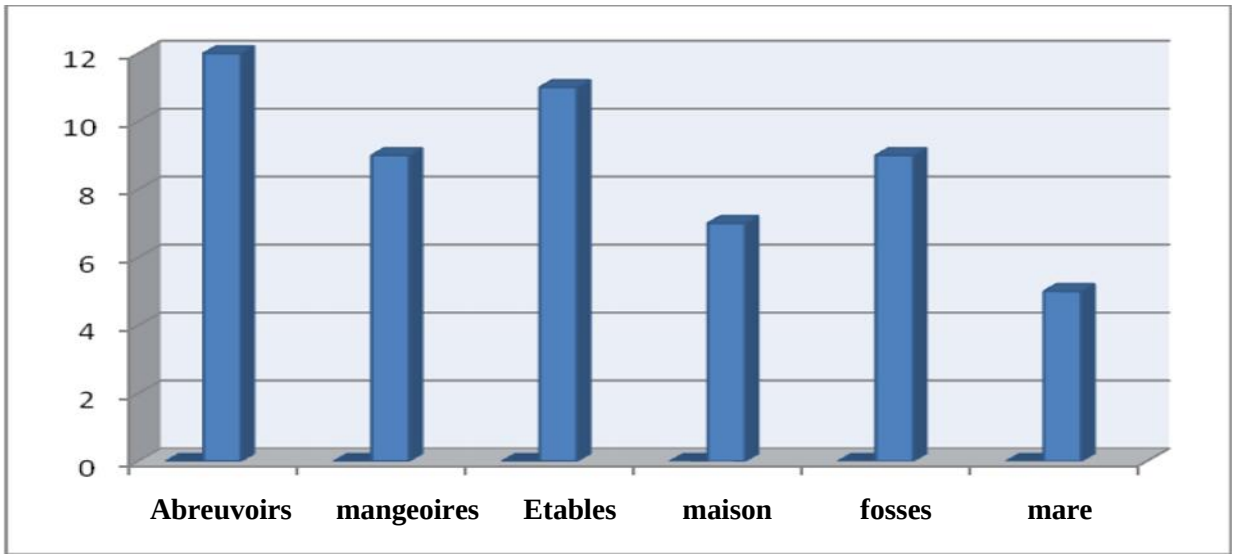


Figure 37 : Type d'habitats culicidiens identifiés.

I.4.2.Composition du peuplement Culicidien récolté

La transmission du ver du cœur se fait par la piqûre de moustiques femelles d'une espèce bien précise (*Culex pipiens*) qui est un culicidés **(Personne, 2007)**. La détermination de la faune récoltée au niveau des sites reposant sur une collection constituée de plusieurs variétés d'individus nous a permis d'élaborer une liste faunistique répertoriant l'ensemble des espèces identifiées (Tableau 19). L'analyse de ce recueil faunistique globale a

conduit à la détermination de deux espèces appartenant à une seule sous famille, deux tribus et deux genres qui sont *Culex* avec la présence de *Culex pipiens* et *Culiseta* avec l'existence de *Culiseta longiareolata*. Cette dernière est légèrement dominante avec une abondance relative de **55,61 %,** contre «**44,38%** » pour *Culex pipiens*

Tableau 19 : Liste des espèces récoltées et identifiées.

Sous Familles	**Tribu**	**Genre**	**Espèce**
Culicinae	Culicini	*Culex*	*Culex pipiens* Linnaeus 1758
	Culisetini	*Culiseta*	*Culiseta longiareolata* Macquart,

Tableau 20 : Fréquence des deux espèces rencontrées.

Espèces	**Pourcentage (%)**
Culex pipiens	44.38
Culiseta longiareolata.	55.61

Ces deux espèces se développent dans tous les types de gîtes qu'ils soient artificiels ou naturels. Leur probabilité de rencontre est élevée et leur pouvoir de dispersion est considérable. *Culiseta longiareolata* est le moustique le plus fréquent, il a été signalé dans presque tous les gîtes prospectés. Cette espèce à une distribution très vaste.

Tableau 21 : Fréquence des deux espèces rencontrées selon le sexe.

Espèces	Total	Sexes	
		Mâle	Femelle
Culex pipiens	7173	1184	5989
Culiseta longiareolata.	8987	1044	7943

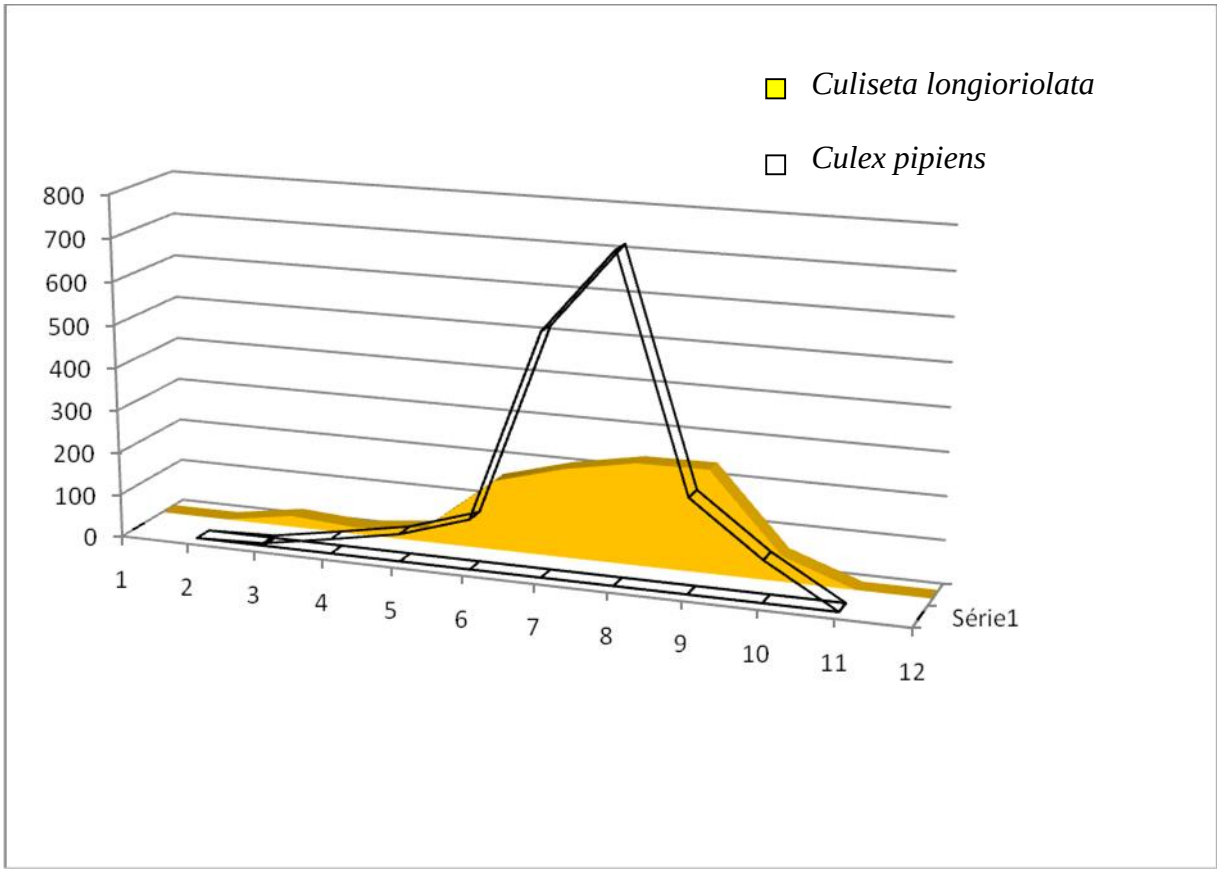


Figure 38 : Evolution temporelles du peuplement de culicidés récoltés en 2011(pièges adhésifs).

La figure ci-dessus montre que le mois d'Aout est le mois qui voit la plus grande activité des *Culex pipiens* (750 individus), le pic d'activité de *Cx. pipiens* suivi par le mois de juillet (558 individus) ; tandis que *Culiseta longiareolata* est

très actifs pendant le mois de septembre ; durant la saison d'hiver nous observons l'absence d'activité de deux espèces .Nous avons remarqué que l'utilisation des pièges adhésifs a beaucoup d'inconvenants cités :

- Pertes des pièges ; détruits par les animaux à l'intérieur des étables.
- Piégeages de plusieurs insectes parfois même des prédateurs de moustiques.

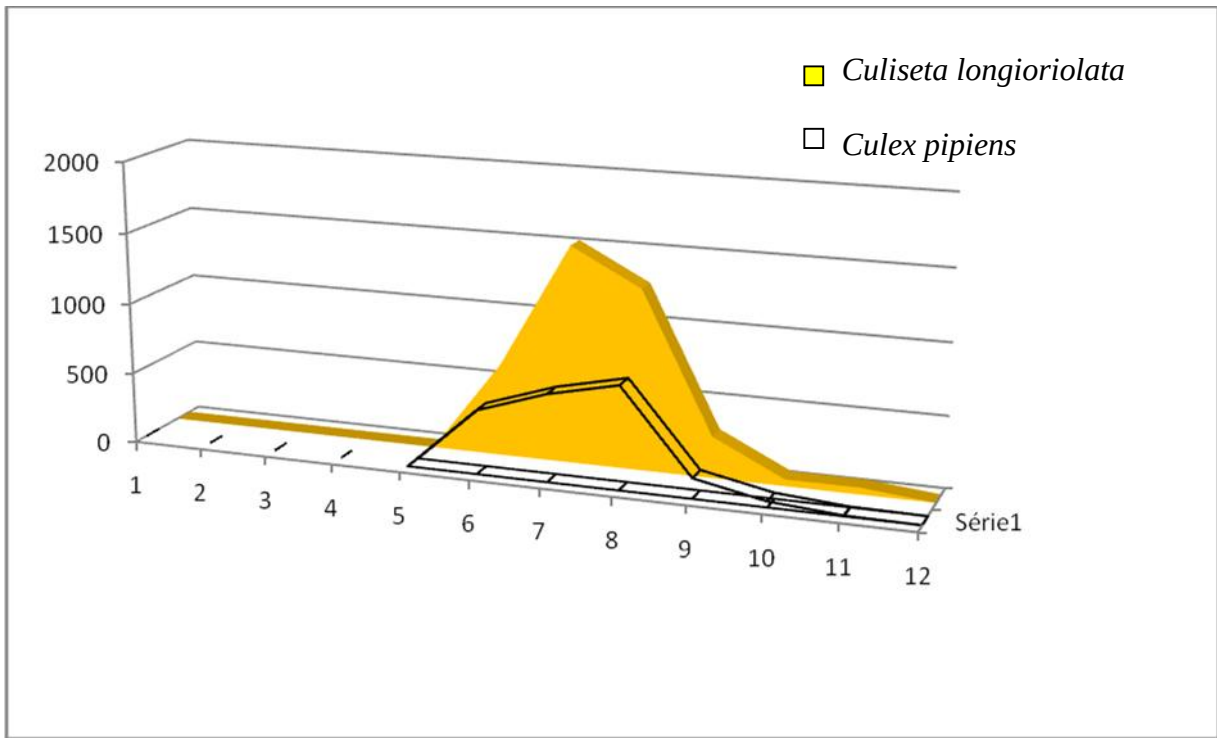


Figure 39 : Evolution temporelles du peuplement de culicidés récoltés en 2012. (les pièges lumineux CDC)

La figure ci-dessus montre que l'activité des deux espèces culicidiens commence le mois de juin avec un pic au mois de juillet pour *Culiseta longiareolata* et le mois d'Aout pour *culex pipiens,* puis diminue progressivement jusqu'à mois de Novembre ; notant une diminution remarquable dans le nombre du male (0) pour *Culex pipiens* et (1) pour *Culiseta longiareolata.* Notant un bon rendement des pièges CDC peut être dus a :

- ✓ L'effet attractif des pièges lumineux qui est plus puissant que les pièges adhésifs.
- ✓ Récupération totale des pièges.
- ✓ Affinité de piégeage presque totale vers les moustiques.

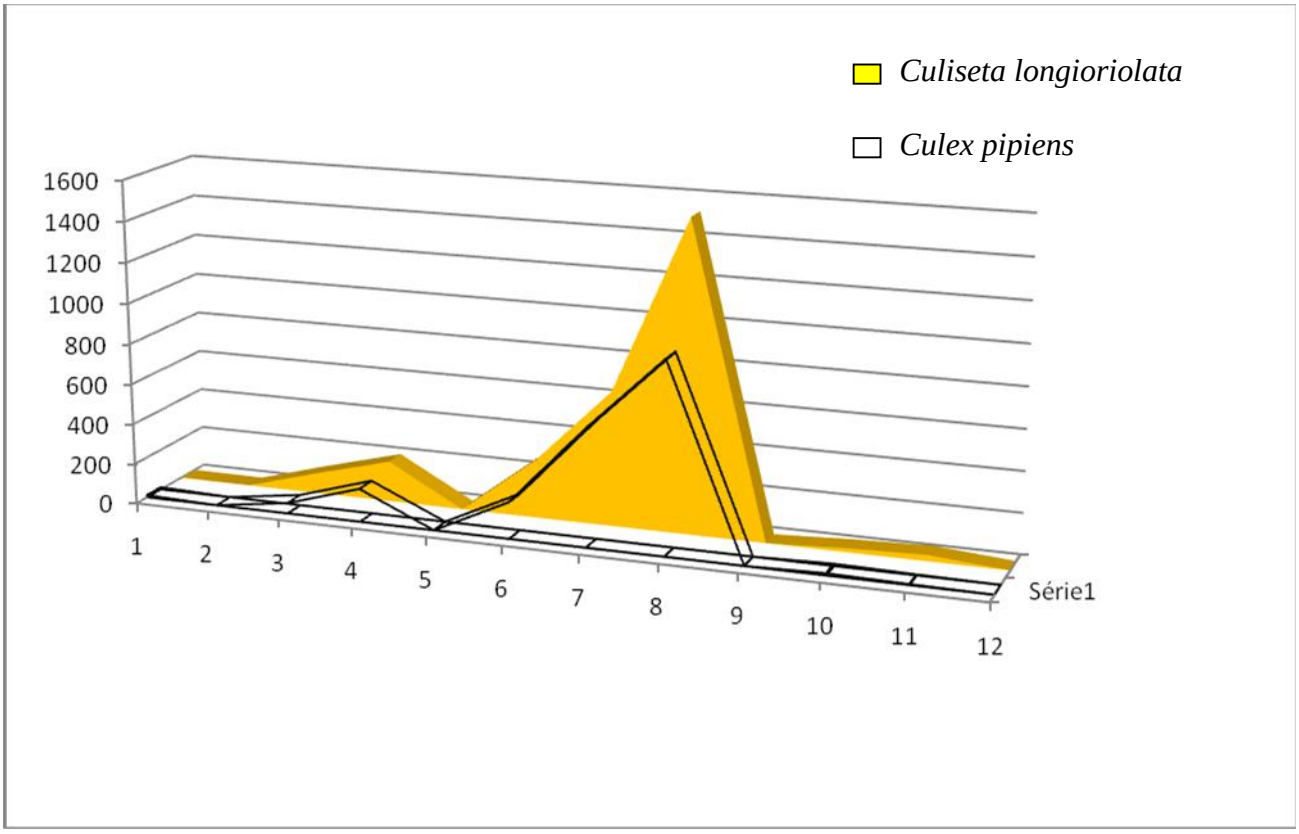


Figure 40 : Evolution temporelles du peuplement de culicidés récoltés en 2013.(pièges lumineux CDC)

Continuant avec les pièges lumineux CDC la troisième année de piégeage a connu une fluctuation d'abondance en fonction du temps et une évolution similaire des deux espèces ; absence d'activité durant le mois de Mai et Septembre, le pic au mois d'Aout (2156 individus), les mâles n'ont pas été piégés au mois de Novembre pour *Culex pipiens* et Octobre pour *Culiseta longiareolata.*

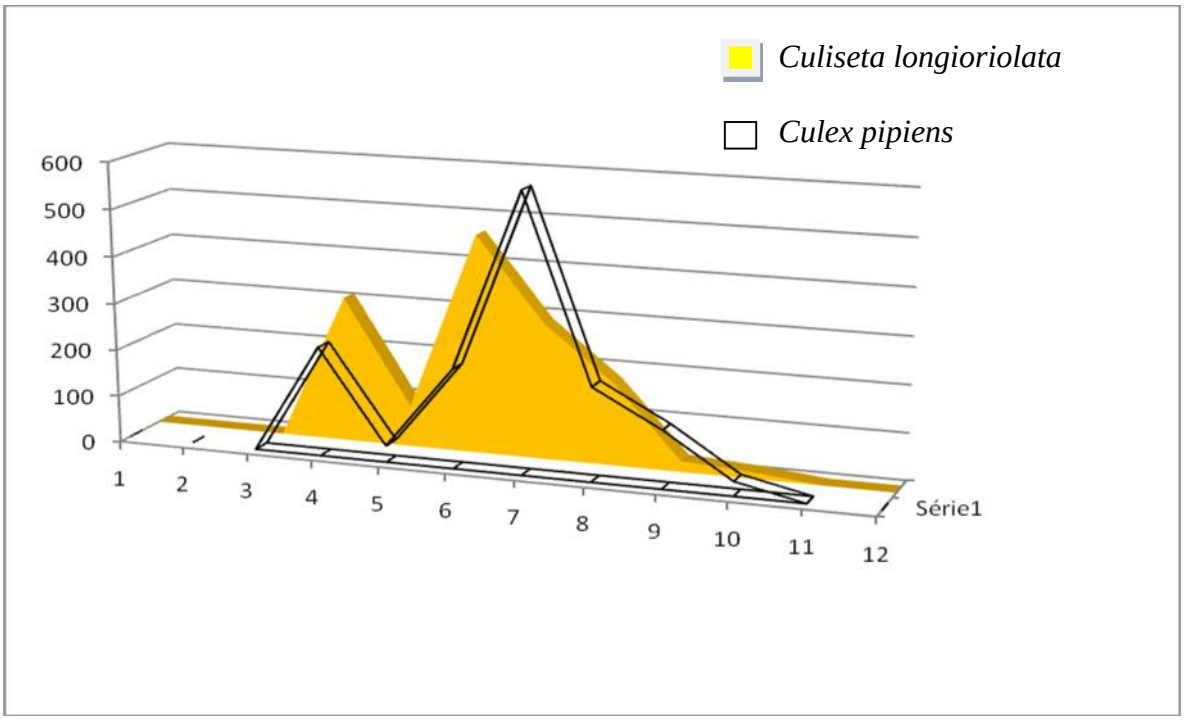


Figure 41 : Evolution temporelles du peuplement de culicidés récoltés en 2014.(pièges lumineux CDC).

La dernière année de piégeage par l'utilisation des pièges lumineux CDC a été caractérisé par deux pic durant l'année en printemps Avril (543 individus) et en juillet (877 individus) pour *Culiseta longiareolata* cependant *culex pipiens* voit le pic au mois de juin, le mois d'Octobre quant à lui voit seulement une apparition discrète avec absence d'activité des mâles de *culex pipiens.*

Les résultats sont très diversifiés. On observe des variations en fonction de sexe, sans que l'on puisse déceler de corrélation particulière entre l'écologie du mâle et celle de la femelle.

Il faut noter que tous les résultats des compagnes de piégeages sont influencés de façon négative par les perturbations atmosphériques.

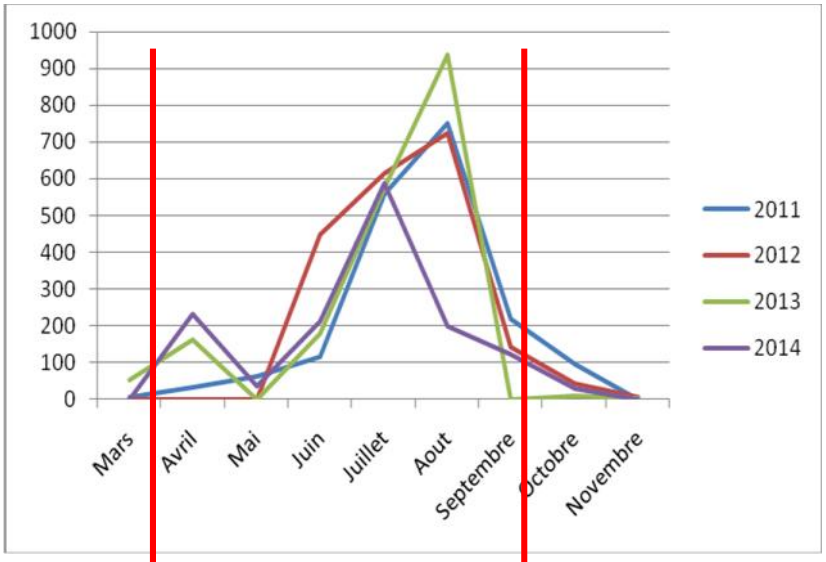


Figure 42 : Evolution de la population ***Culex pipiens*** dans la région de *Tiaret* durant les 04 années (2011-2014).

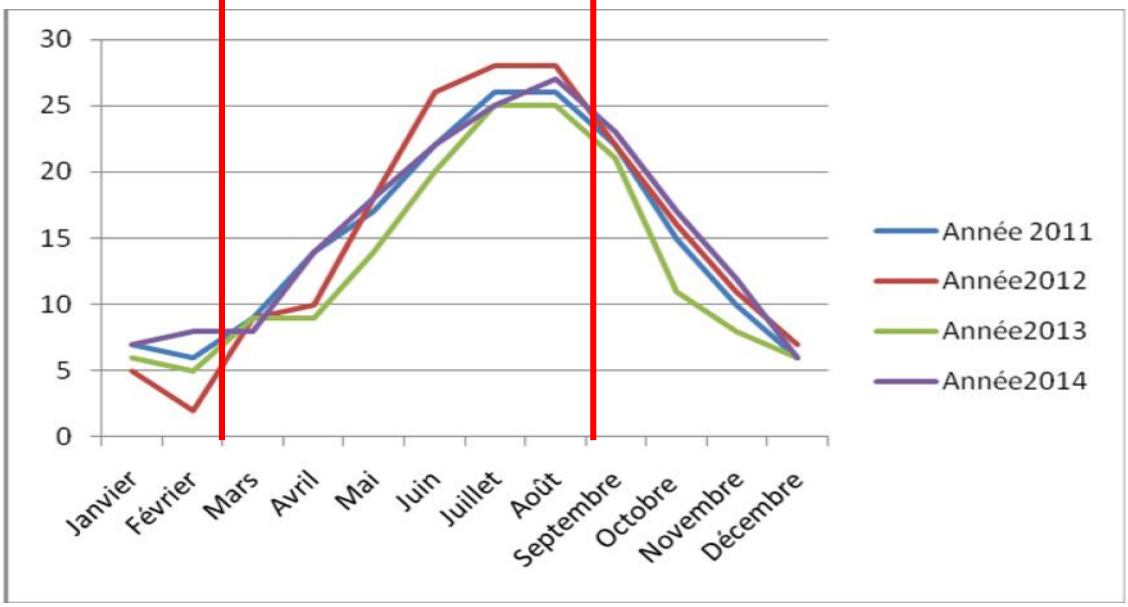


Figure 43: Evolution de de la temperature mensuelle durant les 04 années (2011-2014).

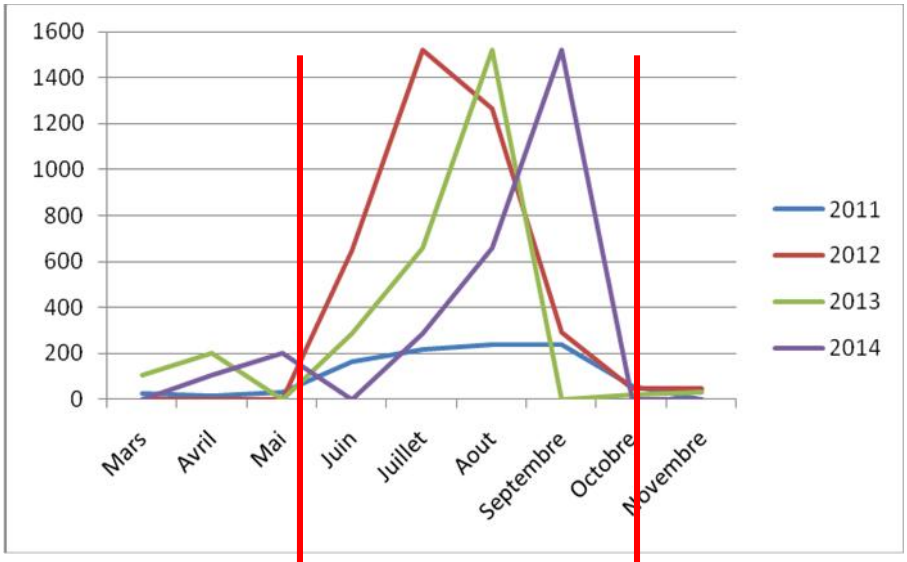


Figure 44 : Evolution de la population ***Culiseta longiareolata*** dans la région de Tiaret durant les 04 années (2011-2014).

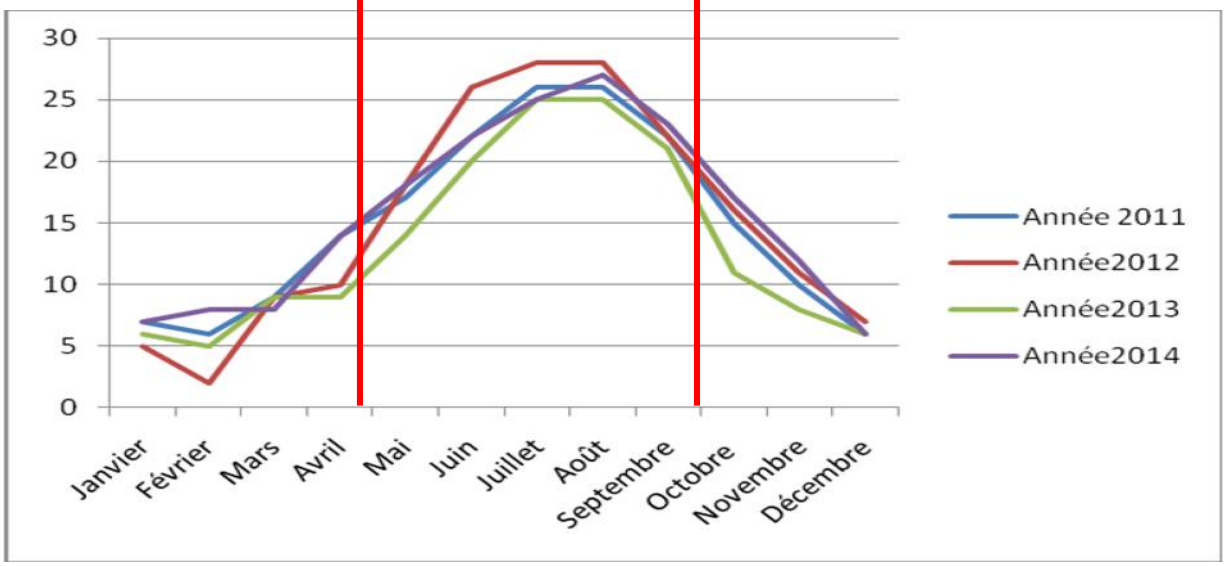


Figure 45 : Evolution de de la temperature mensuelle durant les 04 années (2011-2014).

Tableau 22 : Abondance (%) des espèces Culicidiennes dans la région de Tiaret.

Année	Espèce culicidienne	Abondance (%)
2011	***Culiseta longiareolata***	34,887
	Culex pipiens	**65,112**
2012	***Culiseta longiareolata***	**65,924**
	Culex pipiens	34,075
2013	***Culiseta longiareolata***	**58,950**
	Culex pipiens	41,049
2014	***Culiseta longiareolata***	**49,212**
	Culex pipiens	**50,787**

Tableau 23 : Richesse spécifique moyenne des espèces Culicidiennes dans la région de Tiaret.

Année	Espèce culicidienne	Richesse moyenne
2011	***Culiseta longiareolata***	107,33
	Culex pipiens	**153,6**
2012	***Culiseta longiareolata***	**318,25**
	Culex pipiens	164,5
2013	***Culiseta longiareolata***	235,25
	Culex pipiens	**243,6**
2014	***Culiseta longiareolata***	**125,41**
	Culex pipiens	118,25
4 années	***Culiseta longiareolata***	**196,56**
	Culex pipiens	**170,02**

Tableau 24 : Fréquence d'occurrence des espèces Culicidiennes dans la région de Tiaret durant les 4 années (2011 à 2014).

Espèce culicidienne	Fréquence d'occurrence	
Culiseta longiareolata	60,41%	Constante
Culex pipiens	60,41%	Constante

DISCUSSION

I- LA METHODOLOGIE

I.1.Choix de la zone d'étude

La wilaya de Tiaret a été choisie pour trois (03) raisons. La première c'est le mode de vie des habitants de la wilaya, et le nombre élevé des chiens notamment au centre ville. La seconde est liée au rôle prépondérant de l'institut vétérinaire et la clinique des carnivores qui reçoit quotidiennement des chiens de différentes provenances et la disponibilité d'un laboratoire de diagnostic. La troisième et non des moindres, c'est la présence des cas de leishmaniose canine et par voie de conséquence la présence, le développement et l'adaptation au climat du vecteur de la transmission de *Leishmania infantum*. Ces données nous ont amenés à supposer que le ou les vecteurs de *D. immitis* pourraient se développer dans la région de Tiaret et voir même transmettre le parasite à la population canine et à l'Homme.

I.2. Méthodologie appliquée

I.2.1.Frottis sanguin

Le frottis sanguin qui se réalise à partir du sang périphérique est prélevé de préférence sur la face interne du pavillon de l'oreille. Contrairement à la méthodologie appliquée par **M'Sik (2008)** qui a prélevé au niveau du sang veineux, nous avons préféré effectuer le prélèvement sur ce site car selon **Visee (2008),** les hématies parasitées sont moins souples à cet endroit et ont tendance à s'accumuler dans les capillaires périphériques de l'oreille. Toujours dans cette logique, **Robin (1974)** estime qu'il

serait préférable de récolter la première goutte qui apparait après la scarification car celle-ci est plus riche en parasites. **Stef (2010)** confirme cette hypothèse et met en évidence la sensibilité de cette méthode. Cet auteur considère que le sang capillaire est réputé être riche en parasites contrairement au sang veineux.

I.2.2. La coloration May-Grûnwald-Giemsa (M.G.G.):

La coloration des frottis sanguins utilisée dans la plupart des travaux effectués est celle de May-Grunwald-Giemsa (**M.G.G.**) ; nos résultats ont été comparés aux travaux réalisés par **Bellier S., et Cordonnier N. (2010)** sur les valeurs usuelles en hématologie vétérinaire.

I.2.3. Witness test :

Les échantillons de sang canins ont été testés pour la détection d'antigènes circulants de *Dirofilaria immitis* en utilisant un kit de test (witness *dirofilaria*), basé sur une immuno-migration rapide pour le diagnostic de la dirofilariose canine.

Plusieurs auteurs à travers le monde l'ont utilisé. A titre d'exemple, **Vezzani D. (2008)** en Amérique de sud, **Alho A.M. (2014)** au Portugal, **Watier-Grillot S. (2011)** en nouvelle Calédonie, **Levy J.K.** (**2003)** en Floride, **Boonyapakorn C.** (**2008)** en Thaïlande.

De nombreuses études ont rapporté que des trousses sérologiques commerciales ont une faible sensibilité en charge parasitaire (01 à 05 femelles *Dirofilaria immitis* adultes), lorsque les vers montrent une faible fécondité, lorsque la présence de microfilaires persiste pendant 1 à 3 ans après la mort de femelles adultes, l'infection prépatente ou seulement l'infection masculine **(Mc.Call J., 2008).**

II. LA PREVALENCE GLOBALE

II.1.Matériel animal :

Notre étude a porté sur **1300** chiens choisis de façon aléatoire dans la région de Tiaret (Algérie) ; Tenant compte de la taille de notre échantillon et le mode de prélèvement, on peut s'interroger sur la représentativité de l'échantillonnage et l'effectif total des chiens que regroupe la région de Tiaret.

En effet, il n'existe aucune donnée statistique officielle sur le nombre de chiens dans la région ; les recensements n'ont jamais concerné les populations canines, ce qui limite l'estimation de l'effectif total des chiens dans cette région. Ainsi nous ne pouvons pas affirmer avec exactitude si l'échantillonnage est faible ou élevé. Toutefois ce nombre est relativement important et adapté au matériel de laboratoire dont nous disposons à savoir les Kits et les réactifs.

Comparativement aux travaux réalisés sur la Dirofilariose canine, notre échantillon parait moyen. En effet, Au **Portugal** une étude a été réalisée sur **696** chiens durant 3 années successives (de 2011à 2013) **(Alho, A.M., 2014).** En **Espagne** (2006) des auteurs ont résumé leurs observations grâce à une étude portant sur **823** chiens durant une année (2002-2003)**(Montoya J.A. 2006)**. Au **Brésil** (2002) une étude sur la dirofilariose menée sur **2553** chiens à révélée une prévalence de 2%.

Dans notre étude, nous démontrons pour la première fois l'absence de cas de Dirofiliariose canine à Tiaret (**Algérie**) chez **1300** chiens prélevés. Aucun cas positif n'a été notée, ni par une observation microscopique de frottis sanguin ni par le kit (witness test) et ni par une étude nécropsique.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises sur ce résultat négatif ; Cette prévalence pourra être expliquée par le fait que les techniques de détection de microfilaires ne sont pas en mesure de détecter les infections occultes (infections amicrofilarique). Ces infections pourraient survenir en raison de plusieurs causes: les faibles charges parasitaires, les infections prépatentes par les jeunes adultes, les infections par le vieillissement de femelles adultes avec altération de leur fertilité.

Cette prévalence a été notée dans d'autres études comme celle réalisée en **Allemagne** (Bade-Wurtemberg) qui est l'une des régions les plus chaudes, **44** chiens de chasse ont été testés en Juin 2007, en utilisant le test de Knott, l'antigène de *Dirofilaria immitis* n'a pas été détecté dans aucun des échantillons ; Un autre étude sur un échantillon de **288** chiens prévenants de la région centrale du **Rhin** supérieur ont été testés négatifs pour l'antigène de *Dirofilaria immitis* en Février et en Août 2007 **(Pantchev N., 2009).**

En **Argentine** (2006) une enquête sur la dirofilariose canine réalisée dans différentes régions du pays a révélé une prévalence allant de 0% jusqu'à 71% selon les régions ciblées **(Vezzani D., 2006).**

Dans la **république tchèque** (2005); **110** chiens ont fait l'objet d'une étude sur la dirofilariose canine ; une prévalence de 0 % a été trouvée chez les chiens qui n'ont jamais voyagés, un chien positif importé et une prévalence de 30,5% chez des chiens importés avec présence des anticorps circulants et absence des filaires **(Svobodova V., 2005).**

Au **Montana**, sur une période de 3 ans, un test ELISA a été utilisé sur un total de **3490** chiens, **24** chiens ont été positifs à la dirofilariose qui représentent une prévalence de 0,6 % **(Knapp S.E, 1993).**

En **Italie** (2001) ; l'analyse du sang de **351** chiens a révélé 0,6% de chiens porteurs de *D. immitis* **(Ranjbar-Bahadori S., 2007).**

Au **Portugal**, en 2012, une étude a révélé une prévalence de 3,6% chez les chiens cliniquement sains. Dans cette étude, des chiens du centre du pays présentaient une prévalence de 0,9% chez les chiens cliniquement sains **(Cardoso L., 2012).**

Au **Québec**, la prévalence, toujours constante depuis plusieurs années, est inférieure à 0,1%. **(Sylvie F., 2003).** En 2010, au **Canada**, sur un total de **367385** chiens testés en clinique pour le dépistage de la dirofilariose, 564 chiens ont été diagnostiqué positif. Ces chiffres sont plus élevés qu'en 2002, où **354** chiens ont été testés positifs. La prévalence de l'infection chez les chiens canadiens serait donc actuellement de 0,15 %. Cela veut dire qu'un peu plus d'un chien sur 1000 serait infecté au Canada (**Annie R., 2011**).

En **France** (2009), dans le but de déterminer la prévalence de la dirofilariose ; **1050** chiens ont été prélevés, analysés, et une prévalence de 0,22% a été notée **(Pantchev N., 2009).** Toujours en France (Corse, Camargue, région d'Hyères, Dombes, Languedoc-Roussillon) la prévalence de la dirofilariose était de 0,7% sur **5000** prélevés en 1986 (**Gauchard F., 2005**) ; aucune différence significative n'a été observée dans les résultats tout au long de l'année. Bien que la période de transmission est limitée à une période de l'année en raison de la relation de la vie du vecteur avec le temps, une longue période de développement du parasite chez les chiens (7-9 mois) et le fait que la plupart des chiens infectés sont asymptomatiques pendant des mois ou des années, il est difficile d'établir une courbe au cours de l'année pour la prévalence (**Mc.Call J., 2008**). *Dirofilaria immitis* est un parasite zoonotique mais les infections

humaines sont rares. L'homme peut être infesté par les vecteurs et pas directement par le chien. **(Geffray l., 2001 ; Trees A., 1999).** Dans le diagnostic de la dirofilariose par l'utilisation de test ELISA, des réactions faussement négatives peuvent se produire en cas de faible infestation (moins de 5 filaires, en présence de parasites immatures (période prépatente), et en présence de parasites mâles. Les antigènes solubles circulants émanent principalement du tractus génital femelle **(Atkins C.E., 2003).**

II.2. Les vecteurs

Nous avons pu effectuer, dans la région de Tiaret, un certain nombre d'observations concernant l'écologie de quelques espèces de moustiques. Les méthodes que nous avons employées (pièges adhésifs et pièges lumineux) peuvent donner des résultats sensiblement différents, en fonction de la technique utilisée, de la nature du gîte, du lieu de prélèvement et de l'accessibilité de ce dernier, le climat, le jour de piégeage. D'après nos résultats nous avons rencontrés, par ordre de fréquence : *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. Ces espèces sont répandues dans toute l'Afrique méditerranéenne, d'Est en Ouest (**Hassaine, 2002)**. Elles sont très bien adaptées au climat de Tiaret puisqu'elles sont constantes dans la région de Tiaret, et abondontes.

Culiseta longiareolata est capable de se développer dans 18 gîtes différents, a l'intérieur de six habitats distinct. Cette espèce présente une grande aptitude à coloniser des biotopes naturels ainsi que les gîtes artificiels, différents par leurs caractéristiques physiques **(Messai et *al.*, 2010 ; Hassaine, 2002).** *Culiseta longiareolata* peuple les gîtes les plus divers, mais avec des fréquences moins importantes que *Culex pipiens.* Son optimum écologique est atteint dans les eaux

claires **(Himmi, 2007 ; Hassaine, 2002)**. En outre, cette espèce a été récoltée par **Hassaine (2002)** dans les eaux riches en matière organique. Ceci ne concorde ni avec les données trouvées par **Louah (1995)** ni avec notre étude. De plus, *Cs. longiareolata* ne pique pas l'homme et son rôle vectoriel est donc réduit .

Culex pipiens est le moustique le plus fréquent dans le monde. C'est un moustique ubiquiste capable de s'adapter à différents biotopes ; il se développe aussi bien dans les milieux urbains que ruraux, dans les eaux polluées que propres à haute température, ainsi colonise surtout les eaux douces riches en matières organiques d'origine végétale (**Messai et a*l.*, 2010 ; Faraj et *al.*, 2006).** *Cx. pipiens* est une espèce largement représentée dans la région afro-tropicale ; elle occupe les zones les plus fraîches (Ethiopie, hauts plateaux malgaches). Sa grande plasticité écologique et morphologique est à l'origine des nombreuses descriptions dont il a fait l'objet sous des noms très divers. Les femelles piquent de nuit tous les vertébrés à sang chaud; elles prennent leur repas surtout à l'intérieur des habitations. Dans certaines agglomérations gérant mal les eaux usées, *Cx. pipiens* peut être une nuisance de première importance**. (Hassaine, 2002 ; Krida G., Rhaiem A., et al., 1998 ; Abdel-malek A., 1956).** Dans notre étude, *C. pipiens,* est présente dans plusieurs sites, avec des fréquences relativement faibles par rapport à *Culiseta longiareolata* qui semble avoir pris de l'ampleur et domine de plus en plus. Cela pourrait s'expliquer par la caractéristique carnivore des larves de *Culiseta longiareolata.* En effet, **Shaalan E.A**. (**2012**), note que les larves de *Culiseta longiareolata* consomment des larves de 4^{e} stade de *Cx. Pipiens* que le 2^{e} stade larvaire, de plus il constate que la prédation des larves de *Cx. longiareolata* est dirigée vers les larves de *Cx. Pipiens* car ces dernières

présenteraient différentes postures à la surface de l'eau. De plus, leur adaptation aux températures basses (hiverner) serait aussi une explication à leur présence en grand nombre **(Shaalan E.A., 2012)**.

II.3. La capacité vectorielle

L'étude de **Lai *et al.*, 2000** sur *Ae. albopictus* à *culex quinquefasciatus*, note qu'*Ae. albopictus* apparaît comme un vecteur moins efficace que *Cx. quinquefasciatus*. En effet, les moustiques meurent plus rapidement après l'infestation en moyenne 3 jours après l'ingestion des microfilaires. Ces résultats indiquent que les moustiques ingèrent plus de microfilaires quand le repas sanguin contient plus de microfilaires. Par contre, le taux d'infection et le nombre de L3 n'augmentent pas en fonction de la densité des microfilaires, ce qui indique qu'il y a un nombre limité de larves qui peuvent se développer dans les moustiques. Plusieurs hypothèses ont été proposées afin d'expliquer cette limitation au développement larvaire comme le développement d'une réponse immunitaire contre les microfilaires par les moustiques, ainsi que la mélanisation ou l'encapsulation de ces microfilaires (**Chen G., 1995 ; Bradley, 1985 ; Christensen B., 1984**). Les tubes de Malpighi des moustiques jouent un rôle central dans l'excrétion et la régulation des ions et de l'eau de l'hémolymphe **(Pannabecker T., 1995).** Quand les moustiques sont infectés par *D. immitis*, les microfilaires ingérées migrent de l'intestin moyen, vers les cellules primaires des tubes de Malphigi où elles deviennent intracellulaires **(Bradley T., 1987)**. Les larves en développement détruisent les cellules primaires et interrompent l'excrétion et la régulation de l'eau et des ions de l'hémolymphe des moustiques. Un faible nombre de larves affecte moins le processus

d'excrétion des moustiques **(Palmer C., 1986)**. Ainsi, plus le nombre de microfilaires ingérées est important, plus les moustiques meurent rapidement. Ainsi, une faible densité de microfilaires parmi les chiens infestés est le facteur majeur contribuant à la transmission de *D. immitis* des chiens vers *Ae. Albopictus.* Cependant, l'index d'efficacité défini comme le pourcentage de développement de L3 en fonction du nombre de microfilaires ingérées est supérieur pour *Ae. albopictus.* Cette étude montre donc qu'au Japon, *Ae. albopictus* est un vecteur potentiel de *D. immitis*. Cette transmission semble néanmoins controversée. En effet, certains auteurs soulignent que *Ae. albopictus* est réfractaire au développement des microfilaires **(Apperson C., 1989**) ou montrent l'absence de *D. immitis* dans des spécimens collectés dans une région enzootique au Brésil **(Ahid S., 1999).** D'autres montrent qu'il existe une susceptibilité partielle **(Konishi E., 1989).** En 1995, à la Nouvelle Orléans, cette transmission avait déjà été prouvée pour 3 sur 163 *Ae. albopictus* par la mise en évidence de larves de microfilaires infectants les tubes malpighiens **(Comiskey N., 1995).** La compétence vectorielle d'*Ae. albopictus* a été démontrée au laboratoire au Japon, aux Etats-Unis et en Italie **(Cancrini G., 2003; Nayar J., 1999 ; Comiskey N., 1995)**. De plus, de l'ADN de *D. immitis* a été retrouvé dans des moustiques collectés sur le terrain (**Vezzani D et al., 2011 ; Yildirim A. et al., 2011 ; Norma Labarthe, et al., 1998**). Il reste à prouver la capacité vectorielle d'*Ae. albopictus* à transmettre *D. immitis* dans des conditions naturelles. Selon **(Santaner G., 2013**), à l'heure actuelle, aucune étude française n'a été menée sur *Ae. albopictus,* vecteur de la dirofilariose. Néanmoins, la proximité avec l'Italie et le fait que certains auteurs prouvent qu'*Ae. albopictus* est un

vecteur potentiel, permet d'évoquer le fait qu'il est probable qu'*Ae. albopictus*, dès lors qu'il est présent dans un pays puisse transmettre *D. immitis.*

Peu d'espèces de moustiques sont responsables de la transmission de *Dirofilaria* à des animaux dans des conditions naturelles **(Otto & Jackowski 1981)**, notamment les genres *Aedes, Culex, Anophèlès,* et *Mansonnia*.

D. immitis a été isolée à partir de *Cx. Pipiens,* au **Etats Unis** et au **Quebec** (**Canada**) (4) (**Shaoming Huang et al., 2013 ; Bolaji Nelson Akande**, **1977**). Le rôle vecteur de *Culex pipiens* a également été prouvé en **Argentine** (**Vezzani D. et *al*., 2011),** en **Turquie**, (**Yildirim A. et al., 2011**), au **Portugal,** (**C.A. Costa Ferreira et *al.*, 2015**), en **Espagne**, en **France (Perrin Y.,)** et enfin en **Hongrie** (**Attila Trajer, 2015**).

II.4. Le climat :

Selon **Genchi C., 2009**), le changement climatique facilite l'introduction des nouveaux vecteurs de filaires dans ces régions, et représente un développement possible de *D. immitis* en Europe selon l'interpolation linéaire de Krigeage si les températures actuelles et prochaines s'apparentent à celles des quinze dernières années.

La mise en évidence qu'*Ae. albopictus* pouvait être considéré comme vecteur de filaires, et notamment de *D. immitis*. En effet, après obtention de microfilaires de *D. immitis* prélevées sur 6 chiens infectés naturellement (densité des microfilaires de 2500 à 25 000 mff/ml dans le sang), *Ae. albopictus* est isolé dans un environnement proche de son milieu naturel (température = 26,5°C ± 0,5°C, hygrométrie = 80% ±

5%, 16 h de lumière). Cinq à sept jours après la capture, les moustiques sont privés de nourriture pendant 20 h. Ils piquent ensuite, pendant 30 minutes à travers une membrane contenant le sang des chiens contaminés, prélevés précédemment. D'autres *Ae. albopictus* se nourrissent de sang de chien sain et sont donc les témoins négatifs. **(Lai C., 2001).** Les changements environnementaux et climatiques, en cours et à venir, pourraient favoriser la survenue de maladies vectorielles dans la région en induisant des modifications sur les populations culicidiennes.

Quand la moyenne mensuelle des températures maximales quotidiennes est supérieure à +12,5°C toute l'année, la zone peut être considérée comme favorable à la survie de Culicidés. Si cette moyenne n'est supérieure à 12,5°C que pendant 7 mois, selon les saisons, des Culicidés seront retrouvés.

La richesse spécifique des *Culicidae* en Afrique Méditerranéenne diminue en fonction de l'altitude (**Hassain, 2002**). Cet auteur à récolter 48 espèces entre 0 et 100 m d'altitude et 20 espèces entre 1000 et 1500 m. Les résultats de la variation spatio-temporelles ont montré que l'espèce *Culex pipiens* se manifestent 12 mois au cours de la période d'étude, ces résultats collaborent avec ceux de **Hadj et *al.*, 2013**, montre que le genre *Culex* qui persiste durant toutes les saisons. *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* se développent, dans certain gites pendant l'hiver. Ce fait rare, pourrait être expliqué par le réchauffement climatique traduit en Afrique du Nord par des hivers plus doux, notamment pendant cette dernière décennie (**Walker et Lynch, 2007**). Ainsi les réchauffements de certains gîtes constituent un handicap au développement larvaire.

Hassain (2002) a montré que *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* sont des espèces à très large répartition au niveau de l'Afrique méditerranéenne, ceci explique que *Cx. pipiens* présente une abondance relative de 22,26 % et *Cs. longiareolata* avec un taux de 24,41%. Les résultats de l'abondance relative révèle que *Cs. longiareolata* est l'espèce qui présente l'effectif le plus élevé au niveau de différents sites, suivie de *Cx. pipiens* et *Cx. pipiens molestus* (**Tine-Djebbar, 2009**). **Messai *et al.* (2011**) ont montré la même dominance pour *Culex pipiens* avec une abondance relative de 61,14% et 15,06% pour *Culiseta longiareolata* et en 3ème position *Anophele labranchiae* avec une abondance 9,25 %. Nos résultats concordent avec ceux de **Hamaidia (2004)** qui mentionne que les trois espèces *Cs. longiareolata, Cx. pipiens* et *Cx. theileri* sont les plus représentée au niveau des deux régions du Nord-Est Algérien (Souk-Ahras et Tébessa).

Les composantes physico-chimiques d'une eau peuvent jouer un rôle primordial, non seulement dans la biologie d'une espèce mais aussi dans la structure et la dynamique de la biocénose toute entière (**Berchi, 2000**). Le développement des Culicidae est conditionné par la température et par la composition biologique ou chimique de l'eau (**Messai et *al.*, 2011**). Les résultats obtenus dévoilent l'importance des paramètres physico-chimiques sur l'apparition de la fluctuation des populations larvaires des moustiques notamment le *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. De même, la température reste primordiale quant à l'accentuation de la vitesse de développement du moustique (**Hadj et *al.*, 2013).**

En Algérie, **Senevet et Andarelli (1959**) relatent une variation du cycle annuel d'une région à l'autre : dans le Tell, l'espèce est présente toute l'année, avec un maximum au

printemps ; sur les hauts plateaux, elle abonde surtout en automne, alors que dans les régions sahariennes, elle est plutôt hivernale et printanière.

Les populations culicidiennes de la région étudiée adoptent trois types de cycles annuels de développement : un développement continu automno-hiverno-printanier (*Culex pipiens, Culiseta longiareolata*) *avec* 4 à 9 phases d'éclosion par an et un débordement possible sur la période estivale (*C. pipiens*) ; un développement continu automno-hivernal (*Aedescaspius* et *Aedes detritus*) avec un total de quatre phases d'éclosion et des abondances nettement fortes en automne et un développement discontinu (automnal et printanier) interrompu en hiver (*Culex theileri, Culiseta subochrea* et *Uranotaenia unguiculata*), avec 1 à 4 phases d'éclosion par saison. **(O. Himmi, et *al.*, 1998).**

Un certain nombre d'autres critères est ensuite à prendre en considération pour évaluer l'importance relative de chacune des espèces considérées comme capables de transmettre une maladie : abondance de l'espèce dans une zone écologique donnée, sa longévité, ses préférences trophiques, etc...La compétence vectorielle associée à ces facteurs «extrinsèques» constituent la capacité vectorielle. Pour un système vecteur/parasite donné, elle n'a de sens que dans un environnement défini, et donc, notamment, à une saison précise, en un lieu déterminé (**Rhodain, 1991**). Certaines espèces sont d'excellents vecteurs mais trop rares pour jouer un rôle important dans l'apparition de l'épizootie (par exemple, *Aedes ochraceus* doit probablement avoir un rôle épidémiologique insignifiant au Sénégal à cause de sa faible abondance (**Wilson, 1994),** ou alors ils vont être importants seulement au début d'une épizootie. A

l'opposé, des vecteurs à priori peu compétents peuvent néanmoins jouer un rôle si leur écologie (par exemple une très grande abondance) est très favorable à la transmission (**Rhodain, 1991**).

De plus, une augmentation de la température entraîne un métabolisme plus important et un taux de survie journalier plus grand du vecteur (**Mellor et Leake, 2000**), un raccourcissement de la durée de vie des stades pré imaginaux, une augmentation du nombre de repas de sang et de pontes, ainsi qu'une diminution de la durée du cycle extrinsèque de l'agent pathogène (temps de développement à l'intérieur du moustique) (**Rhodain *et al*, 2003**). La recherche de l'hôte par les femelles est reliée à une certaine température au crépuscule. Lorsque cette température diminue, l'activité des femelles diminue (**Ponçon, 2003**).

Turell (1989) a montré expérimentalement l'importance de la température sur la capacité vectorielle, les conditions optimales de transmission étant obtenues aux plus hautes températures testées. Par contre, la température ne paraît pas avoir d'influence sur le taux d'infection. Plus tard, il a montré qu'au contraire le taux d'infection des femelles adultes *Culex pipiens* d'origine égyptienne augmentait de manière significative avec la température (**Brubaker et Turell, 1998**).

L'influence de la Photopériode sur le pourcentage d'entrée en diapause des oeufs d'*Aedes*. Chez quelques espèces anautogènes (espèces de moustiques où les femelles nécessitent un repas de sang pour la formation des oeufs), comme les souches hématophages de *Culex pipiens*, l'exposition à certaines photopériodes conduit les femelles moustiques à entrer en diapause, et stoppe du même coup leur développement ovarien (**Clements, 1992**). Les œufs d'*Aedes* qui n'éclosent pas subissent un

phénomène de diapause induit par des conditions particulières, essentiellement une baisse des températures (**Horsfall**, **1956**).

MacHaffey (1972) a étudié plus précisément les facteurs influençant le pourcentage d'entrée en diapause d'œufs d'*Aedes vexans* à Washington (USA). Il a montré qu'à 32°C, la photopériode n'a pas d'influence sur l'entrée en diapause des œufs, alors qu'à 25°C, le pourcentage d'entrée en diapause augmente si la photopériode diminue. Il a également observé que des températures basses entraînaient une augmentation de ce pourcentage. L'éclosion des œufs en diapause est favorisée par une diminution soudaine des températures, comme cela se passe souvent lors d'une pluie (**Horsfall, 1956 ; Mondet, 2005).**

La Pluviométrie conditionne la présence, la taille et la persistance des gîtes de ponte et des gîtes larvaires (**Mellors et Leake, 2000**). Le stimulus d'éclosion des oeufs le plus efficace est la désoxygénation de l'eau de pluie qui se réalise au moment où celle-ci entre en contact avec le sol (**Mondet *et al*, 2005**).

A une haute température, une forte humidité tend à augmenter le taux de survie et la capacité de dispersion active (**Mondet, 1999**) du vecteur mais elle favorise aussi le développement de bactéries ou de champignons pathogènes pour celui-ci. Une faible humidité, au contraire, diminue le taux de survie du vecteur mais peut entraîner une augmentation du nombre de prises de repas de sang dans certains cas (**Mellors et Leake, 2000**).

Une étude a montré que le développement des *Culex pipiens* était favorisé lorsque leur gîte larvaire se situait dans des biotopes riches en feuilles mortes, qui forment une litière riche en matières organiques (**Wynn et Paradise, 2001**). En effet, un tel milieu

favorise la multiplication de bactéries qui, avec les particules organiques constituent l'alimentation des larves. Une augmentation de la biomasse végétale favorisera une augmentation de la taille des larves, puis des adultes, entraînant une meilleure fécondité des femelles, ainsi qu'une augmentation du taux de survie des mâles et des femelles. Une augmentation de l'apport organique favorise aussi une diminution du temps de développement larvaire et une augmentation du nombre de moustiques adultes.

En conclusion, selon les régions, les concentrations mensuelles en insectes vecteurs ne seront pas les mêmes d'un endroit à l'autre à cause de la variabilité des paramètres que nous venons d'énumérer.

Partout, le besoin permanent en eau des hommes, pour développer l'agriculture et l'élevage, les a poussés à modifier profondément leur environnement écologique. L'inondation artificielle ou l'aménagement des oueds doivent certainement entraîner une variation des populations de moustiques et perturber la dynamique naturelle des vecteurs, qui ne devient plus uniquement dépendante des événements pluvieux. Cette influence importante de l'activité humaine sur l'épidémiologie de la maladie, rend son étude d'autant plus difficile.

Notre présente étude semble révéler que les chiens à Tiaret (Algérie), ne présentent pas un grand risque d'infection par *Dirofilaria immitis.* La connaissance épidémiologique de la dirofilariose humaine est encore mal connue. Des études ont mis en évidence une variété de facteurs favorisant la transmission qui changeaient considérablement d'une région à une autre. Ainsi certaines régions étaient endémiques pour la dirofilariose

canine (50% de chiens infectés) alors que dans d'autres régions géographiques, les chiens ne sont pas infectés **(Luzon-Pena et Gomez-Bautista, 1993)**.

Dans la région de Tiaret, bien que l'espèce vectrice de *D. immitis* (**C.A. Costa Ferreira et *al.*, 2015 ; Attila Trajer, 2015 ; Shaoming Huang et *al.*, 2013 ; Vezzani D. et *al.*, 2011, Yildirim A. et *al.*, 2011 ; Bolaji Nelson Akande**, **1977**) a été isolée (*Cx pipiens*) et de manière constante, Il semblerait que tous les facteurs ne sont pas réunis pour lui permettre la transmission de la filaire aux chiens vivant dans cette région.

CONCLUSION

Le chien qui est considéré comme le plus proche compagnon de l'homme, sa capacité à développer des expressions affectives, et sa remarquable intelligence ajoutée à son instinct naturel pour assister ou aider l'homme dans ses activités quotidiennes, lui a valu une place de choix dans sa cohabitation avec l'homme.

En Afrique et plus particulièrement en Algérie, l'utilité du chien varie en fonction de la zone où il se trouve. En milieu rural, le chien remplit la mission de protecteur des bétails, et participe activement à la chasse pour traquer ou pister le gibier. Tandis qu'en milieu urbain, son intérêt est beaucoup plus étendu du fait de son aptitude à répondre efficacement aux besoins de son maître.

Mais tout comme les autres animaux, le chien est souvent exposé à certaines pathologies et parmi ces pathologies on note la dirofilariose canine.

Le diagnostic de cette infestation fait appel, outre les manifestations cliniques, à une technique qui repose sur la recherche directe du parasite sur frottis sanguin. Etant donné la gravité de cette pathologie pour le chien, l'application des mesures préventives (prophylaxie sanitaire et médicale) demeure une alternative de choix pour endiguer le risque éventuel d'une infestation par le vecteur responsable**.**

Mais la mise en place de ces mesures nécessite une connaissance approfondie de l'épidémiologie de cette maladie. Or en Algérie, cette parasitose n'a pas fait l'objet de grandes investigations, ce qui témoigne en l'occurrence de l'absence de nombreuses informations relatives à cette pathologie. C'est pourquoi, pour effectuer une meilleure prise en charge des chiens, cette connaissance s'avère indispensable.

C'est dans ce contexte que nous avons réalisé cette étude qui s'est fixée comme objectifs d'évaluer la prévalence de la dirofilariose canine dans la région de Tiaret (Algérie) et isoler et identifier le ou les vecteurs du parasite.

Les travaux de terrain ont été réalisés durant une période de 5ans, Ainsi, nous avons travaillé sur 1300 chiens de différents âges, sexe, et races, provenant de différentes régions de la wilaya de Tiaret.

Les prélèvements sanguins ont été effectués au niveau de la veine auriculaire et céphalique pour des examens de laboratoire sur l'examen de frottis sanguins, un test sérologique (Witness leishmania) et une étude nécropsique. Au terme de cette étude nous avons obtenu des résultats suivants :

-La prévalence de la dirofilariose canine dans la région de Tiaret est de 0 %. Mais cette prévalence pourrait varier pour plusieurs raisons;

-L'urbanisation accélérée et non planifiée constitue un facteur de risque pour la dissémination de la maladie, elle contribue à l'extension des foyers ruraux vers les villes (**OMS, 2002**). La dynamique démographique soutenue qu'a connue la région de Tiaret est à l'origine d'importants changements dans le domaine de l'habitat et de l'urbanisme qui ont engendré de multiples problèmes de dysfonctionnement et de gestion. Ces problèmes sont matérialisés, entre autres, par la multiplication progressive et les extensions, quelquefois démesurées, des espaces urbains, par l'exode rural vers le centre ville de la wilaya, par l'insuffisance des équipements publics et de l'infrastructure de base et par le développement de l'habitat anarchique et insalubre.

Les espèces isolées sont *Cx pipiens* connue pour son rôle vecteur de *D. immitis* et *Cs. Longeroleata*. L'étude de la répartition de vecteur en fonction des habitats montre une condensation qualitative et quantitative des moustiques dans les douars. Le nombre de douars est très élevé. Ils se caractérisent par un habitat à patio sur une trame lâche ou insalubre. Hormis les douars ruraux originels qui ont été intégrés dans l'extension du périmètre urbain, les autres ont été constitués clandestinement de manière anarchique par des occupants à faibles revenus dont la majorité est issus de l'exode rural. Les mouvements des populations rurales vers la ville constituent un autre facteur de risque important qui favorise l'urbanisation des maladies (**OMS, 2002; Desjeux, 2004**).

Les populations des douars amènent avec elles des animaux domestiques et procèdent même à des élevages de bétail sur place. Dans ces milieux, en plus de la présence humaine et animale, l'environnement offre une richesse en matière organique et un abri. Ces conditions constituent un habitat de choix pour les vecteurs. Les matières organiques telles que la bouse de vache offrent un terrain idéal aux moustiques, tant pour la ponte que comme gîtes larvaires (**OMS, 2002**).

RECOMMANDATIONS

Les limites de cette étude nous conduisent à apporter un certain nombre de recommandations :

- Les fiches de consultations de la clinique apportent de nombreuses informations concernant l'animal et l'examen clinique proprement dit. Mais certaines sont remplies de façon incomplète, d'où la nécessité de veiller au bon remplissage des fiches par les étudiants au cours des séances de travaux pratiques cliniques.
- Les rapports trimestriels et semestriels résument les activités de la clinique en une période bien précise, la rédaction régulière de ces rapports permettra d'obtenir des informations continues sur les cas consultés. Ils constituent le bilan des activités de la clinique vétérinaire au cours d'une période bien déterminée.
- Sensibiliser les propriétaires sur l'intérêt des consultations vétérinaires lors des premiers signes d'une affection quelconque, cela permettra d'avoir un diagnostic aisé et le cout du traitement sera moindre,
- Recourir aux analyses de laboratoires pour confirmer le diagnostic clinique afin d'appliquer un traitement efficace,
- Informer les propriétaires des animaux sur l'aspect zoonotique de certaines pathologies et conseiller un contrôle parasitologique chaque année (frottis sanguins, ou sérologie selon les moyens disponibles)
- Il faut assurer un minimum de confort aux chiens (habitat adéquat et propre),
- Effectuer la vaccination et le déparasitage régulier des animaux et organiser des campagnes de vaccination de masse des chiens domestiques,
- Recenser la population canine afin de connaître et de mettre en œuvre les mesures d'éradication des chiens errants et des risques qu'ils peuvent représenter pour la santé publique (réservoir des maladies).

PERSPECTIVES :

Durant notre étude aucun cas clinque de dirofilariose n'a été détecté. Il semble donc que les chiens examinés durant notre étude étaient indemne de *Dirofilaria immitis.* Ainsi l'hôte définitif ne semble pas actuellement représenter un risque pour la santé publique. Toutefois comme précisé dans les recommandations, il serait judicieux de réaliser des contrôles parasitologique annuellement sur tous les chiens ramenés en consultation, ce qui nous permettrait de dépister assez précocement le ou les premier(s) cas de dirfilarionse canine dans la région. L'anamnèse orientera le vétérinaire sur la possibilité de l'introduction du parasite d'une certaine région vers la région de Tiaret.

Par contre, les perspectives de recherche sur cette maladie seront d'axer nos investigations sur le vecteur de la maladie. En effet, la confirmation de ce rôle vectoriel n'a pas été faite durant notre étude et il serait donc très approprié de rechercher les microfilaires de *D. immitis* dans le vecteur par une étude parasitologique (mise en évidence des larves) et/ou rechercher l'ADN du parasite par PCR.

- A -

1. **Ahid SM, Lourenco-de-Oliveira Rsaraiva LQ (1999).** Canine heartworm on Sao Luis Island, Northeastern Brazil: a potential zoonosis. *Cad Saude Publica* **15**(2): 405-412
2. **Aissaoui, A., & Boudjelida, H. (2014).** Larvicidal activity and influence of Bacillus thuringiensis (Vectobac G), on longevity and fecundity of mosquito species. *Eur. J. Exp. Bio*, *4*, 104-109.
3. **Akande, B.N. (1977).** Incidence of Dirofilaria immitis and Dipetalonema reconditum in Illinois and a Study of Potential Mosquito Vectors of Dirofilaria immitis. *Master's Theses*. Paper 2926. (http://ecommons.luc.edu/luc_theses/2926)
4. **F., Abramo, F., Braglia, C., Caporali, C., Venco, L., Vercelli, A., & Otranto, D. (2013).** Nodular lesions due to infestation by Dirofilaria repens in dogs from Italy. *Veterinary dermatology*, *24*(2), 255-e56.
5. **Alho, A.M., Landum, M., Ferreira, C., Meireles, J., Goncalves, L., de Carvalho, L.M., & Belo, S. (2014)**. Prevalence and seasonal variations of canine dirofilariosis in Portugal. *Veterinary parasitology*, *206*(1), 99-105.
6. **Alho, A.M., Schnyder, M., Meireles, J., Belo, S., Deplazes, P., & de Carvalho, L.M. (2014).** Preliminary results on the seroprevalence of Angiostrongylus vasorum and co-infection with Dirofilaria immitis in shelter dogs from Portugal.*Parasites & Vectors*, *7*(1), 1.
7. **Allain, D.S.; Kagan. I.G. ; Schlotthauer, I.C. (1972).** Serologie sutides on dogs experirnentally infected with D. immitis of Florida - *Gainesville : 1972 ; 69 - 76 P.*
8. **Alves, L.C., Silva, L.V.D.A., Faustino, M.A.D. G., McCall, J.W., Supakonderj, P., Labarthe, N.W., & Caires, O. (1999).** Survey of canine heartworm in the city of Recife, Pernambuco, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, *94*(5), 587-590.
9. **Anane, S. (2006)**, May). Les étiologies parasitaires d'une hyperéosinophilie sanguine. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 64, No. 3, pp. 219-229).
10. **Anonyme, (2000)** - W.R.B.U, 2000.
11. **Anonyme, (2002)** - Ministère de l'Agriculture et de la pêche de France.
12. **Anonyme, (2003)** - Organisation mondiale de la santé. *Arch. Inst. Pasteur Algérie, 34 :223- 226.*

13. **Apperson C.S., Engber Blevine J.F. (1989).** Relative suitability of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in North Carolina to support development of *Dirofilaria immitis*. *J Am Mosq Control Assoc* **5**(3): 377-382.
14. **Atkins C.E. (2003).** Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. *J Am Vet Med Assoc* **222**(9): 1221-1223

-B -

15. **Bailey, R.W**. (1958). Dirofilariasis in sentry dogs of the pacific air force. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *133*(1), 48-51.
16. **Basset, D., & Sauguet, P. (2016).** Dirofilaria et dirofilarioses. *Revue Francophone des Laboratoires*, *2016*(483), 37-44.
17. **Basset, D., Bonnin, A., Delaunay, P., Guiguen, C., De Gentile, L., Kauffmann-Lacroix, C., & Pays, J.F. (2010).** C.D.rom ANOFEL 4.
18. **Basten, A. & Beeson, R.B.** Mechanison of easinaphilia. II role of the lymphocyte. *The Journal of experimental medicine*, *131*(6), 1288.
19. **Baumgartner, C., & Glaus, T. M. (2004).** Erworbene Herzerkrankungen beim Hund: Eine retrospektive Analyse. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, *146*(9), 423-430.
20. **Bebba, N. (2004).** Etude comparative des effets des insecticides sur les populations larvaires de Culicidae de Constantine et Oued Righ (Touggourt et Djamâa). *Mémoire Magistère*, 179.
21. **Bellier, S., & Cordonnier, N. (2010).** Les valeurs usuelles en hématologie vétérinaire. *Revue francophone des laboratoires*, *2010*(420), 27-42.
22. **Benhissen, S**., **Habbachi, W., Mecheri, H., Masna, F., Ouakid, M.L., & Bairi, A. (2014).** Spinosad effects on mortality and reproduction of Culex pipiens (Diptera; Culicidae). *Advances in Environmental Biology*, *8*(24), 18-22.
23. **Benmahdi Meriem-Hind, .M., & Mohamed, M. (2009).** Prevalence of canine Dirofilaria immitis infection in the city of Algiers, Algeria. *African Journal of Agricultural Research*, *4*(10), 1097-1100.
24. **Berchi S., (2000).** Bioécologie de culex pipiens L. (Diptera : Culicidae) dans la région de constantine et perspectives de lutte. Thèse Doc. Es. Scien. Univ. Constantine : 133p.
25. **Berthélémy, S. (2014).** L'hémogramme ou numération-formule sanguine.*Actualités Pharmaceutiques*, *53*(538), 53-55.
26. **Bibaloud F.D., (1993).** Contribution à l'Etude du Diagnostic Sérologique de la Dirofilariose canine à Dirofilaria irnnlitis par l'ELISA. Thèse de Docteur Vétérinaire.

Universite Cheikh Anta Diop -·Dakar. Ecole Inter-Etats Des Sciences Et Medecine Veterinaires . N° :4.4-47p.

27. **Bidgood, A., & Collins, G.H. (1996).** The prevalence of Dirofilaria immitis in dogs in Sydney. *Australian veterinary journal*, *73*(3), 103-104.
28. **Boonyapakorn, C., Srikitjakarn, L., Morakote, N., & Hoerchner, F. (2008).** The epidemiology of Dirofilaria immitis infection in outpatient dogs at Chiang Mai University small animal hospital, Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, *39*(1), 33.
29. **Bouabida, H**., **Djebbar, F., & Soltani, N. (2012).** Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique-Faunistic Entomology*. **65,** 99-103.
30. **Boudemagh, N., Bendali-Saoudi, F., & Soltani, N. (2013).** Inventory of Culicidae (Diptera: Nematocera) in the region of Collo (North-East Algeria). *Annals of Biological Research*, *4*(3), 1-6.
31. **Bourassa, J.P., (2000)** - Le Moustique : par solidarité écologique. *Les Éditions du Boréal. Montréal, 237 p.*
32. **Boysson, H., Duhamel, C., Heuzé-Lecornu, L., Bonhomme, J., & de La Blanchardière, A. (2012).** Dirofilariose humaine: un nouveau cas français à Dirofilaria repens. *La Revue de médecine interne*, *33*(4), e19-e21.
33. **Bradley Tjnayar J.K. (1987).** An ultrastructural study of *Dirofilaria immitis* infection in the Malpighian tubules of *Anopheles quadrimaculatus*. *J Parasitol* **73**(5): 1035-1043
34. **Brubaker, J.F., & Turell, M.J. (1998).** Effect of environmental temperature on the susceptibility of Culex pipiens (Diptera: Culicidae) to Rift Valley fever virus.*Journal of medical entomology*, *35*(6), 918-921.
35. **Brunhes, J., Le Goff, G., & Geoffroy, B. (1999).** Afro-tropical anopheline mosquitoes. III. Description of three new species: Anopheles carnevalei sp. nov., An. hervyi sp. nov., and An. dualaensis sp. nov., and resurrection of An. rageaui Mattingly and Adam. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *15*(4), 552-558.

-C –

36. **Cancrini G, Kramer LH. (2001).** Insect vectors of *Dirofilaria spp*, in Heartworm Infection in Humans and Animals. Simón F, Genchi C, Eds. *Ediciones Universidad Salamanca : Salamanca, Spain : p. 63–76*

37. **Canini, L. (2010).** Les zoonoses en France : évaluation des connaissances des médecins et vétérinaires. Thése exercice, Medecine Vétérinaire, Toulouse 3, 185p.
38. **Cardoso L, Mendão C, Madeira de Carvalho L. (2012).** Prevalence of *Dirofilaria immitis, Erlichia canis, Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma* spp. And *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal – a national serological study. *Parasites & Vectors, 5, 1–9.*
39. **Chen G, Li J, Hu Wxu L (1995).** [Studies on amino acid and chemical element in five species of filariae]. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi* **13**(1): 39-41
40. **Cheylan, J. (2014).** Apport de la tomodensitométrie dans le diagnostic de l'hypertension pulmonaire chez le chien : Mesure des diamètres du tronc pulmonaire et de l'aorte ascendante dans une étude préliminaire chez le chien. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale
41. **Christensen BM, Sutherland Drgleason LN (1984).** Defense reactions of mosquitoes to filarial worms: comparative studies on the response of three different mosquitoes to inoculated *Brugia pahangi* and *Dirofilaria immitis* microfilariae. *J Invertebr Pathol* **44**(3): 267-274
42. **Ciocan, R. (2010).** Morphometric study of microfilariae of Dirofilaria spp. On dogs. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, *67*(2).
43. **Clastrier, J., & Senevet, G. (1961)**. Les moustiques du Sahara Central. *Arch Inst Pasteur Algérie*, *39*, 241-253.
44. **Coldrey J. & G. Bernard., (1999).** Le moustique. Les Éditions École Active. Montréal, 25 p.
45. **Comiskey Nwesson D.M. (1995).** *Dirofilaria (Filarioidea: Onchocercidae*) infection in *Aedes albopictus (Diptera: Culicidae*) collected in Louisiana. *J Med Entomol* **32**(5): 734-737cuticu1ar extract of dip. Vitae adu1ts worms.J. of. Parasitology : 1975 ; 61 (5L 785 – 793 P.
46. **Cordonnier, C., Chatelain, D., Nevez, G., Sevestre, H., Gontier, M.F., & Raccurt, C.P. (2002).** Problèmes soulevés par le diagnostic de la dirofilariose humaine à distance d'une région enzootique connue. *La Revue de médecine interne*, *23*(1), 71-76.

47. **Courtney, C.H., & Zeng, Q.Y. (2001).** Comparison of heartworm antigen test kit performance in dogs having low heartworm burdens. *Veterinary Parasitology*,*96*(4), 317-322.

48. Chanteau, S., Nato, F., & Migliani, R. (2003). L'intérêt des tests rapides par immunochromatographie pour la surveillance des maladies a caractere épidémique dans les pays en développement: l'exemple de la peste a Madagascar. *Medecine Tropicale*, *63*(6), 574-576.

-D –

49. **Dalia, L. (2009).** *Caracterisation des peuplements de culicidae ornithophiles impliqués dans la transmission du virus west nile dans les zones humides du*(Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar de Annaba).

50. **Demiaszkiewicz, A. W., Karamon, J., & Jasik, A. (2013).** Case of Dirofilaria repens in a testis of a dog. *Medycyna Weterynaryjna*, *69*(2), 124-127.

51. **Denham, D. A., & McGreevy, P. B. (1977).** Brugian filariasis: epidemiological and experimental studies. *Advances in parasitology*, *15*, 243-309.

52. **Denis, C. 1967).** Emploi de particules d'acryl dans le sérodiagnostic de la toxoplasmose. *Pathobiology*, *30*(6), 981-988.

53. **Develoux, M. (2005).** Prélèvements parasitologiques en dermatologie. *EMC-Dermatologie-Cosmétologie*, *2*(4), 161-169.

-E -

54. **Euzeby, J**. Maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs conséquences sur la pathologie humaine.Vol 1, némathelminthes, *Vigot* Frères 1961.

-F -

55. **Fain, A. (1947**). Répartition et étude anatomo-clinique des filarioses humaines dans le territoire de Banning ville (Congo Belge). Annales de la sociéte Belge de Medecine Tropicale. Extrait .Tome XXVII, N° 1.

56. **Faraj C., Elkohli M., lyagoubi M., (2006).** Cycle gonotrophique de Culex Pipiens(Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Entomo. Med. 2846 : 119-121.*

57. **Favia, G., Lanfrancotti, A., Della Torre, A., Cancrini, G., & Coluzzi, M. (1996).** Polymerase chain reaction—identification of Dirofilaria repens and Dirofilaria immitis. *Parasitology*, *113*(06), 567-571.

58. **Featherston, D. (1984).** Swimmers' itch in Lake Wanaka—an irritating problem. In *New Zealand Journal of Zoology* (Vol. 11, No. 1, pp. 97-97). PO Box 399, Wellington, New Zealand: Sir Publishing.

59. **Ferreira, C. A. C., de Pinho Mixão, V., Novo, M. T. L. M., Calado, M. M. P., Gonçalves, L. A. P., Belo, S. M. D., & De Almeida, A. P. G. (2015).** First molecular identification of mosquito vectors of Dirofilaria immitis in continental Portugal. *Parasites & vectors*, *8*(1), 139.

60. **Ferrg, l.G.** Attempt to Immunise dogs against infection of D. immitis. Gestschisft Bernahart Noche; 1937; 140 - 142 P.fi1ariasis. Medical conference on parasitic diseases.Bangkok Thailand, Mars 1966, 7 - Il P.

61. **Fife, E.H. (1971).** Advances in methodo1ogy for immune diagnosis of parasitic diseases. Exp. parasito1ogy 1971: 30 :132 - 164 P.

62. **Foreyt, W. J., & Lagerquist, J.E. (1991).** Serological survey for heartworm (Dirofilaria immitis) in dogs in Washington. *The Journal of parasitology*, 800-802.

63. **Forse, B. (2002)**. Que faire sans vétérinaire. Editions Quae. CIRAD. CTA . KHARTALA. Paris. France . p189.

64. **Fradin, E. (2009).** Introduction d'un chien dans un secteur hospitalier spécialisé en gériatrie. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2009, 20-39 p.

-G -

65. **Garcia, L.S. 2009).** Classification and nomenclature of human parasites. Feigin RD, Cherry J, Demmler-Harrison GJ, Kaplan SL. Feigin and Cherry's textbook of pediatric infectious diseases. *Philadelphia: Saunders/Elsevier*.

66. **Gasmi M; Harrat Z., (2009).** Le paludisme au Sahara algérien. *Bulletin de la société de pathologie exotique. Vol. 102, n°3, pp. 185-1920.*

67. **Genchi C, Rinaldi l, Mortarino M, Genchi mcringoli G. (2009).** Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Vet Parasitol* **163**(4): 286-292.

68. **Genchi, C., Bowman, D., & Drake, J. (2014).** Canine heartworm disease (Dirofilaria immitis) in Western Europe: survey of veterinary awareness and perceptions. *Parasites & vectors*, *7*(1), 206.

69. **Gortázar, C., Villafuerte, R., Lucientes, J., & Fernández-de-Luco, D. (1998).** Habitat related differences in helminth parasites of red foxes in the Ebro valley. *Veterinary parasitology*, *80*(1), 75-81.

70. Grandi, G., Z̆ivic̆njak, T., & Beck, R. (2007). Pathogenesis of Dirofilaria spp. infections. *Dirofilaria immitis*, 60-61.

-H -

71. **Hamaidia, H. (2004).** Inventaire et biodiversité des Culicidae (Diptéra-Nématocera) dans la région de Souk-Ahras et de Tébessa (Algérie). *Mém Mag. Université de Constantine. 152p*, *59*.

72. **Hassaine K., (2002).** Biogéographie et biotypologie des Culicidae (Diptera – Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne. Bioécologie des espèces les plus vulnérantes (*Aedes caspius, Aedes detritus, Aedes mariae et Culex pipiens*) de la région occidentale algérienne. Thése Doc d'état.Univ. Tlemcen : 203p.

73. **Hassouna, J.B., Jbir, I., Mezghani, B., El Amine, O., Zemni, I., Mrad, K., & Rahal, K. (2015).** Dirofilariose mammaire: à propos de deux nouveaux cas en Tunisie. *Médecine et Santé Tropicales*, *25*(3), 327-330.

74. **Healy, G.R., Kegan, I.G. (1961).** The preva1ence of fi1ariasis in dogs from Atlanta, Georgie, *J. of parasito1ogy, 47, P 290, 1961*

75. **Hernandez, J. (2011).** Diagnostic des affections respiratoires d'origine parasitaire chez le chien et le chat. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, *46*(1), 17-22.

76. **Hernández-Camacho, N.**, **Pineda-López, R., López-González, C.A., & Jones, R.W. (2011).** Nematodes parasites of the gray fox (Urocyon cinereoargenteus Schreber, 1775) in the seasonally dry tropical highlands of central Mexico. *Parasitology research*, *108*(6), 1425-1429.

77. **Himmi O., (2007).** Les culicides (Insectes, Diptères) au Maroc: Systématique, écologique et études épidémiologiques pilotes.

78. **Horsfall, W.R. (1956).** Eggs of flood water mosquitoes III (Diptera, Culicidae). Conditioning and hatching of Aedes vexans. *Annals of the Entomological Society of America*, *49*(1), 66-71.

79. **Houzé, S., & Paris, L. (2015).** Apport des tests de diagnostic rapide en parasitologie: intérêt et limites. *Revue Francophone des Laboratoires,2015*(474), 29-36.

80. **Hulin, C**., **Rabaud, C., May, T., Neiman, L., Kures, L., & Canton, P. (1994).** Atteinte pulmonaire d'évolution favorable au cours d'une filariose de type Loa loa. *Bull Soc Pathol Exot, 87,* 248-250. Identification des culicides d'afrique méditerranéenne. CDROM I.R.D. Montpellier. France.in penetrating he1minth 1arvae.J. infect. dis: 1957 ; 101 ; 287 - 294 P.in the doge J. parasito1ogy 1961 47; 251 - 262 P.J. Exp. Med 1970; 131 1288 - 1305 P.J. of. *Am. Veto Med. An : 1958 ; 133 (1) : 48 - 51 P*.

-J -

81. **Jackson, W.F. (1974).** Physical examination, anamnnesis and ~hief cornplaint, procedings of heart warm symposium. Auburn University - Atlanta: 1974; 16 - 19 P. *Jap. J. Veto Science., 1954 ; 15, 5 - 6 P*.

82. **Jourde, L. (2002).** Contribution à l'étude des cardiopathies des carnivores domestiques à l'ENVT: création d'une base de données. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 55-57 p. (thèse de Doctorat).

83. **Jourde, L. (2007).** . Les syndromes hématologiques d'origine toxique chez les carnivores domestiques : Etude clinique et synthèse bibliographique. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 19-35 p.

-K -

84. **Kagan, C., Norman, L., Allain, D.S.(1963).** An evaluation of the bentonite floculation anù indirect hemagglutination test for the diagnosis of filariasis.Am. J. Trop'. Med. Hyg .. 1963 ,. 12 548 - 555 P.

85. **Khechine-Martinez, R., Doucet, C., Blanchard, S., Rouland, J.F., & Labalette, P. (2009).** Dirofilariose sous-conjonctivale. *Journal Français d'Ophtalmologie,32*(5), 350-e1.

86. **Knapp, S.E., Rognlie, M. C., & Stackhouse, L. (1993**). Range of heartworm (Dirofilaria immitis) infection in Montana dogs. *The Journal of parasitology*, 618-620.

87. **Knight K.L & Stone A., (1977).**A catalog of the mosquitoes of the word (Diptear: Culicidae). The Thomas Say Fundation, Vol 6: 611p.

88. **Konishi E (1989).** *Culex tritaeniorhynchus* and *Aedes albopictus (Diptera: Culicidae)* as natural vectors of *Dirofilaria immitis (Spirurida: Filariidae)* in Miki City, Japan. *J Med Entomol* **26**(4): 294-300

89. **Kougoum, G.P., Tamungang, S.A., Ngwa, C.F., Ndukum, J.A., & Pone, J.W. (2014).** Prévalence des hémoparasites chez le tisserin villageois (Ploceus cucullatus) dans la ville de Dschang et ses environs (Ouest-Cameroun).*International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *8*(1), 66-74.
90. **Krebs, T., Bindler, P., L'Ambert, G., Toty, C., Perrin, Y., & Jourdain, F. (2014**). First establishment of Aedes japonicus japonicus (Theobald, 1901)(Diptera: Culicidae) in France in 2013 and its impact on public health. *Journal of Vector Ecology*, *39*(2), 437-440.
91. **Krida G., Rhaiem A., Jarraya A., & Bouattour A., (1998).** Morphologie comparée des quatre stades larvaires de Culex (Culex) pipiens Linné récolté en Tunisie (Diptera, Culicidae). *Bulletin de la Société entomologique de France*, 103(1), 5-10.
92. **Kume, S. (1957).** Chemotherapy of canine dirofi1ariasis. *Am. J. Veto Res:* 1957, 18 (69), 912 - 923 P.
93. **Labarthe, N., Serrão, M.L., Melo, Y. F., Oliveira, S. J. D., & Lourenço-de-Oliveira, R. (1998).** Potential vectors of Dirofilaria immitis (Leidy, 1856) in Itacoatiara, oceanic region of Niterói municipality, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, *93*(4), 425-432.

-L -

94. **Lafri, I., Bitam, I., Beneldjouzi, A., & Benmahdi, M.H. (2014).** An inventory of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Algeria. *Bull. Soc. Zool. Fr*, *139*(1-4), 255-261.
95. **Lai CH, Tung KE, Ooi hkwang J.S. (2000).** Competence of *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* as vector of *Dirofilaria immitis* after blood meal with different microfilarial density. *Vet Parasitol* **90**(3): 231-237
96. **Lai CH, Tung KE, Ooi hkwang J.S. (2001).** Susceptibility of mosquitoes in central Taiwan to natural infections of *Dirofilaria immitis*. *Med Vet Entomol* **15**(1): 64-67
97. **Laurent, A., Nicco, C., Chéreau, C., Goulvestre, C., Alexandre, J., Alves, A., & Weill, B. (2005).** Controlling tumor growth by modulating endogenous production of reactive oxygen species. *Cancer research*, *65*(3), 948-956.
98. **Lecointe, D., Fabre, M., Habes, D., Mielot, F., Bernard, O., & Nordmann, P. (2000).** Cas clinique. *Gastroentérologie clinique & biologique*, *24*, 1227-1228.
99. **Lee, C.L.; Lewert R.M. (1957).** Studies on the presence of muccopo1ysaccharidosc in penetrating he1minth 1arvae.*J. infect. dis: 1957 ; 101 ; 287 - 294 P.*

100. **Levy, J.K., Snyder, P.S., Taveres, L.M., Hooks, J.L., Pegelow, M.J., Slater, M.R., & Salute, M.E. (2003).** Prevalence and risk factors for heartworm infection in cats from northern Florida. *Journal of the American Animal Hospital Association*, *39*(6), 533-537.
101. **Levy, J.K., Snyder, P.S., Taveres, L.M., Hooks, J.L., Pegelow, M.J., Slater, M.R., & Salute, M.E. (2003)**. Prevalence and risk factors for heartworm infection in cats from northern Florida. *Journal of the American Animal Hospital Association*, *39*(6), 533-537.
102. **Li Moge., (2002).** Les moustiques Culex pipiens Diptéres Nématocéres Culicides.
103. **Louah M.A., (1995).** Ecologie des Culicidae (Diptera) et état du paludisme dans la péninsule de Tanger. Thèse Doc. Es-sciences, *Faculté des sciences Tetouane (Maroc): 266 pp.*
104. **Lounaci, Z**., **Doumandji, S., Doumandji-Mitiche, B., & Berrouane, F.Z. (2014).** Dipterans Biodiversity of Agricultural and Medico Veterinary interest in the marsh of Reghaia (Algeria). *International Journal of Zoology and Research (IJZR)*, *4*, 71-82.
105. **Luzon-Pena, M**., **& Gomez-Bautista, M. (1993).** *Epidemiología*. *canis et felis*, (3), 19-31.

-M –

106. **M'sick d., (2008)** : Contribution à l'étude de la Babesiose canine au Sénégal : cas des chiens présente en consultation dans une clinique de Dakar (clinique vétérinaire MBOMBO de fann hock). *Thèse: Méd.Vét : Dakar ; 28.*
107. **Mac Neilson (1975).** Fractionation of a soluble somatic extract and solubilized cuticular extracts of Dipetalonema viteae adult worms. *The Journal of parasitology*, 785-793.
108. **Mantovani, A.; Kagan, I.G. (**1969**).** Fractionated D. immitis antigens for the differentia1diagnostic of canine fi1ariasis. *Am. J. Vet. Res., 1969;* .2 8 (122) 213 – 217 P.
109. **Margaillan, S., Decosne-Junot, C., & Goy-Thollot, I. (2005**). Syndrome néphrotique et insuffisance rénale. *Point vétérinaire*, (258), 68-73.
110. **Marion, E. (1981).** Les syndromes hématologiques d'origine toxique chez les carnivores domestiques : Etude clinique et synthèse bibliographique (thèse de Doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).
111. **Maud, M.D. (1980).** Traitement de l'otacariose du chat essai de deux protocoles d'utilisation de la sélamectine. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 06-18 p. (thèse de Doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse).

112. **McCall J, Genchi C, Kramer L, Guerrero J, Dzimianski M, Supakorndej P, Mansour A, McCall S, Supakorndej N, Grandi G, Carson B. 2008.** Heartworm and *Wolbachia*: therapeutic implication. Veterinary Parasitology, 158, 204–214.
113. **Mellor, P.S., & Leake, C.J. (2000).** Climatic and geographic influences on arboviral infections and vectors. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, *19*(1), 41.
114. **Ménier, K. (2000).** Origine et évolution du parasitisme chez les mammifères marins : l'exemple des Ğ Pinnipèdes ğ. *Revue Méd. Vét*, *151*(4), 275-280.
115. **Merabeti, B., & Ouakid, M.L. (2010).** Contribution a l'étude des moustiques (diptera : culicidae) dans les oasis de la région de Biskra (nord-est d'algerie). *Actes Du Séminaire International Sur La Biodiversité Faunistique En Zones Arides Et Semi-Arides*, 185-189.
116. **Mercky, T. (2002)**. Les stéphanofilarioses bovines, synthèse bibliographique (Thèse de Doctorat, Université Paul-Sabatier). Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 14-28 p.
117. **Messai N., Berchi S., boulknafd F. & Louadi K., (2010).** Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera : Nematocera) dansla région de Mila (Algérie). Entomologie faunistique – *Faunistic Entomology 63(3), p. 203-206.*
118. **Minning, W**. **Mac Fadzean, J.A. (1956).** Sero1ogical investigation in a area of endemic fi1ariasis in Gambia. Tr. Roy. Soc. Trop. Méd. Hyg., 1956, 50 2.46 – 254 P,
119. **Mogi M.C. and ilkerson R.C., 2004 –** Emerging vectors in the Culex pipiens coplex. Science, 303(5663), 1535-1538.
120. **Mondet, B., Diaïté, A., Ndione, J., Fall, A.G., Chevalier, V., Lancelot, R., & Ponçon, N. (2005).** Rainfall patterns and population dynamics of Aedes (Aedimorphus) vexans arabiensis, Patton 1905 (Diptera: Culicidae), a potential vector of Rift Valley Fever virus in Senegal. *Journal of Vector Ecology*, *30*(1), 102.
121. **Montaron. J.M. (1975).** Les filarioses canines dans la région d'Alger: étude particulière de dipetalonema, dracunloiddes: application au diagnostic immunologique des filarioses. É. N. V. d'Alfort (Ed.). Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.Filarioses Th. **:** Méd. Veto Alfort.
122. **Montoya-Alonso, J.A., Mellado, I., Carretón, E., Cabrera-Pedrero, E.D., Morchón, R., & Simón, F. (2010).** Canine dirofilariosis caused by Dirofilaria immitis is a risk

factor for the human population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain. *Parasitology research*, *107*(5), 1265-1269.

123. **Moraillon, R. (1990)**. Symptoms and diagnosis of canine dirofilariasis. *Pratique Médicale & Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, *25*(3 suppl.), 323-327.
124. **Mouhamadou l.T., (2002).** SIG et distribution spatiale des infrastructures hydrauliques dans la commune de Zè au Benin. Afrique Science : Revue internationale des Sciences et Technologie, 10(2). Moustiques de l'Afrique méditerranéen. Logiciel d'identification et d'enseignement. IRD édition.

-N -

125. **Nayar, J.K., & Knight, J.W. (1999).** Aedes albopictus (Diptera: Culicidae): an experimental and natural host of Dirofilaria immitis (Filarioidea: Onchocercidae) in Florida, USA. *Journal of medical entomology*, *36*(4), 441-448.
126. **Ndaguimana, M**. (1998). « Contribution a l'etude du parasitisme sanguin chez les asins: la filariose chez les asins au senegal» These de Docteur Veterinaire. Universite Cheikh Anta Diop -· Dakar. Ecole Inter-Etats Des Sciences Et Medecine Veterinaires . N° :22.4-21p.
127. **Nelson, C.T., McCall, J.W., Rubin, S.B., Buzhardt, L.F., Dorion, D.W., &Graham, W., (2005).** Executive Board of the American Heartworm Society. Guidelines for the diagnosis, prevention and management of heartworm (Dirofilaria immitis) infection in dogs. *Veterinary parasitology*, *133*(2-3), 255.
128. **Nolan. (2004)**. *Dirofilaria immitis* Homepage. University of Pennsylvania. http://cal.vet.upenn.edu/dxendopar/parasitepages/filariidsandspirurids/d_immitis.html.
129. **Nougué, J., Guillet, G., Bibas, N., Escande, H., & Hounieu-Ritoux, H. (2011).** Dirofilariose autochtone à Dirofilaria repens dans le Sud-Ouest de la France. In *Annales de dermatologie et de vénéréologie* (Vol. 138, No. 1, pp. 50-53). Elsevier Masson.

-O –

130. **Picaut C. (2006).** . Contribution a l'etude statistique de la formule leucocytaire manuelle chez le chien : effet frottis et effet observateur. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 11-50 p.
131. **O'Connor, T.P., Hanscom, J.L., Hegarty, B.C., Groat, R.G., & Breitschwerdt, E.B. (2006).** Comparison of an indirect immunofluorescence assay, western blot analysis, and

a commercially available ELISA for detection of Ehrlichia canis antibodies in canine sera. *American journal of veterinary research*, *67*(2), 206-210.

132. **Orihel, T.C.** (**1961**). Morphology of the larval stages of Dirofilaria immitis in the dog. *The Journal of parasitology*, *47*(2), 251-262.
133. **Orozco, S.C., Arango, M., & Cardona, W. (2006).** Detección de antígenos de Dirofilaria immitis en caninos del Área Metropolitana del Valle de Aburrá.*Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, *19*(3), 280-290.

-P -

134. **Pajković, D**., **Srbije, V., Savić, S., Veljković, P., Srbije, V., & Grgić, Ž. (2010**). Study on dirofilariosis [ie dirofilariasis] in military dogs within the army of Serbia.*Arhiv veterinarske medicine (Serbia)*.
135. **Palmer, C. A., Wittrock, D. D., & Christensen, B. M. (1986).** Ultrastructure of Malpighian tubules of Aedes aegypti infected with Dirofilaria immitis. *Journal of invertebrate pathology*, *48*(3), 310-317.
136. **Pannabecker Tl, chandler Jswasserman Rh (1995)**. Vitamin-D-dependent transcriptional regulation of the intestinal plasma membrane calcium pump. *Biochem Biophys Res Commun* **213**(2): 499-505
137. **Pantchev, N., Etzold, M., Daugschies, A., & Dyachenko, V. (2011).** Diagnosis of imported canine filarial infections in Germany 2008–2010. *Parasitology research*, *109*, 61-76.
138. **Papite, K. (2014)**. La dirofilariose canine à dirofilaria immitis: étude bibliographique et estimation de la fréquence de suspicion dans le département de la Martinique (thèse de Doctorat).
139. **Pihan J.C., (1986** - Les Insectes, Paris, New York, Barcelone. Masson – 160p.
140. **Pinger, R.R. (1982).** Presumed Dirofilaria immitis infections in mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Indiana, USA. *Journal of medical entomology*, *19*(5), 553-555.
141. **Post, J.I. (2000).** A Selective Zn2-induced Loss of Neurotrophin Support in Cultures of Rat Motoneurons. Master of Science.Department of Physiology.Queen's University Kingston, Ontario, Canada. 1-21p
142. **Pradel, J., Rey, D., Foussadier, R., & Bicoud, D. (2007).** Etude écologique des moustiques (Diptera, culicidae)–vecteurs potentiels d'arboviroses–dans la région Rhône-

Alpes. *Bulletin de l'Association pour l'Etude de l'Epidémiologie des Maladies Animales*. Epidémiol. et santé anim. 51, 81-94.

-R –

143. **Randrianambinintsoa, F.J. (2013).** Contribution à l'inventaire des Phlébotomes (Psychodidae – Phlebotominae) de Madagascar et des îles voisines. Thèse en co-tutelle, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims & Université d'Antananarivo, Antananarivo.23-33p.
144. **Ranjbar-Bahadori S., Eslami Abokaic S. (2007).** Evaluation of different methods for diagnosis of *Dirofilaria immitis*. *Pak J Biol Sci.* **10**(11) : 1938-1940
145. **Resseguier, P. (2011).** Contribution à l'étude du repas sanguin de *culex pipiens pipens.* Thèse d'exercice, Médecine Vétérinaire, Ecole National Vétérinaire de Toulouse –ENVT, 80p.
146. **Ridley, D.S. (1956**). The complement-fixation test in filariasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *50*(3), 255-257.
147. **Rioux J.A. & Arnold M., (1955).** Les Culicides de Camargue. Etude systématique et écologique. La terre et la vie : 244-286.
148. **Rioux J. A., (1958).** Les culicides de « Midi méditerranéen ».Ent., XXX, P. Le chevalier, Paris : 1-303.
149. **Robin Y., (1974) :** Diagnostic de la Piroplasmose canine par la recherche du piroplasme dans le sang. Technique et résultats de quatre années d'observations. *L'Animal de Compagnie*, 9 (2) :133-145.
150. **Rodhain, F. (1998)**. Impacts sur la santé : le cas des maladies à vecteurs. Impacts potentiels du changement climatique en France au XXIème siècle. Paris, Premier Ministre, Mission Interministérielle de l'Effet de Serre, 111-121.
151. **Roubaud E., (1933).** Essai synthétique sur la vie du moustique *Anopheles maculipennis messeae* en Dombes, au cours de la belle saison et de l'hibernation. Cahier des naturalistes. *Bull. Soc. Ent. France : 35-36.*

-S -

152. **Samanidou-Voyadjoglou A. & Darsie Rf.Jr., (1993).** An annotated checklist and bibliography of the mosquitoes of Greece. *Mosquito Systematics* 25, 177-185.
153. **Savary-Bataille, K. (2003).** Conduite diagnostique face à une thrombopénie.*Point Vet*, *240*, 40-43.

154. **Savić, S., Grgić, Ž., Vujkov, B., Fenjac, I., Ambulanta Pedigre, V., Pajković, D., & Žekić, M. (2009).** Determination of canine dirofilariasis by ELISA method and modified Knott's test. *Arhiv veterinarske medicine (Serbia).*

155. Savini, H., & Simon, F. (2013). Hyperéosinophilie sanguine en zone tropicale. *Médecine et Santé Tropicales*, *23*(2), 132-144.

156. **Schaffner F., Fonseca D.M., Keyghobadi N., Malcolm C.A., Mehmet. Schnyder, M.,** & **Deplazes, P. (2012).** Cross-reactions of sera from dogs infected with Angiostrongylus vasorum in commercially available Dirofilaria immitis test kits. *Parasites & vectors*, *5*(1), 1.

157. **Scott D.W., Miller W.H., Griffin C.E. Muller (2001).** Kirks Small Animal Dermatologie, 6th edition, 2001, *WB Saunders Comagny, philadelphia, 1528 p.*

158. **Seguy E., 1950** - La biologie des diptères. Encycl. Entomo. XXVI. E d. Paul le chevalier, Paris.

159. **Senevet G., & Andarelli l., (1955).** Anopheles algeriensis. *Arch. Inst. Pasteur d'Algerie*, *33*(3), 269-72.

160. **Shaalan, E. A. (2012).** Predation capacity of Culiseta longiareolta mosquito larvae against some mosquito species larvae. *Journal of Entomology*, *9*(8), 188-186.

161. **Silverman, H.J., Taylor, W.R., Smith, P.L., Kagey-Sobotka, A.N.N.E., Permutt, S. O.L.B.E.R.T., Lichtenstein, L.M., & Bleecker, E.R. (1988).** Effects of antihistamines on the cardiopulmonary changes due to canine anaphylaxis. *Journal of Applied Physiology*, *64*(1), 210-217.

162. **Sinegre G., (1974)** .Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes* (ochleratatus) *Caspius* (Pallas, 1771) (Nematocera, Culicidae). Eclosion, dormance, développement, fertilité, thèse d'état en sciences. Université de langue Doc, 285p.

163. **Soltani, N., Bahrami, A., Pech-Canul, M.I., & González, L.A. (2015).** Review on the physicochemical treatments of rice husk for production of advanced materials. *Chemical engineering journal*, *264*, 899-935.

164. **Souissi, A., Farah Klibi, F., Zermani, R., Rammeh, S., Ismail, O., Zakraoui, A., & Ben Jilani, S. (2004).** Dirofilariose sous-cutanée à Dirofilaria repens en Tunisie: Une observation à localisation scrotale. *Méd. Trop*, *64*, 375-378.

165. **Stef b., 2010:** La piroplasmose canine : ce que doit savoir le pharmacien d'officine. Thèse: Faculté de Pharmacie: Nancy 1; 54.

166. **Stein, F.J. ; LAUTON, H.** Comparison of methodes for diagnosis and differenciation

sur la pathologie humaine. Vol 1, némathelminthes, *Vigot* Frères 1961.

-T -

167. **Tabti, N., & Abdellaoui-Hassaïne, K. (2013).** Comparative study of the effect of Bacillus thuringiensis on larval populations of Culex pipiens L.(Diptera-Culicidae) of the City of Tlemcen (Algeria). *Open Journal of Ecology*, *3*(03), 265.

168. **Tamaloust, N. (2007).** Bio-écologie des nématocères dans l'algérois Essais de lutte biologique par Metarhizium anisopliae contre les larves de Culex pipiens Linné , 1758 (Nematocera , Culicidae). Magistere en Sciences Agronomiques .Institut National Agronomique El-Harrach-Alger.13-22p.

169. Tarello, W. (2000). La dirofilariose sous-cutanée à Dirofilaria (Nochtiella) repens chez le chat: symptomatologie, diagnostic et traitement sur 10 cas. *Revue Méd. Vét*, *151*, 813-819.

170. **Tine-Djebbar, F. (2009).** Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide et méthoxyfenozide) à l'égard de deux espèces de moustiques Culex pipiens et Culiseta longiareolata: toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse de doctorat, Faculté des sciences, Université d'Annaba, Algérie. 168 pages.

171. **Toral y Caro, M. (2005).** Evaluation in vitro de l'efficacite du fipronil sur Culex pipiens pipiens. Th. : Med.Vet. : Toulouse, 2005 ; 099. 53 pp.

172. **Trájer, A., Farkas-Iványi, K., & Padisák, J. (2015)**. Area-based historical modeling of the effects of the river bank regulation on the potential abundance of eleven mosquito species in the River Danube between Hungary and Slovakia. *Advances in Oceanography and Limnology*, *6*(1/2).

-V -

173. **Vallin, C. (2002**). *Hypertension pulmonaire et répercussions cardiaques chez le chien. Etude bibliographique*. Thèse d'exercice, Médecine Vétériinaire , Ecole National Vétérinaire de Toulouse –ENVT, 27p.

174. **Vezzani, D., Fontanarrosa, M.F., & Eiras, D.F. (2008).** Are antigen test kits efficient for detecting heartworm-infected dogs at the southern distribution limit of the parasite in South America? Preliminary results. *Research in veterinary science*, *85*(1), 113-115.

175. **Vezzani, D., Mesplet, M., Eiras, D.F., Fontanarrosa, M.F., & Schnittger, L. (2011).** PCR detection of Dirofilaria immitis in Aedes aegypti and Culex pipiens from urban temperate Argentina. *Parasitology research*, *108*(4), 985-989.

-W –

176. **Walker, K., & Lynch, M. (2007).** Contributions of Anopheles larval control to malaria suppression in tropical Africa: review of achievements and potential. *Medical and veterinary entomology*, *21*(1), 2-21.

177. **Wang, Y.H.** Intraderma1 test with D. immitis antigen in diagnosis of fi1ariasis.Chinesemed J., 1964 81 (6), 379 – 383 P.

178. **Watier-Grillot, S., Marié, J. L., Cabre, O., & Davoust, B. (2011)**. Survey of canine Dirofilaria immitis infection in New Caledonia. *Veterinary medicine international*, *2011*.

179. **Webber, W.A.F.** Morpho1ogy of Dirofi1aria immitis Ann. Trop. Med. Parasito1: 1956; 49 (2), 123 P.

180. **Weinstein, P.P. & Sawyer, T. K. (1961).** Survival of adults of Dirofilaria uniforma in vitro and their production of microfilariae. *Journal of Parasitology*, *47*(4, Sect. 2), 23-24.Survival of adults of D. uniformis and thcir production of microfilaria J. ParasitoI : 1961.

181. **Willett, K. (2005).** La Flore Qui A Faim : Une Enquête Chimique, Biologique et Culturelle de la Dimorphisme Rouge/Verte et les Applications Médicinales de Nepenthes madagascariensis. Independent Study Project (ISP) Collection. Paper 409. http://digitalcollections.sit.edu/isp_collection/409.

182. **Wilson, M.L., Chapman, L.E., Hall, D. B., Dykstra, E.A., Ba, K., Zeller, H.G., & Peters, C.J. (1994).** Rift Valley fever in rural northern Senegal: human risk factors and potential vectors. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *50*(6), 663-675.

183. **Wong, M.M**. Fate and Immunogenicity of irradiated infective larvae of D. immitis in the doge Procedings of the Heartworm symposium. Uni. Atlanta: 1974; 75 – 81 P.

184. **Wynn, G., & Paradise, C. J. (2001).** Effects of microcosm scaling and food resources on growth and survival of larval Culex pipiens. *BMC ecology*, *1*(1), 3.

185. **Wytsman, R. J**. Rapport global microbiologie/sérologie/parasitologie. Enquête 01/2003.

-Y -

186. **Yildirim, A., Inci, A., Duzlu, O., Biskin, Z., Ica, A., & Sahin, I. (2011)**. Aedes vexans and Culex pipiens as the potential vectors of Dirofilaria immitis in Central Turkey. *Veterinary parasitology*, *178*(1), 143-147.

-Z -

187. **Zeller H.G., 1999 -** West Nile : Une arbovirose migrante d'actualité Médecine tropicale. vol. 59, no 4Bis, pp. 490-494.

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN TIARET

FACULTE DES SCIENCES VETERINAIRES

DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES

Fiche d'examen clinique

Etudiant : **Date:**

Année : **N°:**

Animal					
NOM:	**Espèce:**	**Race:**	**Age:**	**Robe:**	**Sp :**

Anamnèses et commémoratifs	
	Etat général:
	Tégument:
	Température:
	Muqueuses:
Appareil digestif:	**Œil et vision:**
Appareil respiratoire:	**Orteil et audition:**
Appareil cardio-vasculaire:	**Reins et appareil urinaire:**
Système nerveux:	**Appareil locomoteur**
Appareil génital:	**Ganglions explorables:**
Sang :	**Urines:**
Autre:	**Fèces:**
Diagnostique:	**Pronostic:**

1. Matériel de diagnostic clinique utilisé

Le matériel utilisé pour le diagnostic clinique est le suivant :

- ❖ Un thermomètre digital pour la prise de température rectale
- ❖ Un gel de vaseline
- ❖ Un stéthoscope
- ❖ Une muselière

2. Matériel de prélèvement du sang

Pour le prélèvement de sang, aussi bien à la clinique que sur le terrain nous avons utilisé le matériel suivant :

- Tubes EDTA
- Tubes secs
- Gants
- Alcool (70°)
- Coton
- Compresses
- Glacière
- Aiguille VENOJECT
- Porte-aiguille
- Seringues

3. Matériel pour la récolte des moustiques

Pour la récolte des moustiques nous avons utilisé :

- Flacons étiquetés
- Ethanol à 70°
- Solution de formol à 2 %
- Des pinces

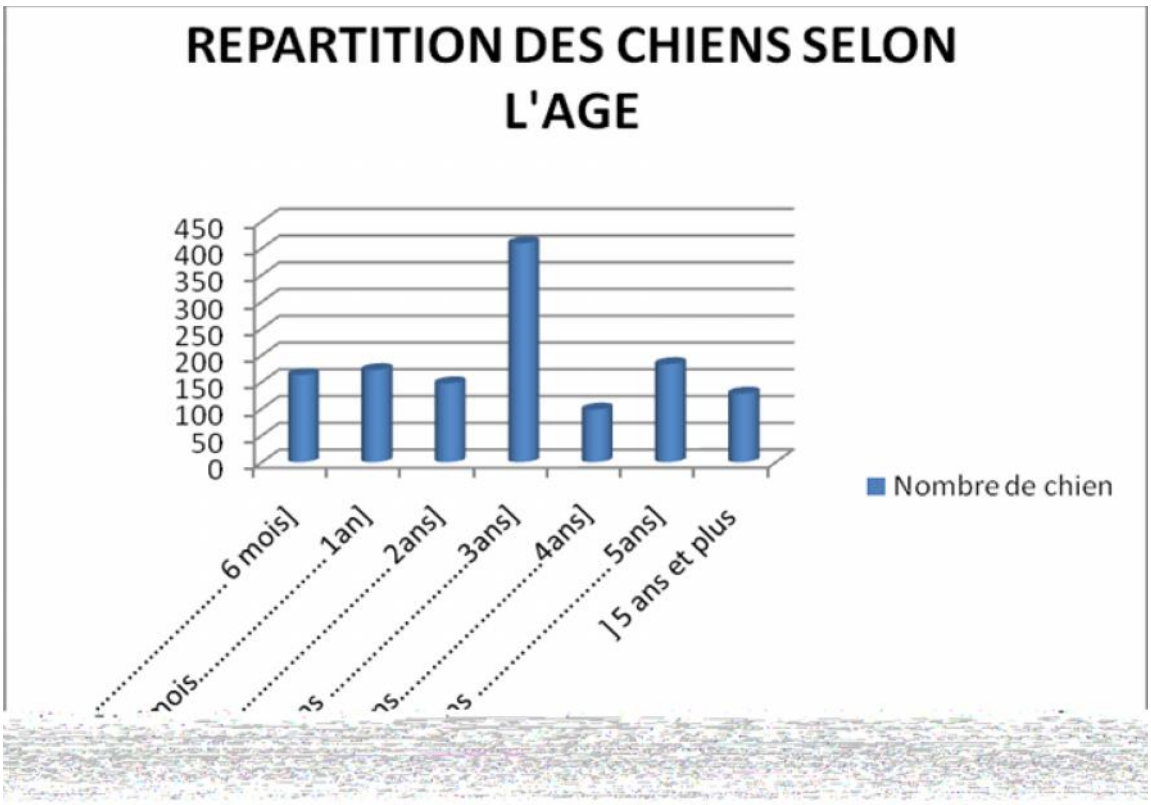
4. Matériel pour le diagnostic de laboratoire

Pour les analyses laboratoires, nous avons eu recours au laboratoire de l'institut des sciences vétérinaire. Le matériel que nous avons utilisé est :

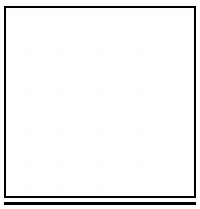
- Microscope optique
- Lames porte objet
- Lamelles
- L'huile à immersion
- Centrifugeuse
- Microtubes à hématocrite
- Loupe binoculaire
- Kit Witness test

5. Matériel pour le diagnostic nécropsique

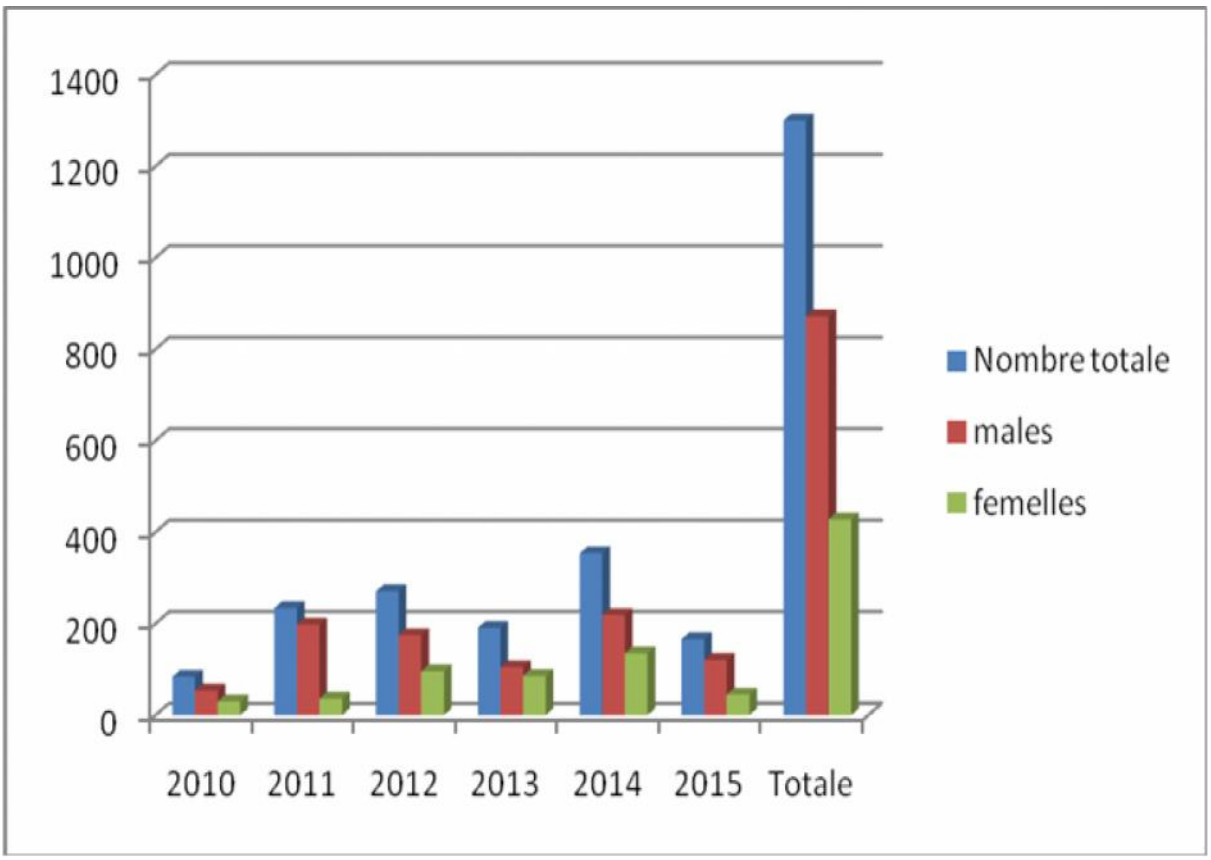
- Pinces
- Ciseaux
- Alcool
- Boite de pétri



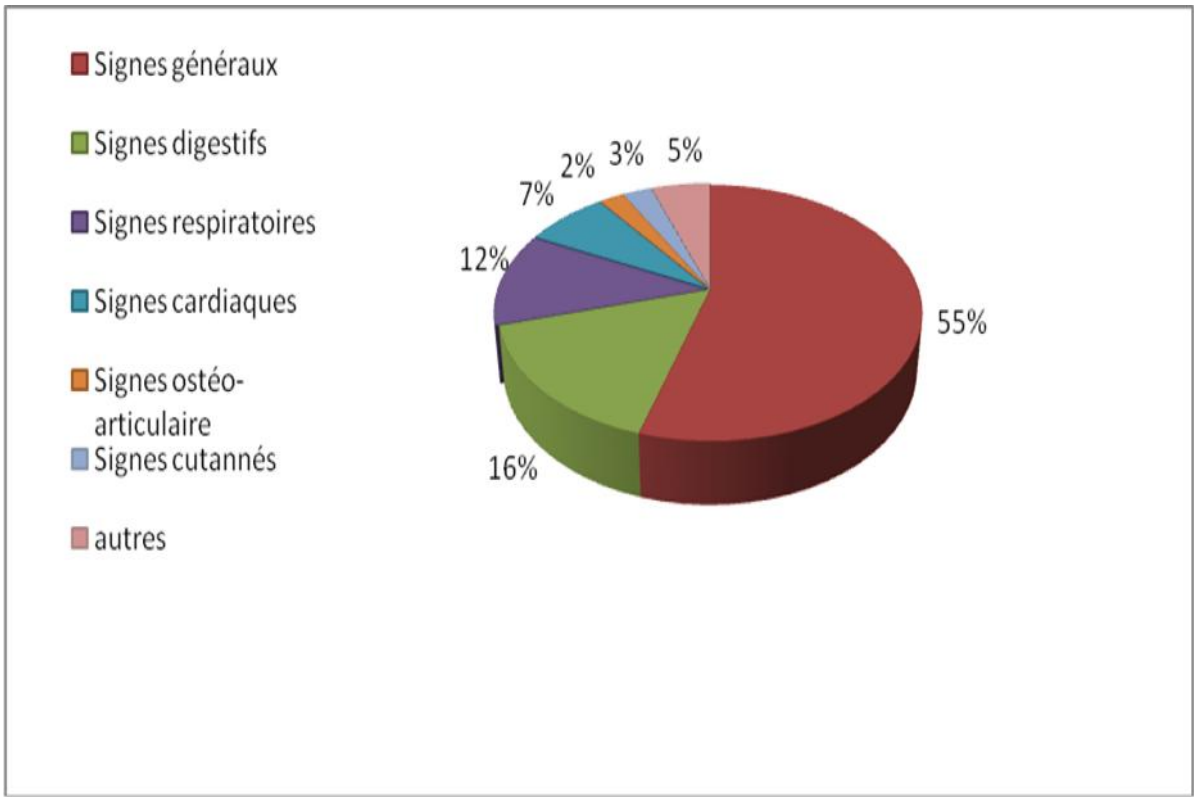
Répartition des chiens selon l'âge.



Répartition des chiens selon la race.



Répartition du nombre de chiens durant la période d'étude.



Répartition des signes cliniques rencontrés chez les chiens de l'étude

Composition du liquide de Marc-André :

-Eau distillée	30ml
-Hydrate de chloral.	40ml
-Acide acétique cristallisable	30ml

Composition de la Gomme au chloral utilisé :

-Eau distillée	50ml
-Hydrate de chloral	50g
-Glycérine	20ml
-Gomme arabique	30g

CLES D'IDENTIFICATION SIMPLIFIEES DES *CULICIDAE*

***CULEX* (Culex) Ferlo**

1.Proboscis à trompe annelée, pas de soie mésépimérale inférieure**……...2**

Proboscis sans anneau, au moins une soie mésépimérale inférieure**…….8**

2.Fémurs et tibias avec des rangées de petits points pâles antérieurs - - - ***poicilipes* ……...98**

Fémurs et tibias different**……3**

3.Ailes avec de nbses écailles plates pâles, Proboscis avec un point blanc au bout du labelle - - **4** Ailes avec peu ou pas d'écailles pâles, Proboscis noir au bout du labelle**……5**

5.Tergites avec des triangles jaunes apicaux latéraux (ou 6-8 tt jaunes) – ***bitaeniorhynchus.* 91**

6.Tergites avec des bandes apicales pâles de même largeur – ***ethiopicus*……. 92**

7. Thorax noir, écailles scutalles presques toutes noires- -***aurantapex* ……90**

8. Thorax brunâtre, scutum à nombreuses écailles pâles**……6**

9. Scutum ordinaire[t] avec 1/2 avant couverte d'écailles surtout pâles, ailes de 4 à 6,5 mm- ***annulioris*…… 97**

10. Scutum avec un dessin tacheté indéfini **ou** écailles toutes sombres, ailes 2 à 4 mn**……..7**

11. Fémur à nombreuses écailles pâles disséminées antérieurement, fourche sup. de l'aile courte—***sitiens*****… . 99**

12.Fémur avec peu d'écailles pâles antérieurement, fourche sup. de l'aile longue- - ***tritaeniorhynchus* ……100**

13. Tarses à anneaux pâles…….…. (ventrilloni, duttoni, watti) ……..…..**110**

14.Tarses tout noirs**……...……9**

15.Fémurs 1 et 2 et tous les tarses à bandes antérieures pâles ……. ***Theileri*……. 93**

16.Fémurs et les tarses différents**……10**

17.Ecailles pré-alaires et écailles post spiraculaires présentes**……11**

18.Pas d'écailles pré-alaires ni post spiraculaires**……12**

19.tibia III à bande ant. pâle, base costa à éc. pâles. Fémur II à bande ant. pâle complète ***univittatus* ……...…..103**

20.tibia III sans bande ant. pâle ni point blc à l'apex, costa à éc. toutes sombres

21.Fémur II SANS bande antérieure pâle complète…… ***neavei*…… 109**

22Tergites à bandes pâles basales, antennes de la femelle "normales"**…….13**

23.Tergites (au moins les tout premiers) non bandés (noirs)**……..…14**

24.Sternites blancs, non bandés, proboscis souvent pâle dessous - - ***quinque fasciatus*….. 102**

25.Sternites à bandes apicales noires, proboscis tout noir - - ***decens*……. 106**

26. Sternites blancs, non bandés, tibia III à point apical blanc- ***antennatus* …….104**

27. Sternites à bandes apicales noires, tibia III tout noir- - - - ***perfuscus*…….. 105**
(certains *decens* ont des tergites pratiquement tout noirs)

28.Penser aussi à *Cx (Lutzia) tigripes* **111**, aux *Culiciomyia* et aux *Neoculex*.

MANSONIA

* Scutum avec **2 bandes** larges sub-latérales d'écailles grisâtres
Tibia et fémurs à tâches blanches antérieures confluentes…***Mansonia uniformis*……. 61**

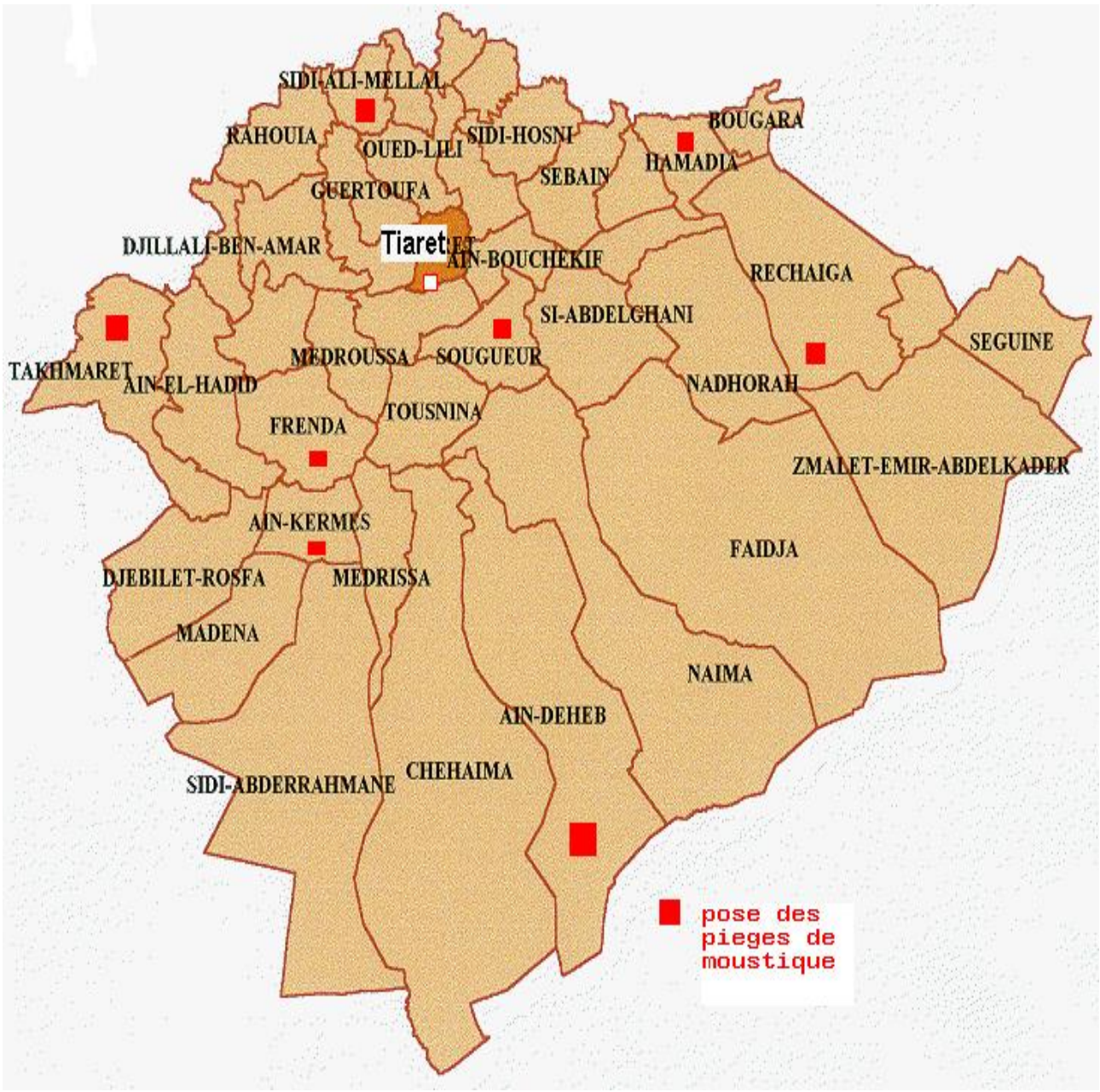
* Scutum avec **2 rangées de 3 tâches** sub-latérales d'écailles grisâtres
Tibia et fémurs à tâches blanches antérieures séparées…***Mansonia africana* ……...60**

AEDEOMYIA

(Antennes plumeuses avec écailles au dessus du tore)

* grande tâche jaune couvrant la plus grande partie du scutum, anneau blanc basal sur la trompe
Tibia et Tarses III à écailles uniformes……***Aedoemyia africana* ……..67**

* Scutum jaune, noir et blanc, pas d'anneau blanc basal sur la trompe
Tibia et Tarses III à écailles noires dressées……***Aedoemyia furfurea* ……68**



Lieux des piégeages de moustique dans la wilaya de Tiaret

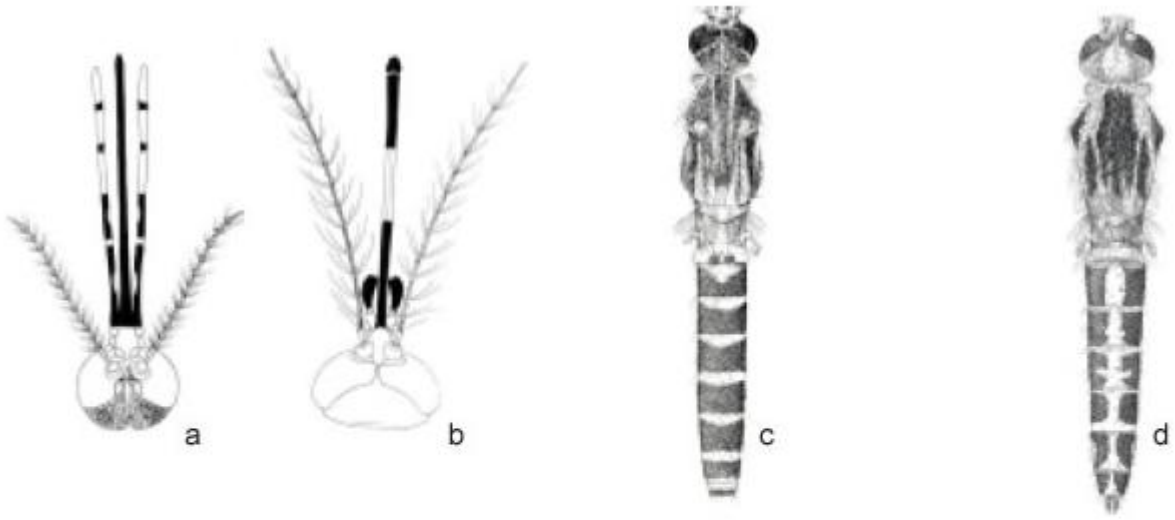
Fréquence des deux espèces rencontrées selon les saisons durant les 5 années.

			Culex pipiens		***Culiseta longiareolata.***	

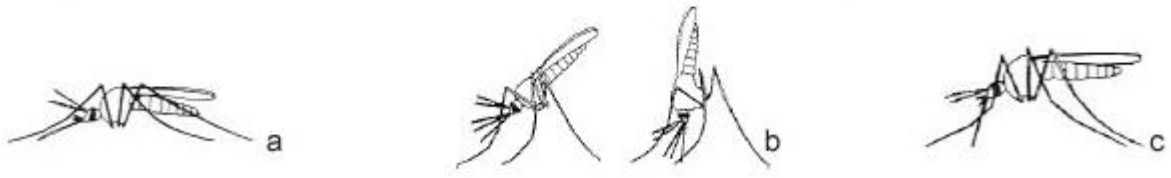
Année	Mois	Total	Sexe		Total	Sexe		Total
			Mâle	Femelle		Mâle	Femelle	
2011	Janvier	0	0	0	0	0	0	0
	Février	0	0	0	0	0	0	0
	Mars	32	1	5	**6**	12	14	**26**
	Avril	49	13	21	**34**	3	12	**15**
	Mai	97	47	17	**64**	1	32	**33**
	Juin	278	42	74	**116**	16	146	**162**
	Juillet	765	37	521	**558**	75	132	**217**
	Août	987	76	674	**750**	13	224	**237**
	Septembre	458	117	102	**219**	87	152	**239**
	Octobre	156	23	74	**97**	34	25	**59**
	Novembre	0	0	0	0	0	0	0
	Décembre	0	0	0	0	0	0	0
2012	Janvier	0	0	0	0	0	0	0
	Février	0	0	0	0	0	0	0
	Mars	0	0	0	0	0	0	0
	Avril	0	0	0	0	0	0	0
	Mai	0	0	0	0	0	0	0
	Juin	1098	32	417	**449**	106	*543*	**649**
	Juillet	2134	11	602	**613**	154	*1367*	**1521**

	Août	1987	189	534	**723**	127	*1137*	**1264**
	Septembre	432	40	102	**142**	37	*253*	**290**
	Octobre	89	10	32	**42**	2	*45*	**47**
	Novembre	53	**0**	5	**5**	**1**	*47*	**48**
	Décembre	0	0	0	0	0	0	0
2013	Janvier	13	2	9	**11**	1	1	**2**
	Février	0	0	0	0	0	0	0
	Mars	156	9	43	**52**	13	91	**104**
	Avril	365	61	103	**164**	17	184	**201**
	Mai	0	0	0	0	0	0	0
	Juin	467	41	139	**180**	9	278	**287**
	Juillet	1236	27	549	**576**	57	603	**660**
	Août	2156	152	786	**938**	53	1469	**1522**
	Septembre	0	0	*0*	0	0	0	0
	Octobre	29	2	*8*	**10**	0	19	**19**
	Novembre	34	0	*4*	**4**	7	23	**30**
	Décembre	0	0	0		0	0	0
2014	Janvier	0	0	0		0	0	0
	Février	0	0	0		0	0	0
	Mars	0	0	0		0	0	0
	Avril	543	99	134	**233**	76	234	**310**

	Mai	123	13	22	**35**	14	74	**88**
	Juin	675	4	207	**211**	29	435	**464**
	Juillet	877	5	583	**588**	78	211	**299**
	Août	376	110	89	**199**	20	157	**177**
	Septembre	146	21	102	**122**	0	23	**23**
	Octobre	45	0	31	**31**	2	12	**14**
	Novembre	0	0	0	0	0	0	0
	Décembre	0	0	0	0	0	0	0



a. *Anopheles* b. *Aedes* and *Culex* c. *Culex* - rounded abdomen d. *Aedes* - pointed abdomen



a. *Aedes* resting b. *Anopheles* resting c. *Culex* resting