

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE-ALGER
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة- الجزائر

MEMOIRE
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE MAGISTERE EN SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
ECOLE DOCTORALE « PRODUCTION, HYGIENE ET SANTE ANIMALE »
OPTION : Microbiologie Médicale Vétérinaire

Thème

*Contribution à une enquête épidémiologique
et entomologique de la leishmaniose canine et
son vecteur dans la wilaya de M'Sila*

Présenté Par :

BARKA Imane

Soutenu le : 25/06/2014. Devant le jury :

Président	KHELEF Djamel	Pr	ENSV-Alger
Rapporteur	AIT-LOUDHIA Khatima	MCA	ENSV-Alger
Examineurs	HARRAT Zoubir	MCA	ENSV-Alger
	GHALMI Farida	MR	IPA
	ZENAD Wahiba	MAA	ENSV-Alger

Année Universitaire 2013/2014

Remerciements

Au terme de ce travail, j'adresse mes vifs remerciements à:

Mon encadreur Melle *Khatima AIT OUDHLA*, Maitre de conférences à l'ENSV d'Alger, pour tous ses efforts et ses encouragements, je lui exprime ma profonde gratitude.

Mon enseignant durant mon cursus de formation, en graduation et post-graduation ; Mr *Djamel KHELEF*, Professeur à l'ENSV d'Alger, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider ce jury.

Melle *Farida GHALMI*, Maitre de conférences à l'ENSV d'Alger, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Mme *Wahiba ZENAD*, maitre assistant à l'ENSV d'Alger, d'avoir accepté de participer à ce jury.

Mr *Zoubir HARRAT*, professeur-chef de service d'éco-épidémiologie parasitaire à l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), pour m'avoir accueillie dans son équipe et pour m'avoir mis à disposition des conditions matérielles très favorables.

Je tiens aussi à remercier et à témoigner toutes ma reconnaissance, à Mr *Abdelkrim BOUDRISSA*, directeur de l'Institut Pasteur ; Annexe de M'Sila, de m'avoir ouvert les portes de son laboratoire, sa totale disponibilité, son aide et ses compétences scientifiques m'ont été extrêmement précieuses.

Je ne sais pas comment exprimer ma reconnaissance à mes parents pour leur soutien et leurs encouragements durant toutes les étapes de ma vie, qu'ils trouvent ici l'expression de mes chaleureux remerciements.

Tous mes remerciements vont également vers mon mari *Samir* pour son soutien, sa compréhension et ses encouragements.

Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Le présent travail s'est déroulé entre le mois de Juin et Novembre 2013, il met le point sur la situation épidémiologique en matière de leishmanioses de la région de M'sila, en s'intéressant à l'étude du réservoir et du vecteur. Durant cette période, Des sérums de 120 chiens vivant en zones rurales ont été analysés par la technique d'immunofluorescence indirecte, Les résultats obtenus ne révèlent aucun chien positif. Parallèlement à l'enquête sérologique, une enquête entomologique portant sur l'échantillonnage des phlébotomes a été entreprise, L'identification morpho-taxonomique des 1370 spécimens capturés montre la présence de huit espèces réparties en deux genres, *Phlebotomus* (89,05%) et *Sergentomyia* (10,95%). *P. papatasi* et *P. perniciosus* sont les espèces les plus représentées. La présence de *P. perniciosus* vecteur prouvé de leishmanioses humaine et animale dans toutes les stations prospectées s'avère d'une importance capitale.

Mots-clés : -leishmaniose -chien - phlébotomes - *P.perniciosus* -M'sila.

Abstract

The present report was carried out between June and November 2013, it puts the focus on the epidemiological situation of leishmaniasis in M'sila, focusing on the study of reservoir and *sand-fly*. During this period, sera from 120 dogs living in rural areas were analyzed by indirect immunofluorescence, results show no positive dog. Parallel to the serological survey, an entomological survey sampling *Phlebotomine sand-fly* was undertaken, morpho-taxonomic study of captured *Phlebotomine sand-flies* showed the presence of eight species divided into two genera, *Phlebotomus* (89.05%) and *Sergentomyia* (10.95%). *P. papatasi* and *P. perniciosus* are the most represented species. The presence of *P. perniciosus* vector of human and animal leishmaniasis in all surveyed stations is of utmost importance.

Key-words: -leishmaniasis –dog -*Phlebotomine sand-fly* –*P. perniciosus* –M'sila.

ملخص

تم هذا العمل من شهر جوان الى شهر نوفمبر 2013، يتطرق الى الوضعية الوبائية بالنسبة لمرض اللشمانيا في منطقة المسيلة، حيث يصد الاهتمام الى دراسة الناقل والمخزن. اثناء هذه الدراسة، تم تحليل مصل 120 كلب بتقنية امينوفليورسونس، النتائج المتحصل عليها كانت سلبية، بالموازات مع دراسة المصل، تم جرد حشرات ذبابة الرمال، الكشف المورفولوجي يظهر وجود ثمانية أنواع تنتمي لصنفي فليبيوتومسي (89,5) و سرجونتوميا (10,95). *P. papatasi*.

P. perniciosus النوعين الأكثر تمثيلا. وجود هذه الأخيرة ناقل اللشمانيا عند الانسان والحيوان في كل أماكن الجرد له أهمية كبيرة.

الكلمات المفتاحية: - ليشمانيا - كلب - *P.perniciosus* - ذبابة الرمال - المسيلة

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

DEDICACES

RESUMES

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction	1
1. Définition	3
2. Importance	3
3. Epidémiologie	3
3.1. Caractéristiques du parasite <i>L. infantum</i>	3
3.1.1. Taxonomie	3
3.1.2. Morphologie	4
3.1.3. Biologie	5
3.2. Caractéristiques du vecteur	5
3.2.1. Taxonomie	5
3.2.2. Description et biologie	6
3.2.3. Comportement	7
3.3. Caractéristiques du réservoir	8
3.4. Cycle de vie et modalités de transmission	9
3.5. Répartition géographique	10

3.5.1.	Dans le monde	10
3.5.2.	Autour du bassin méditerranéen	11
3.5.3.	En Algérie	12
4.	Immunopathologie	14
5.	Symptomatologie	15
6.	Diagnostic	18
6.1.	Diagnostic Epidémio-Clinique	18
6.2.	Diagnostic de Laboratoire	18
6.2.1.	Mise en évidence du parasite	19
6.2.2.	Diagnostic sérologique	20
6.3.	Identification enzymatique	21
7.	Thérapeutique	21
7.1.	Dérivés pentavalents de l'antimoine	22
7.2.	La Pentamidine	22
7.3.	L'Amphotericine B	22
7.4.	Les Quinolones	23
7.5.	L'Allopurinol	23
8.	Prophylaxie	23
8.1.	Prophylaxie sanitaire	23
8.2.	Prophylaxie médicale : Vaccination	26

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODES

I.	Objectif	27
II.	Présentation de la région d'étude	27

II.1. Enquête rétrospective	28
II.2. Enquête sérologique	28
II.2.1. Population canine étudiée	28
II.2.2. Examen clinique	29
II.2.3. Prélèvement du matériel biologique	30
II.2.4. Tests sérologiques	30
II.2.4.1. Diagnostic de terrain « SPEED LEISH K »	30
II.2.4.2. Immuno-Fluorescence Indirecte « IFI »	32
II.3. Enquête entomologique	35
II.3.1. Sites de l'étude	36
II.3.2. Capture des phlébotomes « Piégeage Adhésif »	38
RÉSULTATS ET DISCUSSION	
I. Enquête rétrospective	42
II. Influence du facteur « climat »	43
III. Enquête sérologique	45
IV. Enquête entomologique	48
IV.1. Phlébotomes de la région de M'sila	48
IV.2. Fréquence des phlébotomes en fonction de l'espèce	50
IV.3. Fréquence des espèces phlébotomiennes en fonction du sexe	51
IV.4. Représentation des espèces capturées par station	51
CONCLUSION	61
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

LISTE DES FIGURES

	Figure	page
1	Formes Promastigotes	4
2	Formes Amastigotes	4
3	Phlébotome femelle avant et après repas sanguin	6
4	Cycle de vie des phlébotomes	7
5	Cycle Evolutif de <i>Leishmania</i>	9
6	Distribution de la leishmaniose cutanée (a gauche) et viscérale (a droite) dans l'ancien et le nouveau monde	11
7	Onychogryphose	16
8	A gauche : épistaxis ; à droite : dermatite auriculaire	16
9	Chien Leishmanien Cachectique	18
10	Localisation de la wilaya de m'sila (en haut) et les communes ciblées par l'étude (en bas)	28
11	Base de données des chiens prélevés	29
12	Chiens prélevés	30
13	SPEED LEISH K (1 cellule test, pipettes a usage unique et le flacon de réactifs)	31
14	Laboratoire d'immunologie (IPA)	32
15	Fixation dans l'acétone	33
16	Dilution des sérums	33
17	Dilutions déposés sur des spots et mises à l'étuve	34
18	Lavage au PBS	34
19	Coloration au Bleu d'Evans	35
20	Microscope à fluorescence	35
21	Témoin positif sous microscope	35
22	Station de Maadid	36
23	Station de Ouled derradj	36

24	Station de Souamaa	37
25	Station de Metarfa	37
26	Différents Gîtes Prospectés	39
27	Traitement des phlébotomes	41
28	Evolution des cas de la leishmaniose cutanée humaine dans la wilaya de M'Sila (2002-2013)	42
29	Répartition des espèces en fonction du genre	49
30	Répartition des espèces capturées du genre <i>Phlebotomus</i>	50
31	Répartition des espèces capturées du genre <i>Sergentomya</i>	51
32	Représentation des espèces capturées par station.	52
33	Répartition des espèces capturées dans la station de Maadid	53
34	Répartition des espèces capturées dans la station de Ouled-Derradj	54
35	Répartition des espèces capturées dans la station de Souamaa	55
36	Répartition des espèces capturées dans la station de Metarfa	56

LISTE DES TABLEAUX

	Tableau	page
1	Séroprévalence de la leishmaniose canine dans quelques pays du bassin méditerranéen ces 10 dernières années	12
2	Prévalence de la leishmaniose canine en Algérie dans différentes enquêtes de 1910 à 2006.	13
3	Nombre de cas de leishmaniose cutanée et viscérale de 2002 à 2013	42
4	Données climatologiques enregistrées par la station météorologique de M'Sila (année 2013)	44
5	Liste systématique des phlébotomes de la région de M'sila.	48
6	Différentes espèces capturées	49
7	Abondance des espèces capturées par station	52
8	Espèces de phlébotomes de la station de Maadid.	53
9	Espèces de phlébotomes de la station de Ouled-Derradj	54
10	Espèces de phlébotomes de la station de Souamaa	55
11	Espèces de phlébotomes de la station de Metarfa	56

LISTE DES ABREVIATIONS

CMH: Complexe majeur d'histocompatibilité

DSP: Direction de la santé et de la population

ELISA: Enzyme Linked Immuno- Sorbent Assay

IFI: Immunofluorescence indirect

IgG: Immunoglobuline type G

IPA: Institut Pasteur d'Algérie

IRD: Institut de recherche pour le développement

L. Can: leishmaniose canine

LC: Leishmaniose cutanée

LCH: leishmaniose cutanée humaine

LV: leishmaniose viscérale

LVH: leishmaniose viscérale humaine

MO: Microscopie optique

MON: Pour Montpellier

NNN: Novy-Mac Neal-Nicolle

OMS: organisation mondiale de la santé

PCR: Polymerase Chain Reaction

RPMI: Roswell Park Memorial Institute medium

Th1/ Th2: lymphocyte T helper

Introduction

La leishmaniose est une maladie commune à l'homme et aux animaux, provoquée par un parasite protozoaire flagellé du genre *Leishmania*, transmis par la pique d'un insecte appelé phlébotome (Dedet, 1999).

Le foyer leishmanien est un espace géographique où se trouvent réunis les facteurs biotiques et abiotiques nécessaires au fonctionnement du complexe pathogène. En font partie : les acteurs proprement dits du cycle épidémiologique, c'est à dire la chaîne des hôtes, tant vecteurs que réservoirs et bien entendu, des parasites eux-mêmes ; et des facteurs extrinsèques biotiques et abiotiques qui interviennent directement ou indirectement sur ces organismes (Rioux, 2007).

La leishmaniose humaine existe sous trois principales formes : la forme cutanée (la plus fréquente), muco-cutanée et viscérale (la plus sévère appelée également Kala-Azar). Cette dernière, compte parmi les maladies les plus graves et constitue un véritable problème de santé publique largement répandu dans le monde. La maladie est endémique dans 88 pays menaçant 350 millions de personnes, 2 millions de nouveaux cas se produisent chaque année dont 500 000 cas de leishmaniose viscérale et 1 500 000 cas de leishmaniose cutanée. (OMS., 2011).

L'Algérie compte parmi les pays les plus exposés, de part un milieu favorable au maintien des cycles et une forte population rurale. La diversité de ses étages bioclimatiques assure l'existence de deux entités cliniques et épidémiologiques sévissant à l'état endémique. Ces dernières appartiennent à des complexes épidémiologiques différents, faisant intervenir des vecteurs et des réservoirs de parasites distincts. La leishmaniose cutanée zoonotique dont l'agent causal est *Leishmania major* localisée dans les régions steppiques et sahariennes et admettant le rongeur comme réservoir. 10.000 nouveaux cas ont été recensés parmi les 15 millions de personnes exposées en zones d'endémie (Biskra, M'sila, Batna...). La leishmaniose cutanée sporadique et la leishmaniose viscérale dont l'agent responsable est *Leishmania infantum* se répartissent sur toute la partie nord du pays (principalement autour du bassin méditerranéen). Le chien étant le principal réservoir de *Leishmania infantum*.

Chez le chien, la maladie est protéiforme. Elle aboutit classiquement à une perte de l'état général, une cachexie prononcée et une insuffisance rénale. En l'absence de mise en place d'un traitement efficace, l'issue est généralement fatale. Le pronostic est toujours sombre en raison d'une thérapeutique limitée et le risque élevé sur la santé publique.

L'aire de répartition de *L. infantum* correspond à celle de la leishmaniose canine. Le chien est un indicateur de la transmission du parasite dans les zones endémiques. En effet, le contrôle de cette maladie chez le chien est une mesure épidémiologique primordiale pour la surveillance et le suivi de la leishmaniose cutanée sporadique et la leishmaniose viscérale humaine en Algérie.

La wilaya de M'sila, foyer habituel de la leishmaniose cutanée est le plus important après Biskra, cette région connaît, depuis 1982, de graves épidémies affectant, plusieurs milliers de personnes. Pour ce qui est des cas de la leishmaniose viscérale humaine dans la région de M'sila, ce sont des cas autochtones qui ont été rapportés chez des enfants n'ayant jamais quitté la wilaya.

En 1999, une enquête a été menée dans la région de M'sila par le service de parasitologie de l'Institut Pasteur d'Algérie, uniquement deux chiens sur les 50 prélevés ont été révélés positifs dans la commune de Ouled Derradj mais la recherche n'a pas été poursuivie par faute de moyens.

Le présent travail comporte deux parties ; la première a pour but de connaître la situation de la leishmaniose canine dans la région de M'sila, foyer habituel de la leishmaniose cutanée zoonotique et viscérale. La deuxième partie a été consacrée à l'identification des phlébotomes de la même zone d'étude, plus particulièrement dans des stations choisies à différentes altitudes afin d'actualiser la liste des espèces locales incriminées dans la transmission du parasite responsable de l'apparition des leishmanioses dans la région de M'sila.

Nous avons commencé, dans un premier temps, par étudier l'agent pathogène responsable de leishmaniose, l'épidémiologie de la maladie, son aspect clinique avec notamment l'étude des symptômes et des lésions. Nous nous sommes intéressés aux différentes étapes de l'examen en vue d'établir le diagnostic. Nous avons par la suite présenté les méthodes de lutte et de prévention. Dans la partie expérimentale, nous avons effectué une étude préliminaire afin d'estimer la prévalence de l'leishmaniose canine sur la population canine de la wilaya de M'sila et une identification des différentes espèces de phlébotomes sévissant dans la région.

1. Définition

La leishmaniose canine est une protozoose infectieuse, inoculable, et exceptionnellement contagieuse, due au développement et à la multiplication dans les cellules du système des phagocytes mononuclées d'un parasite flagellé : *Leishmania infantum*, transmis par la piqure d'un Psychodidé, insecte appartenant au genre *Phlebotomus*.

Ce parasite est responsable d'une maladie protéiforme, à symptomatologie très polymorphe, associant des lésions cutané-muqueuses aux atteintes viscérales. C'est « une leishmaniose générale », plus qu'une leishmaniose viscérale au sens strict. Maladie chronique, évoluant sur plusieurs mois, elle est difficilement curable, fréquemment sujette à des rechutes, et donc de pronostic assez réservé. La mort de l'animal est inévitable sans traitement.

Chez l'Homme, on distingue deux formes bien distinctes : une leishmaniose viscérale et une leishmaniose tégumentaire. Cette dernière, comprend une forme cutanée et une forme cutané-muqueuse. Cette distinction n'a pas lieu d'être chez le chien, qui n'exprime qu'une leishmaniose générale, atteignant tout l'organisme.

2. Importance

L'OMS les classe à la 9ème position des maladies infectieuses les plus répandues sur terre (Desjeux, 2004). Les leishmanioses sont considérées comme des pathologies infectieuses qui affectent principalement les régions rurales et suburbaines les plus pauvres du globe (Alvar et al., 2006).

Les leishmanioses sont endémiques dans 88 pays du monde, principalement dans la zone intertropicale et les zones tempérées d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie.

L'importance de la leishmaniose canine est très grande, tant sur le plan médical, économique que social. Médicale, car liée à la difficulté du diagnostic ; économique par rapport au coût du traitement, au suivi médical et à la sérologique qui s'avèrent parfois indispensables, et sociale, par son aspect zoonotique (Desjeux, 2004).

3. Épidémiologie

3.1. Caractéristiques du parasite *L. infantum*

3.1.1. Taxonomie

Leishmania infantum est un Protozoaire Flagellé appartenant au genre *Leishmania* Ross 1903. En pratique, le genre *Leishmania* est divisé en deux sous-genres : *Leishmania*, présent dans l'Ancien et

le Nouveau Monde et *Viannia* rencontré uniquement au Nouveau Monde. Au sein de ces sous-genres ont été individualisés des complexes d'espèces.

La classification du genre, d'après Levine *et al.* (1980), est la suivante :

REGNE :	Protista	Haeckel, 1866
SOUS-REGNE :	Protozoa	Goldfuss, 1817 émendé Siebold, 1848
EMBRANCHEMENT :	Sarcomastigophora	Honigberg et Balamuth, 1963
SOUS-EMBRANCHEMENT :	Mastigophora	Diesing, 1866
CLASSE :	Zoomastigophorea	Calkins, 1909
ORDRE :	Kinetoplastida	Honigberg, 1963 émendé Vickerman, 1976
SOUS-ORDRE :	Trypanosomatina	Kent, 1880
FAMILLE :	Trypanosomatidae	Döflein, 1901 émendé Grobben, 1905
GENRE :	<i>Leishmania</i>	Ross, 1903
SOUS-GENRE :	<i>Leishmania</i>	Ross, 1903
ESPECE :	<i>Leishmania infantum</i>	Nicolle, 1908

3.1.2. Morphologie

Au cours de leur cycle biologique, les *Leishmania* se présentent sous deux stades morphologiques : forme promastigote, flagellée chez le vecteur et forme amastigote, intracellulaire chez l'hôte mammifère.

- **Les promastigotes :** sont des parasites extracellulaires mobiles dans le tube digestif de l'insecte et en culture. Ils présentent un corps plus ou moins fuselé de 5 à 20 μm de longueur et de 1 à 4 μm de largeur avec un noyau est central. Le kinétoplaste est situé en position antérieure, prolongé par un flagelle qui émerge de leur pôle antérieur, sa longueur peut atteindre jusqu'à 20 μm . La forme promastigote présente différents stades de développement dépendant du lieu et du temps passé dans le système digestif du vecteur (Daeninckk, 1998).
- **Les amastigotes :** Il s'agit d'un petit corpuscule ovoïde ou sphérique de 2 à 6 μm de diamètre, présentant un noyau, un kinétoplaste, et une ébauche de flagelle ne faisant pas saillie à l'extérieur (Daeninckk, 1998).

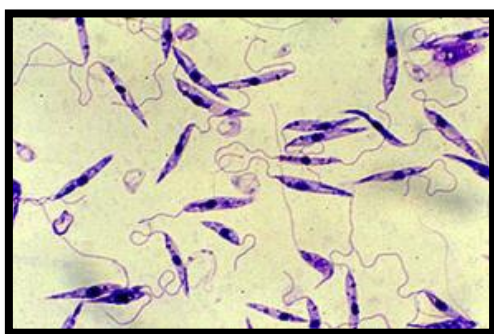


Figure 1 : Formes Promastigotes

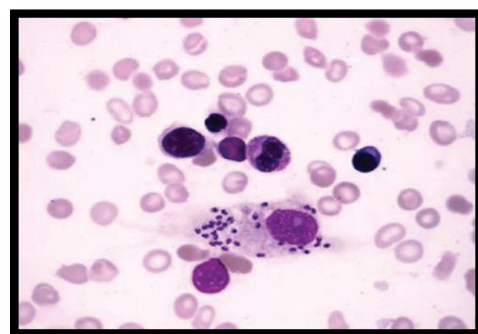


Figure 2: Formes Amastigotes

www.phsource.us/PH/HELM/PH_Parasites/Leishmaniasis.htm // www.ijpmonline.org

3.1.3. Biologie

La reproduction des leishmanies se fait essentiellement sur un mode asexué par division binaire (mitose). Elle commence par la naissance d'un flagelle fils, qui est suivi par la division nucléaire, puis les chromosomes non condensés se répartissent dans les noyaux et enfin le kinétoplaste se divise à son tour (Killick-Kendrick, 1979). On ne connaît pas de stades sexués chez ce protozoaire, bien que des échanges génétiques soient fortement suspectés par fusion cellulaire (Lanotte et Rioux., 1990).

3.2. Caractéristiques du vecteur

3.2.1. Taxonomie

D'après Pressat (1905) et Holstein (1949) in Lounaci (2003), les phlébotomes appartiennent au sous ordre des Nématocères à corps élancés et antennes longues de 14 à 15 articles. Selon les auteurs, les phlébotomes constituent soit une famille ; Phlebotomidae (Perfiliev, 1966; Abonnenc, 1972 ; Abonnenc et Leger., 1976) soit une sous famille, *Phlebotominae* (Fairchild, 1955; Henning, 1972; Dukhouse, 1973; Lewis, 1977).

A l'heure actuelle c'est cette dernière classification qui est adoptée. Les *Phlebotominae* se trouvant alors inclus avec trois autres sous familles (*Bruchomyiinae*, *Trichomyiinae*, *Psychodinae*) dans la famille des *Psychodidae*, qui regroupent 13 genres réparties entre l'ancien et le nouveau monde (Léger et Depaquit., 1999), 7 genres appartiennent à l'ancien monde (Theodor et Mesghali., 1964). 90 % des espèces sont représentées par les genres *Phlebotomus* et *Sergentomyia* de l'ancien monde et les genres *Lutzomyia* et *Brumptomyia* qui sont bien connus du nouveau monde (Léger et Depaquit., 2002). La première espèce a été décrite en 1786 par Scopoli et la seconde en 1848 par Rondani et signalée pour la première fois en Algérie en 1912 (Foley et Leduc., 1912 in Dedet et al., 1984).

Environ huit cent espèces de phlébotomes ont été décrites dans le monde parmi lesquelles quarante assurent la transmission de la leishmaniose et des arboviroses (Baldet, 2004). Dix neuf espèces appartenant à deux genres ont été confirmées comme vecteurs des différentes espèces de *Leishmania* (Hausmann et al., 1996), le genre *Phlebotomus* prédominant dans l'Ancien Monde (sud de l'Europe, Afrique, Proche-Orient et Asie) et genre *Lutzomyia* dans le Nouveau Monde (Amériques du Nord, du Sud et Centrale). Quatre autres genres existent et ne transmettent pas la maladie chez l'homme. Il s'agit de *Sergentomyia spp*, *Werileya spp*, *Hertigia spp* et *Brumptomyia spp* (Baldet, 2004).

3.2.2. Description et biologie

Le Phlébotome est un insecte de coloration jaunâtre et terne. Ses ailes sont lancéolées, velues et abondamment nervurées. Il mesure environ 2 à 3 mm de long. Sa tête fait un angle de 45° avec l'axe de son thorax et est munie de deux yeux noirs relativement grands et d'une paire d'antennes velues très longues. Au repos, les ailes restent dressées, ce qui donne à l'insecte une allure caractéristique.

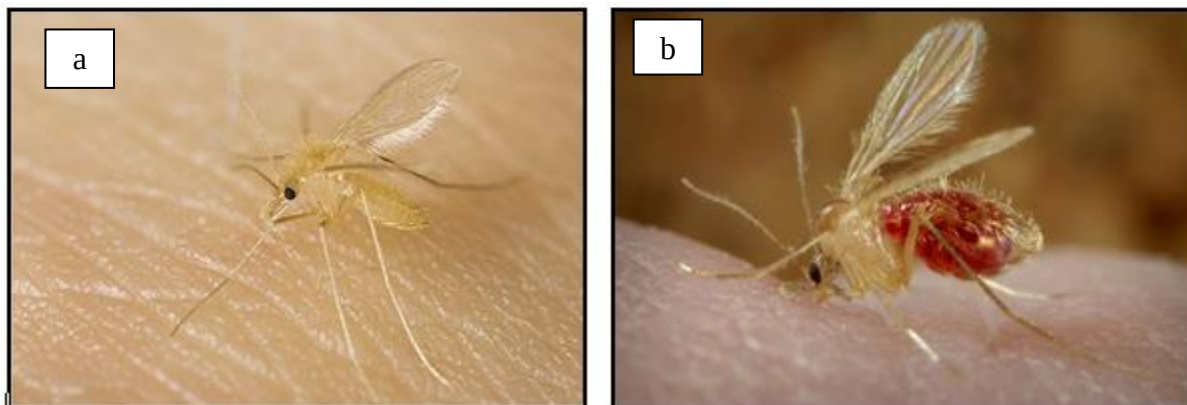


Figure 3 : Phlébotomes femelle avant (a) et après (b) un repas sanguin
(Killick-Kendrick et al., 1994)

Les phlébotomes sont généralement disséminés dans les régions de basse et moyenne altitude qui correspondent à des conditions écologiques précises (Dolamtova et al., 1971) ; le type de végétation semble jouer un rôle dans la distribution des différentes espèces de phlébotomes (Rioux et al., 1969).

Les phlébotomes s'installent dans des endroits caractérisés par le calme et la tranquillité à proximité d'hôtes vertébrés nécessaires au repas de sang, tels les étables, les écuries, les poulaillers....etc. Pendant la journée les phlébotomes adultes gîtent dans des abris choisis généralement pour leurs conditions d'existence optimales ; dont le microclimat leur est plus favorable, ces gîtes sont représentés par divers biotopes tels que les cavernes, les crevasses de rochers, les terriers de rongeurs, les creux dans les arbres et autres abris naturels de ce genre (Dolamtova et al., 1971).

Selon les espèces, l'accouplement a lieu avant, pendant ou après le premier repas sanguin, que ce soit en vol ou a terre (Kettle, 1995 ; Moulinier, 2003). Il n'est pas rare que d'autres accouplements aient lieu Lors de nouveaux cycles gonotrophiques (Leger et al., 1999). L'oviposition est déclenchée par la maturité ovarienne et par la disponibilité des gîtes propices au développement des stades pré-imaginaux (Tesh et Guzman., 1996). Le contact avec une surface humide provoque l'oviposition, les œufs se développeront ensuite en larves sur le sol, dans les

terriers, les nids, la poussière des anfractuosités de rochers ou de vieux murs, les tas de débris végétaux, puis on pourra observer une pupa et enfin un imago.

Les œufs sont pondus un à un, non agglomérés, par lots de quelques dizaines dans ou à proximité des lieux de repos, leur maturation se produit en même temps que la digestion du sang. Au bout de 4 à 10 jours (Feliciangeli, 2004 ; Rutledge, 2009). Le temps entre un repas sanguin et la maturation des œufs est fonction de l'espèce, de la vitesse de digestion et de la température ambiante. Pour des colonies de laboratoire, la période varie de 4 à 8 jours (Killick-Kendrick, 1990). La durée de développement de ces stades immatures, dès l'éclosion à l'émergence de l'adulte, est tributaire des facteurs externes particulièrement de la température, de l'humidité et la quantité de nourriture. La baisse de température lors de la mauvaise saison, couplée à un accroissement de l'humidité, provoquent la diapause au 4ème stade larvaire (Vattier-Bernard, 1970).

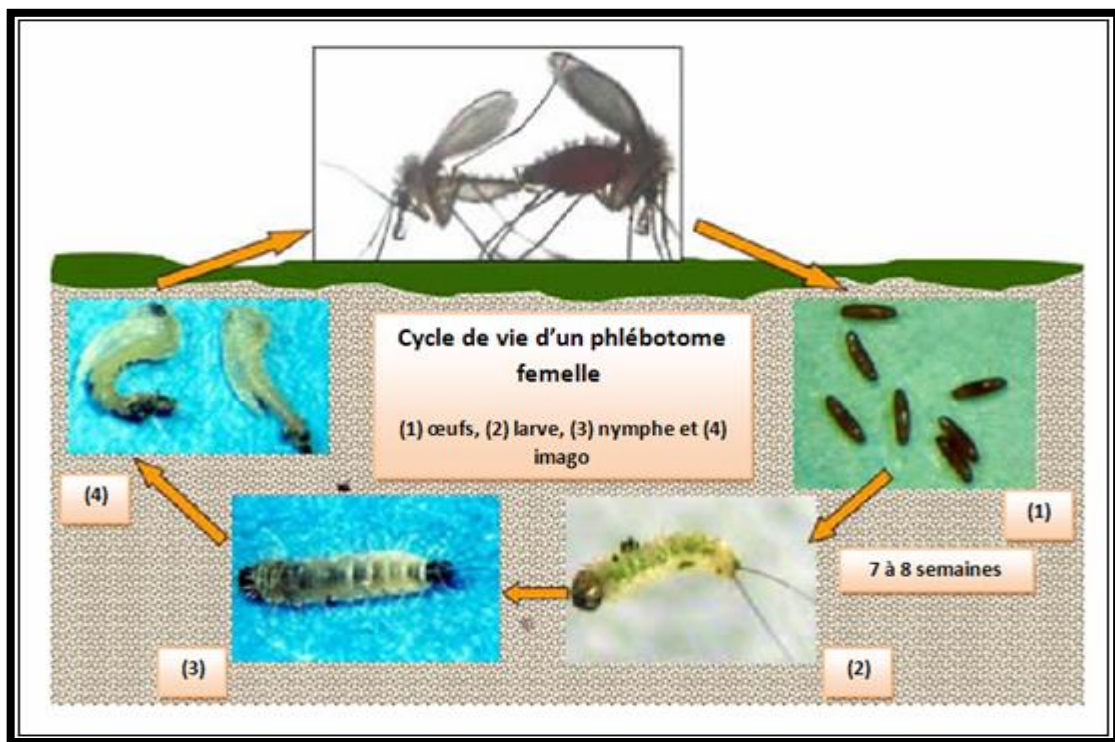


Figure 4 : Cycle de vie des phlébotomes (Molina et al., 1994)

3.2.3. Comportement

La saison classique des phlébotomes peut varier en fonction des conditions climatiques (Scalibor, 2008). Dans les régions tropicales, les phlébotomes adultes sont actifs toute l'année, alors que dans les régions tempérées, ils disparaissent l'hiver, la pérennité de l'espèce étant assurée par les

larves de stade IV qui entrent en diapause. Leur apparition, leur densité, leur période d'activité et leur disparition varient suivant la latitude, l'altitude, la saison et l'espèce (Abonnec, 1972).

Les Phlébotomes se déplacent par vols courts et saccadés, avec des arrêts fréquents ; leur rayon maximum de déplacement est d'environ 2.5 km. Ils ont une activité nocturne (Izri et Belazzoug, 2007), ils commencent à s'agiter au crépuscule à condition que la température soit suffisante (19- 20° C) et s'il n'y a pas de vent et si le degré hygrométrique est élevé. Certaines espèces sont attirées par la lumière, le plus souvent de faible intensité, d'autres espèces sont endophiles et pénètrent volontiers dans les maisons, les étables, etc. D'autres sont exophiles (Leger et depaquit., 2001) ; très sensibles aux courants d'air, ils ne se déplacent que par des temps absolument calmes. Leur vol est silencieux et s'effectue par bonds rapides sur des parois verticales de bas en haut lorsqu'ils sont dérangés.

3.3. Caractéristiques du réservoir

Les réservoirs naturels des *Leishmania* sont des mammifères domestiques ou sauvages, ces derniers appartiennent à divers ordres : carnivores, rongeurs, marsupiaux, édentés, primates ou périssodactyles. Dans certains cas, l'homme est l'unique réservoir du parasite (Dereure, 1999).

Leishmania infantum affecte principalement le chien domestique (*Canis familiaris*) (Bettini et Gradoni., 1986 ; Alvar et al., 2004 ; Dantas-Torres et Brandão-Filho., 2006), cependant plusieurs auteurs ont signalé la présence de *L. infantum* chez certains canidés sauvages. L'infection a été décrite chez le chacal (*Canis aureus*) ; le renard (*Vulpes vulpes*) ; le fennec du Sahara (*Fennecus zerda*) ; le loup (*Canis lupus*) ; la mangouste égyptienne (*Herpestes ichneumon*) ; la genette d'Europe (*Genetta genetta*) et le lynx ibérien (*Lynx pardinus*) (Sobrino et al., 2008).

Les équins ainsi que les chats (*Felis felis*) ont été trouvés parasités en zone de forte endémie et ont même présenté des signes cliniques, surtout cutanés (Ozon et al., 1998 ; Grevot et al., 2005 ; Martin-Sanchez et al., 2007).

Les rongeurs peuvent dans certains pays jouer le rôle de réservoir et contribuer à l'entretien du parasite. Les bovins, ovins et caprins semblent réceptifs aux leishmanies mais ne sont pas sensibles, et peuvent être considérés comme des impasses épidémiologiques (Martin-Sanchez et al., 2007).

Il a été prouvé que les chiens infectés sont une source d'infection pour les phlébotomes ; *L.m. longipalpis* (Deane et Deane., 1955) et *P. perniciosus* (Molina et al., 1994), les principaux vecteurs de l'agent étiologique de la leishmaniose viscérale dans l'ancien et le nouveau monde,

respectivement. Ces insectes peuvent facilement s'adapter à l'environnement péri-domestique ou des habitations humaines et se nourrir fréquemment sur les chiens (Killick-Kendrick, 1999 ; Feliciangeli, 2004 ; Lainson et Rangel., 2005).

3.4. Cycle de vie et modalités de transmission

Le cycle évolutif des *Leishmania* est un cycle hétéroxène, nécessitant un hôte vertébré (animal et/ou homme), et un vecteur biologique (le Phlébotome). Les mécanismes de transmission utilisés par le parasite *Leishmania* sont la clef de voute du maintien de son cycle de vie. La seule voie de transmission prouvée jusqu'à présent est la piqûre du Phlébotome femelle. Il débute par le repas sanguin du phlébotome sur un vertébré leishmanien (Killick-Kendrick, 2002).

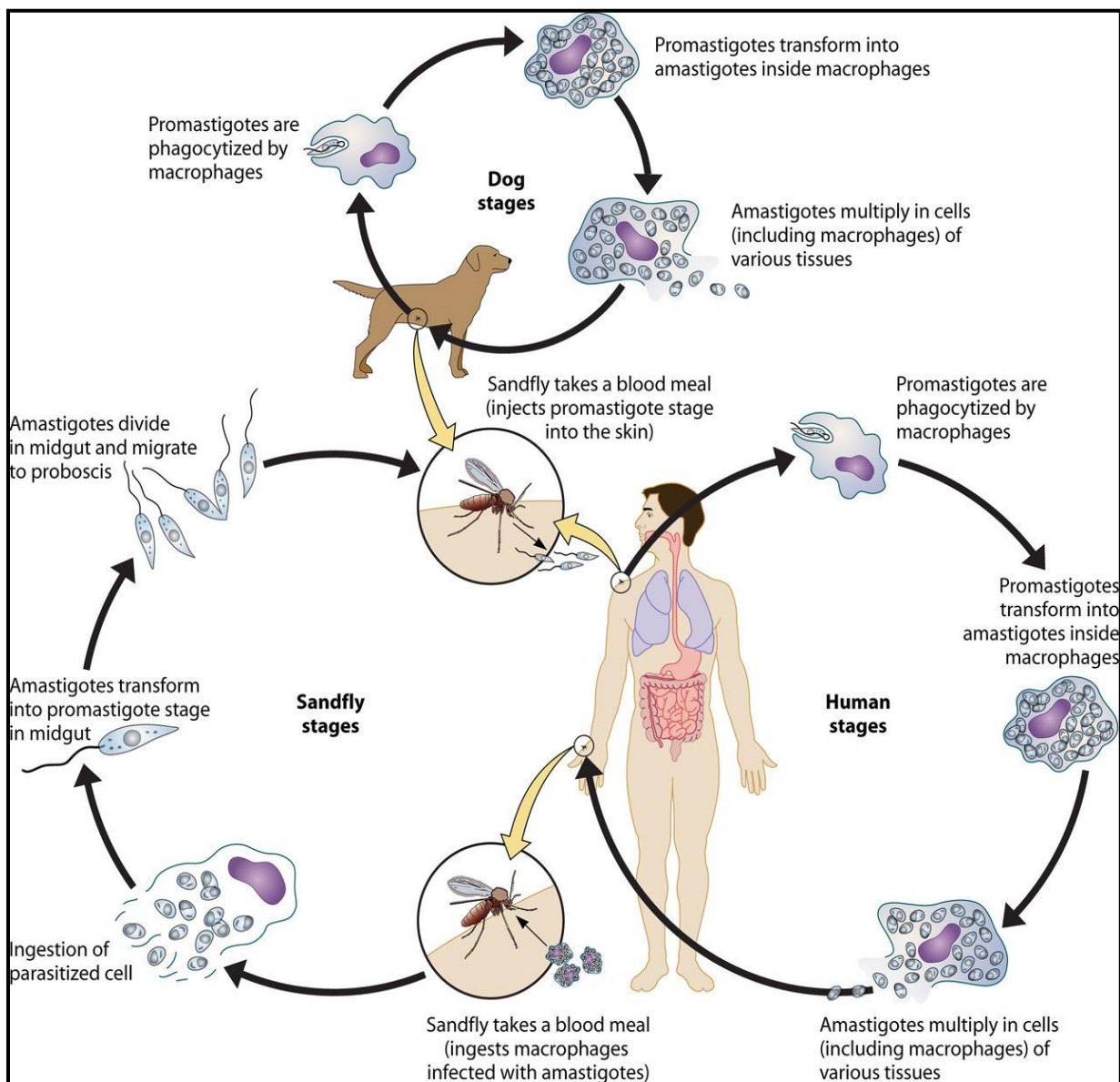


Figure 5 : Cycle Evolutif de *Leishmania* (Lipoldová *et al.*, 2006)

L'insecte va ingérer par la même occasion de la lymphe dermique, où se trouvent des macrophages parasités par des leishmanies (forme amastigote). Les amastigotes évoluent en promastigotes procycliques qui s'échappent de la membrane péritrophique (enveloppant le repas sanguin) et se multiplient dans la lumière de l'intestin moyen de l'insecte. Par la suite les parasites se dirigent vers l'intestin antérieur de l'insecte, où, devenant des promastigotes métacycliques, ils acquièrent leur virulence. Les leishmanies se fixent alors au cardia du phlébotome. La durée pendant laquelle les leishmanies se développent au sein du phlébotome dépend des espèces en jeu, mais est en moyenne de cinq jours (Gramiccia et al., 2007). Le phlébotome pourra transmettre des promastigotes infectants à ce terme, et ce durant toute sa vie, qui peut durer plusieurs mois (Rodhain et al., 1985).

Les leishmanies formes promastigotes ainsi inoculées aux vertébrés seront phagocytées par des macrophages, elles s'y transformeront en formes amastigotes qui se multiplieront par division binaire dans le phagolysosome. Le macrophage sera lysé à cause d'un trop grand nombre de parasites, les leishmanies iront alors coloniser de nouveaux macrophages, permettant l'extension de la maladie.

Après infection des macrophages dermiques, d'autres monocytes/macrophages vont être envahis par les parasites. Ces derniers disparaissent rapidement du tissu cutané pour se localiser au niveau des ganglions, où d'autres macrophages vont être infectés. La dissémination tissulaire se fait donc probablement grâce aux monocytes/macrophages (Hommel, 1999). Cependant la présence du parasite dans le sang circulant suggère une dissémination par voie hématogène vers d'autres organes (rate, foie, moelle osseuse).

3.5. Répartition géographique

La leishmaniose canine à *L. infantum* est une maladie cosmopolite à distribution mondiale. Elle est présente en grande majorité dans des régions intertropicales, mais également dans les régions tempérées d'Afrique du Nord, d'Europe et d'Asie (Alvar et al., 2004), plus particulièrement dans les zones humides à semi-humides.

3.5.1 Dans le monde

Les leishmanioses sont présentes sur tous les continents ; 88 pays sont endémiques. Près de 350 millions de personnes, soit 6 % de la population mondiale sont exposées au risque de contamination et 12 millions de personnes sont infectées. Le nombre de nouveaux cas par an diagnostiqués cliniquement s'élève à deux millions (500 000 pour la leishmaniose viscérale humaine et 1500 000 pour la leishmaniose cutanée humaine). Les pays les plus durement touchés par la leishmaniose viscérale sont le Bangladesh, le Brésil, l'Inde, le Népal et le Soudan. Quant à la

leishmaniose cutanée, 90 % des nouveaux cas se situent en Afghanistan, au Brésil, en Iran, au Pérou, en Arabie Saoudite et en Syrie (OMS 2011). La leishmaniose est donc l'une des préoccupations majeures de l'OMS, au même titre que le sida, le paludisme et la tuberculose ; c'est d'ailleurs un des six programmes de lutte prioritaire pour l'OMS.

Soixante-dix pays sont concernés et 200 millions d'individus sont exposés au risque de leishmaniose viscérale. On estime à 500 000 le nombre de nouveaux cas chaque année. En outre, les grandes épidémies meurtrières survenues dans le monde ont été notifiées en Inde (300 000 cas) entre 1977 et 1980 et au Soudan (100 000 morts entre 1989 et 1994). Selon les estimations, sur les 500 000 nouveaux cas développés chaque année, 50 000 sont mortels (OMS 2011).

Les deux espèces les plus souvent incriminées sont *L. donovani*, responsable de la forme anthroponotique (sous continent indien, Chine et Afrique de l'Est) et *L. infantum*, responsables de la forme zoonotique (bassin méditerranéen, Afrique subsaharienne, Amérique du Sud, Asie centrale, Chine) (Aubry, 2008)

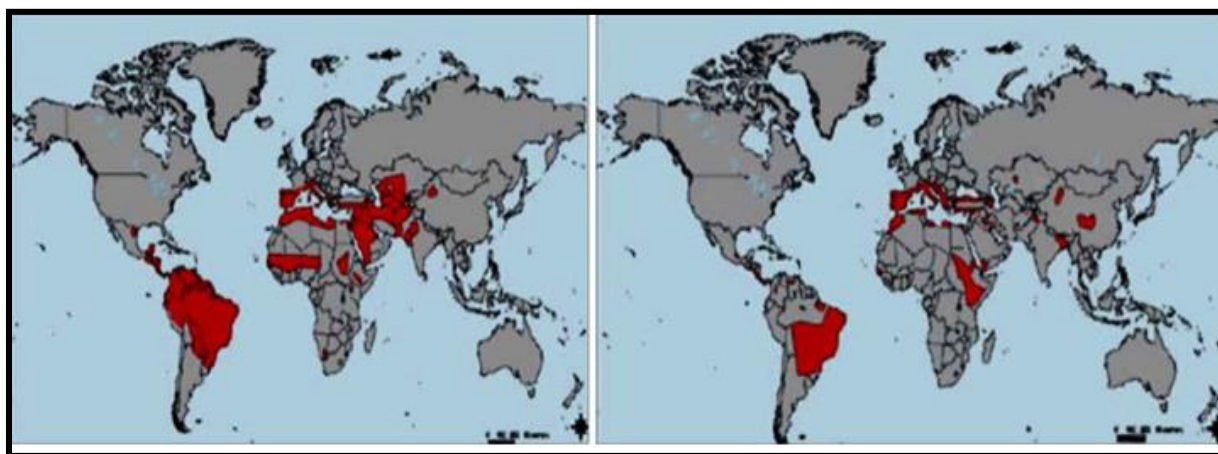


Figure 6 : Distribution de la leishmaniose cutanée (à gauche) et viscérale (à droite) dans l'ancien et le nouveau monde (Santos et al., 2008)

La distribution géographique des différentes espèces de *Leishmania* dans le monde s'apparente de très près à celle de l'insecte vecteur. Les régions les plus touchées sont l'Amérique de Sud, le bassin méditerranéen, le Moyen-Orient et l'Asie.

3.5.2. Autour du bassin méditerranéen

Le pourtour du bassin méditerranéen est particulièrement touché par cette affection, qui a été rapportée dans presque tout les pays riverains de la Méditerranée, avec des prévalences relativement variables (Tableau 1), déterminées par l'abondance des vecteurs responsable de sa

transmission. En général, elle sévit dans toutes les aires de distribution géographique de certaines espèces de phlébotome.

Les souches de *Leishmania* isolées à partir du chien appartiennent toutes au complexe *L. infantum*. Le zymodème le plus fréquemment isolé est le zymodème MON-1 ; cependant plusieurs autres zymodèmes ont été à ce jour identifiés (MON-24, MON-34, MON-72, MON-77, MON-98, MON-105, MON-108, MON-199 et MON-281) (Pratlong et al., 2004 ; Ait-Oudhia et al., 2009). Toutefois, les chiens ont été retrouvés naturellement infectés par *L. tropica*, responsable d'une forme cutanée de la leishmaniose chez l'homme (Dereure et al., 1991).

Tableau 1 : Séroprévalence de la leishmaniose canine dans quelques pays du bassin méditerranéen (Ait-Oudhia et al., 2011).

Pays	Prévalence	Références
Algérie	25.08%	Ait-Oudhia et al., 2009
Bosnie-Herzégovine	45,2%	Jazic et al., 1997
Croatie	42,85%	Zivicnjak et al., 2005
Chypre	26.2%	Deplazes et al., 1998
Espagne	26%	Solano-Gallego et al., 2001
France	26,5%	Neogy et al., 1992
Grèce	24,4%	Papadopoulou et al., 2005
Israël et Palestine	9,2%	Nesereddin et al., 2006
Italie	33,3%	Zaffaroni et al., 1999
Malte	30,9%	Gradoni, 1999
Maroc	8,6%	Nejjar et al., 1998
Portugal	20,4%	Cardoso et al., 2004
Tunisie	6,2%	Dedet et al., 1973
Turquie	20.7%	Ozensoy et al., 2009

3.5.3 En Algérie

L'Algérie compte parmi les pays les plus exposés. Elle est concernée par trois formes cliniques sévissant à l'état endémique : la leishmaniose viscérale, la leishmaniose cutanée sporadique et la leishmaniose cutanée zoonotique.

Le premier cas de leishmaniose canine notifié en Algérie, a été décrit à Alger en 1910 par les frères Sergent. Depuis, plusieurs études épidémiologiques se sont succédées principalement dans la région d'Alger et en Grande Kabylie, de 1910 à 2009. Insignifiante au début du siècle dernier où elle était aux alentours de 3%, l'infection a considérablement augmenté et a atteint ces dernières années plus de 23%. (Tableau 2)

Tableau 2 : Prévalence de la leishmaniose canine en Algérie dans différentes enquêtes de 1910 à 2009.

Période d'étude	Prévalence	Références
1910	7,2 %	Sergent Ed & Sergent Et, 1910
1912	8,8 %	Senevet, 1912
1913	2,57 %	Lemere <i>et al.</i> , 1913
1949	4,87 %	Loufrani, 1949
1950	10,5 %	Poul, 1950
1973	2,52 %	Dedet <i>et al.</i> , 1973
1986	6,8 %	Belazzoug, 1987
1990-1995	36,5 %	Harrat <i>et al.</i> , 1995
2002-2005	18,5 %	Harrat, 2006
2006-2009	25,08%	Ait-Oudhia <i>et al.</i> , 2009

Toutes les souches isolées et identifiées au cours d'enquêtes appartiennent à *L. infantum*. Cinq zymodèmes ont été identifiés dans le pays : MON-1, MON-24 et MON-281 à Alger (Benikhlef *et al.*, 2004 ; Ait-Oudhia *et al.*, 2009), MON-34 et MON-77 en Grande Kabylie (Dereure, 1993 ; Harrat *et al.*, 1996).

La leishmaniose viscérale est Considérée classiquement comme une affection de l'enfant, répartie au Nord du pays au niveau des étages bioclimatiques humides et sub-humides (Izri *et al.*, 1990). L'apparition de la maladie dans les régions arides et semi-arides connues pour être des foyers de leishmaniose cutanée zoonotique a été déjà signalée. Tel à Biskra, foyer de leishmaniose cutanée où des cas de leishmaniose viscérale ont été trouvés. (Belazzoug *et al.*, 1986).

La leishmaniose cutanée quant à elle, existe sous trois entités distinctes ; la leishmaniose cutanée zoonotique due à *L. major*, la leishmaniose cutanée du nord due à *L. infantum* et la leishmaniose cutanée due à *L. killicki*, variants enzymatiques.

- La leishmaniose cutanée (LC) à *L. major* est appelée leishmaniose cutanée zoonotique, elle est connue en Algérie sous le nom de clou de Biskra ou Hab-es-sana (bouton d'un an) décrit par Hamel en 1860 (Sergent *al.*, 1923). Cette forme est présente dans les zones semi-arides et arides présahariennes. Les rongeurs constituent le principal réservoir et la transmission est assurée essentiellement par *Phlébotomus papatasi* (Scopoli 1786) (Dedet, 1984). Ces dernières années, la barrière séparant *L. major* et *L. infantum* a été franchie et la localité d'El M'hir située sur le versant nord de l'Atlas tellien a été la première commune touchée par une épidémie à *L. major* (Boudrissa *et al.*, 2012)

- La leishmaniose cutanée à *L. infantum*, appelée leishmaniose cutanée sporadique (ou du nord) est connue en Algérie sous le nom de clou de Mila. Elle a été rapportée par Sergent en 1923 (Sergent E, 1923). L'aire de répartition de cette entité se confond avec celui de la leishmaniose viscérale : dans les étages bioclimatiques humides et sub-humides (Belazzoug et al., 1985), la transmission du parasite est assurée par *Phlebotomus perfiliewi* (Izri et al, 1993), le réservoir animal est représenté par le chien (Beniakhlef et al., 2004).
- La leishmaniose cutanée à *L. killicki* : isolé récemment dans le sud de l'Algérie dans la région de Ghardaïa d'un *P. sergenti* (Harrat et al., 2009), et transmise par *Phlébotomus sergenti* (Boubidi et al., 2011).

4. Immunopathologie

L'infection leishmanienne dépend d'une phagocytose rapide des promastigotes métacycliques et de leur transformation en amastigotes, qui résistent aux mécanismes de défense cellulaire. La réponse de l'hôte se traduit par un désordre immunitaire caractérisé par une immunodépression.

Chez le chien, jusqu'à présent, on ignore beaucoup des processus de développement de l'infection. En effet les infections expérimentales sont difficiles à réaliser (durée d'incubation variable, différence de sensibilité entre chiens...etc). C'est en étudiant des souris de laboratoire infectées par des leishmanies qu'une partie des mécanismes immunitaires a été élucidée.

La pathogénie est fort complexe et pour de nombreux aspects, encore inconnue. Toutefois, un schéma pathogénique issu des expérimentations effectuées chez diverses souches de souris (Balb/c sensibles versus C56 résistantes) et de l'exploration de l'immunité du chien (Pinelli et al., 1994) peut aujourd'hui être proposé. Le célèbre paradigme Th1 versus Th2 a été historiquement établi chez la souris expérimentalement infectée par *L. major*, ce modèle pouvant dans ses grandes lignes être extrapolé au chien. Le processus complexe peut être présenté en plusieurs étapes :

- Les antigènes leishmaniens sont internalisés par une cellule présentatrice (la cellule de Langerhans migrant dans le derme) aux cellules cibles du système immunitaire, en particulier les lymphocytes T auxiliaires;
- Selon le sujet, les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), certains gènes guidant le fonctionnement du système immunitaire, la nature des premières interleukines présentes,... le système immunitaire élabore une réponse favorable ou défavorable à l'organisme ;

- Une réponse dite Th1 caractérisée par un état « de résistance » à l'encontre des leishmanies : contrôle de la multiplication des parasites, état d'hypersensibilité retardée, faible synthèse d'anticorps (plutôt d'isotype IgG2), aboutissant à un état clinique satisfaisant (peu ou pas de symptômes) et de faibles risques de rechute ;
- Une réponse dite Th2 définissant une grande sensibilité : multiplication et dissémination du parasite au sein de l'organisme, faible état d'hypersensibilité, titres en anticorps très élevés (plutôt d'isotype IgG1) aboutissant à un état clinique très dégradé, et dans le cas de traitement, à des risques importants de rechute.

Ce schéma établi chez la souris et extrapolé dans les grandes lignes au chien permet d'expliquer : (i) la résistance naturelle de certains animaux vis à vis du parasite fondée sur une réponse de type Th1 ; (ii) la grande sensibilité d'autres animaux dont l'état général se dégrade rapidement et qui est fréquemment associé à des rechutes : réponse de type Th2. Il existe vraisemblablement des situations intermédiaires et la possibilité de passage d'un état favorable à un état péjoratif (Solano-Gallego et al., 2000).

5. Symptomatologie

Les signes cliniques de la leishmaniose chez les chiens apparaissent après une période d'incubation de deux à huit mois (G. B. Gaeta et al., 1994), et jusqu'à quinze mois (Rioux et al., 1979). Les symptômes varient considérablement d'un animal à un autre en raison de la diversité des réponses immunitaires et la variété des organes touchés, entraînant plusieurs aspects cliniques (Alvar et al., 2004 ; Baneth et al., 2008). Tout organe pourrait être potentiellement impliqué, mais certains signes sont plus fréquents que d'autres (Slappendel et al., 1988). Les principaux groupes de signes cliniques de la leishmaniose canine sont décrits ci-dessous.

➤ Manifestations Cutanées

Les lésions cutanées sont les manifestations cliniques les plus fréquentes de la leishmaniose, ils ont été présentés dans plus de 50 % des cas, voir 90 %, selon plusieurs auteurs (Slappendel, 1988 ; Alvar et al., 2004), une vaste gamme d'entités dermatologiques ont été décrites et classées dans des groupes (les pourcentages proviennent d'une étude de Ferrer (1999) sur 43 chiens) :

- 1- L'alopecie et la desquamation (dermatite exfoliative non prurigineuse) généralisées ou localisées sur le visage, les oreilles et les membres (60%).
- 2- La dermatite ulcéreuse avec les ulcères dans la peau des membres et des articulations (23%).

- 3- La dermatite nodulaire focale ou multifocale (11 %).
- 4- La dermatite pustuleuse et exanthème général (6%).
- 5- La dermatite papuleuse a également été décrite (Ordeix et al., 2005) et donc considérée comme le cinquième groupe des principales entités dermatologiques associées à la leishmaniose canine (Solano-Gallego et al., 2009).

D'autres manifestations cutanées moins fréquentes sont la dépigmentation, l'hyperkératose digitale et nasale, tandis que la pyodermite par *Staphylococcus* spp est une complication fréquente (Solano-Gallego et al., 2009). L'Onychogryphose a été rapportée comme présente dans 75% des cas (Semiao-Santos et al., 1995 ; Ferrer, 1999 ; Ait-Oudhia et al., 2009).



Figure 7 : Onychogryphose



Figure 8 : à gauche : épistaxis ; à droite : dermatite auriculaire

<http://alfaveterinaria.es/leishmaniosis-canina/>

➤ Lymphadenopathie et Splénomégalie

La lymphadénopathie apparaît généralement au début de la maladie. La présence de ce signe a été signalée dans 93,5% des cas. L'hypertrophie des ganglions lymphatiques facilite la palpation des ganglions superficiels, en particulier, le poplité, le pré-scapulaires, et le sub-maxillaire (Alvar et al., 2004). La splénomégalie a également été décrite (Solano-Gallego et al., 2009 ; Slappendel et al., 1988).

➤ **Manifestations Oculaires**

Les manifestations oculaires sont très fréquentes elles sont signalées dans 16-80% des cas (Solano-Gallego et al., 2009). Les lésions oculaires les plus fréquentes sont la conjonctivite, muqueuse à mucopurulente rapportée dans 18,5% des cas. Elle se caractérise par une sécrétion jaunâtre qui adhère aux marges lacrymales, la muqueuse oculaire est habituellement pâle, cette pâleur est due à l'anémie (Alvar et al., 2004). De même, la blépharite (exfoliative, ulcéreuse, ou nodulaire), l'uvéite antérieure et la kérato-conjonctivite ont également été rapportées (Koutinas et al., 1999). La kérato-conjonctivite peut aussi évoluer vers l'ulcération et la cécité (Swenson et al., 1988 ; Ait-Oudhia et al., 2009). Les conséquences oculaires de l'hypertension sont rares (par exemple, décollement de la rétine), rapportés dans 5,7% des chiens leishmaniens hypertendus (Cortadellas et al., 2006).

➤ **Les Manifestations Rénales**

La glomérulonéphrite et la néphrite tubulo-interstitielle sont couramment observés chez les chiens leishmaniens qui développent une insuffisance rénale chronique, cette dernière est la principale cause de décès dans la leishmaniose canine (Solano-Gallego et al., 2009 ; Alvar et al., 2004). Cependant, une maladie rénale associée à cette pathologie ne parvient toujours pas à ces développements graves: la glomérulonéphrite membrano-proliférative est généralement associée à l'insuffisance rénale chronique tandis que les chiens sans signe clinique de maladie rénale révèlent plus souvent des lésions mésangio-proliférative (Plevraki et al., 2006).

➤ **Autres Signes Cliniques**

La leishmaniose canine est une maladie systémique qui pourrait impliquer de nombreux organes, donc une variété de signes cliniques sont possibles, ce qui rend souvent le diagnostic différentiel difficile avec d'autres maladies. La perte de poids, les anomalies de l'appareil locomoteur, de l'apathie et l'anorexie sont encore assez fréquents, étant signalé dans 15-30 % des cas, les symptômes les moins fréquents sont la polydipsie, la polyphagie, la polyurie, l'épistaxis, les vomissements et la diarrhée (Alvar et al, 2004 ; Semiao-Santos et al, 1995).

La cachexie et l'atrophie musculaire sont des conclusions fréquentes chez les chiens à la phase finale de la maladie, lorsque des anomalies de l'appareil locomoteur sont également fréquentes. Celles-ci pourraient être associées à l'arthrite, ostéomyélite, et arthrosynovitis dans les formes cliniques rares de la leishmaniose (Slappendel, 1988 ; Rallis et al., 2005). D'autres rares formes cliniques sont les maladies neurologiques et la polymyosite (Vamvakidis et al., 2000), ainsi

que diverses maladies auto-immunes et cardiovasculaires (péricardite, vascularite) (Solano-Gallego et al., 2009).



Figure 9 : Chien Leishmanien Cachectique

6. Diagnostic

Le diagnostic est habituellement réalisée pour deux principales raisons: (1) pour confirmer la «maladie», surtout si le chien présente un tableau clinique compatible avec une leishmaniose et (2) pour dépister «l'infection» surtout chez des chiens cliniquement sains vivant dans des régions endémiques.

6.1. Diagnostic Epidémio-Clinique

La leishmaniose doit être suspectée chez un chien présentant un ou plusieurs signes cliniques de la maladie évoqués ci-dessus, vivant dans une région endémique où ayant séjourné dans une région d'endémie.

6.2. Diagnostic de Laboratoire

L'identification du parasite ou la réponse de l'organisme contre celui-ci s'effectue en intégrant différentes méthodes de diagnostic étiologique. La positivité de la moelle ou des organes lymphoïdes, en effet, n'est pas toujours un indice d'infection persistante. Elle ne permet pas non plus d'attribuer à la *Leishmania* les signes cliniques éventuellement détectés. Au contraire, l'identification du parasite à l'intérieur d'organes qui présentent des lésions compatibles avec la leishmaniose permet d'établir avec une bonne probabilité une relation de cause à effet entre le parasite et les lésions.

Plusieurs méthodes de diagnostic actuellement disponibles (cyto-histologiques, parasitologiques, moléculaires, sérologiques et d'évaluation de la réponse à médiation cellulaire)

6.2.1. Mise en évidence du parasite

➤ Examen microscopique

Le diagnostic est basé sur l'examen cytologique du tissu lymphoïde et les frottis de la moelle osseuse par microscopie optique (MO), c'est une technique de référence, car elle permet la détection directe du parasite et est couramment utilisée dans la pratique pour confirmer l'infection chez les chiens présentant des signes cliniques (Maia et al., 2008).

La sensibilité de la MO peut être très variable selon la présence ou l'absence de signes cliniques et d'autres facteurs tels que la qualité et le nombre d'échantillons examinés (Saridomichelakis et al., 2005). Une étude de tissus lymphoïdes et de frottis de moelle osseuse sous MO comparée à la PCR, a montré une sensibilité qui variait de 30 % à 95 % chez des chiens symptomatiques tandis que pour les chiens asymptomatique, la sensibilité était de 8% à 39 % (Saridomichelakis et al., 2005 ; Moreira et al., 2007) . En outre, la MO dans les frottis sanguins est significativement plus faible par rapport au tissu. Dans un rapport récent, la MO a détecté des amastigotes dans 0,28 % des frottis sanguins de chiens symptomatiques (Giudice et Passantino., 2011).

➤ PCR (Polymérase Chain Reaction)

Le développement récent des techniques de biologie moléculaire a apporté de nouvelles alternatives dans ce domaine. Elles se basent sur la détection et l'analyse des acides nucléiques (ADN) du parasite *Leishmania* dans les différents prélèvements (peau, moelle osseuse, nœud lymphatique, voire sang) (Marty et al., 2007). Ces techniques sont également utilisées pour détecter le parasite chez son vecteur (Myskova *et al.*, 2008).

La sensibilité de cette méthode est plus élevée que pour l'IFI et l'ELISA. Par contre, la spécificité varie de manière significative en fonction du type de prélèvement étudié ainsi que du type d'amorce employée. Le prélèvement de choix est ici encore constitué par de la moelle osseuse. En effet, de très nombreux prélèvements de peau issus de chiens asymptomatiques sont positifs car ils contiennent de l'ADN leishmanien. Cette technique, nécessitant un recours au laboratoire ne peut être retenue comme unique outil diagnostique (Papierok et al., 2002 ; Lamothe et al., 2004).

La PCR nécessite des équipements sophistiqués et est très sensible aux contaminations, elle est donc réalisée uniquement dans des laboratoires spécialisés. (Papierok et al., 2002). L'inconvénient de cette technique est qu'elle ne fait pas la différence entre les leishmanies

vivantes et l'ADN leishmanien résiduel ; il est donc préférable de l'utiliser pour confirmer le diagnostic et non dans le cadre d'un suivi thérapeutique (Hubert, 2006).

➤ **Mise en Culture**

On peut cultiver les leishmanies en laboratoire, le milieu le plus utilisé est le milieu N-N-N (Novy-Mac Neal-Nicolle) ; gélose au sang de lapin, dans lequel se développent les formes promastigotes, la culture s'effectue aussi sur le milieu de sang de cheval (CCS). Il existe de très nombreux milieux de culture, monophasiques (Schneider's, M199, RPMI, Grace's) ou biphasiques (NNN, CCS). Les cultures sontensemencées à partir de divers tissus, placées à 24-26°C et contrôlées chaque semaine. Les tissus les plus riches en parasites sont la moelle osseuse, les ganglions, et la rate (Madeira et al., 2006 ; Maia et al., 2007).

6.2.2. Diagnostic sérologique

➤ **IFI (Immuno-Fluorescence Indirecte)**

Elle est considérée comme étant la technique de référence agréée par l'Office International des Épizooties en matière de leishmaniose. C'est une méthode quantitative à lecture manuelle dont le seuil de positivité dépend du laboratoire qui effectue le dosage, le seuil est habituellement fixé à 1/80 ou 1/100. Le titre obtenu doit bien évidemment être réinterprété par le vétérinaire en fonction du contexte épidémiologique et clinique du chien (Lamothe et al., 2004).

Les antigènes utilisés consistent en une suspension de promastigotes déposée sur une lame, auxquels on ajoute du sérum d'animal suspect à différentes dilutions. Les lames sont ensuite traitées par un composé fluorescent se fixant sur les immunoglobulines canines. La sensibilité est de l'ordre de 95%, ainsi que la spécificité sont les meilleures des tests utilisables (Dereure et al., 1999). Ce test est la première réaction à se positiver en cas de contamination, ainsi qu'en cas de rechute.

➤ **ELISA (Enzyme Linked Immuno- Sorbent Assay)**

C'est une méthode quantitative, qui utilise un antigène soluble se fixant sur les immunoglobulines préalablement marquées par une enzyme (elle même traitée par un substrat chromogène) et dont le titrage en anticorps du sérum est réalisé par mesure de densités optiques (puis convertis en unités par analogie avec un sérum canin étalon).

Cette technique possède une bonne sensibilité et spécificité, et présente l'avantage de pouvoir être automatisée afin de traiter de très nombreux échantillons (lors d'enquêtes épidémiologiques). Cependant, une grande technicité est nécessaire pour réaliser ce test, il faut

donc en confier la responsabilité à un laboratoire compétent (Lamothe et al., 2004 ; Papierok et al., 2002).

➤ Réaction d'Agglutination Directe

L'agglutination se produit lorsque l'on met en présence un antigène particulaire (bactéries, globules rouges...) avec l'anticorps correspondant. Cette réaction est rapide (quelques minutes) et visible à l'œil nu. Les anticorps se fixent sur les antigènes, entraînant une agglutination. Cette réaction est réalisable avec tout antigène particulaire capable de présenter à l'œil nu un aspect différent selon qu'il est en suspension ou agglutiné. La réaction est positive lorsqu'il se forme un voile de promastigotes au fond du puits réactionnel de plus de la moitié du godet; elle est négative lorsqu'il se forme une sédimentation des leishmanies en bouton (Daeninckk, 1998).

➤ Western Blotting (WB)

Le Western blot est une technique d'immuno-empreinte, dont l'intérêt réside dans la mise en évidence d'anticorps spécifiques d'antigènes de *L. infantum*. Une réaction positive se traduit par l'apparition de bandes de couleur violette sur la membrane. Plusieurs antigènes se révèlent immunogènes et spécifiques de la maladie, particulièrement les fractions 14 et 16kDa (Talmi-Frank et al., 2006). Cette technique est utilisée dans l'étude de la leishmaniose chez l'homme (Marty et al., 1995), et malgré ses nombreux avantages, elle n'est cependant pas utilisée en première intention chez le chien, car son coût reste très élevé.

6.3. Identification enzymatique

L'analyse des isoenzymes par électrophorèse représente actuellement la méthode de référence pour l'identification des Leishmanies. Elle repose sur l'analyse électrophorétique de 15 systèmes enzymatiques (Rioux et al., 1990). Les souches présentant un même profil enzymatique, soit les mêmes électromorphes, sont regroupées dans une même unité taxonomique appelée zymodème.

L'identification précise et rigoureuse des isolats a permis d'établir une classification cohérente du genre *Leishmania*, et de connaître la structure et le fonctionnement de divers foyers de leishmaniose dans le monde.

7. Thérapeutique

La thérapie des chiens leishmaniens, bien que souvent peu efficace dans l'élimination de l'infection, est toujours indiquée, parce qu'elle induit une amélioration clinique dans la plupart des cas et peut retarder la détérioration de la santé de l'animal. Cependant avant de prendre la décision de commencer le traitement, les propriétaires de chiens doivent recevoir une explication

détaillée sur la maladie et son potentiel zoonotique, sur la nécessité d'appliquer le protocole de traitement et le suivi médical avec rigueur, et sur la possibilité d'une rechute clinique de l'animal.

Le traitement idéal contre la *L. Can* vise à éliminer les parasites et à promouvoir la guérison complète des chiens. Il est très difficile à obtenir du fait que les parasites se trouvent à l'intérieur des macrophages).

7.1 Dérivés pentavalents de l'antimoine

Connu sous l'appellation d'antimoniote de méglumine ou Glucantime®. Il est administré selon certains auteurs par voie sous cutanée (chaque 12, 24 ou 48h) ou intramusculaire (chaque 24 ou 48h) ou intraveineuse (chaque 24h) (Denerolle et Bourdoiseau., 2000). Il est conseillé de commencer avec une dose réduite de moitié pour les premières injections puis d'augmenter progressivement les doses du fait d'une certaine intolérance (troubles digestifs, douleurs musculaires et articulaires) (Denerolle et Bourdoiseau., 2000).

Des études ont démontré que les antimonies provoquaient à long terme une perturbation de la filtration glomérulaire, une néphrotoxicité et par conséquent une insuffisance rénale (Denerolle & Bourdoiseau, 2000). L'apparition de résistance des parasites isolés de chiens après plusieurs séries de traitement à l'antimoine pentavalent a été rapportée ces dernières années (Gramiccia et al., 1992; Carrio et Portus, 2002). La résistance de certaines souches a également été observée chez des chiens leishmaniens n'ayant subi aucune pression médicamenteuse (Ait-Oudhia et al., 2012). L'émergence de souches de *L. infantum* résistantes est une préoccupation majeure non seulement pour les chiens mais aussi pour l'homme.

7.2. La Pentamidine

Aucune étude n'a démontré une efficacité supérieure au glucantime, y compris en association avec ce dernier. La pentamidine est utilisée par la voie IM, à la dose de 2 puis de 4 mg/kg, toutes les 48 h durant plusieurs mois. La toxicité n'est pas négligeable : locale d'abord (nécrose importante entraînant une perte massive de la peau et du tissu conjonctif sous-cutané : abcès douloureux), puis rénale, cardiaque et pancréatique (hypoglycémie précoce réversible, puis hyperglycémie tardive irréversible). (Bourdoiseau, 2000).

7.3. L'Amphotéricine B

Antibiotique utilisé chez le chien, alors qu'il est destiné à usage humain (Lamothe, 1997). Il se fixe de façon irréversible à la membrane du parasite, altérant ainsi les fonctions de perméabilité de celle-ci, provoquant une fuite du potassium intracellulaire puis la mort du parasite.

Chez le chien l'amphotéricine B peut être utilisée par la voie IV stricte, à raison de 0,5-0,8 mg/kg, 2 à 3 fois par semaine jusqu'à une dose totale de 10-15 mg/kg : commercialisé sous le nom de Fungizone® (Davidson et al., 1994). L'amphotéricine présente une néphrotoxicité importante nécessitant l'arrêt de l'administration dès que la créatininémie dépasse 25 mg/l.

7.4. Les Quinolones

Ces substances bloquent la réplication et la transcription de l'ADN en inhibant l'action d'une enzyme : l'ADN-gyrase (ou topo-isomérase II), métallo-enzyme à magnésium, responsable du sur-enroulement des chaînes d'ADN dans l'espace ; elles sont ainsi bactéricides, accessoirement leishmanicides. Cette propriété a été observée *in vitro* et à propos de leishmanioses cutanées humaines. (Cester et al, 1996). Les quinolones sont très faiblement toxiques chez ces espèces ; ceci constitue une propriété très intéressante, du fait de l'absence de néphrotoxicité.

- L'enrofloxacin (Baytril®), administré à la dose de 10 mg/kg/j. a un bon effet sur l'état général du chien malade.
- La marbofloxacin ayant une AMM chez le chien : Marbocyl®

7.5. L'Allopurinol

Différentes études ont confirmé l'efficacité de l'allopurinol dans le traitement de la leishmaniose canine avec une baisse de l'infektivité des phlébotomes nourris sur les chiens traités (Baneth et al., 2001). Ses avantages résident en la facilité d'administration per os, et son coût peu onéreux. Bien que cette molécule semble très efficace, il n'empêche qu'elle possède de très nombreux effets secondaires. Les fonctions hépatique et rénale doivent être particulièrement surveillées lors d'une utilisation prolongée.

8. Prophylaxie

8.1. Prophylaxie sanitaire

Le contrôle de la leishmaniose canine est une mission très difficile en raison de la complexité du cycle de transmission de *L. infantum*. Selon les connaissances actuelles et compte tenu des outils disponibles, le contrôle environnemental des larves de phlébotomes est irréalisable car les micro-habitats de ces dernières sont extrêmement variables, (racines et trous d'arbres, terriers d'animaux et les feuilles en décomposition) (Maroli, et al., 2013).

L'OMS recommande :

1. le Traitement des patients humains,
2. La destruction des chiens séropositifs,
3. La lutte anti-vectorielle (OMS., 2011).

➤ **Traitement des patients humains**

Les cas humains doivent être diagnostiqués et traités aussi rapidement que possible du fait du caractère immunodépresseur de la maladie et le caractère zoonotique lorsque l'homme constitue un réservoir du parasite.

➤ **Destruction des chiens séropositifs**

L'évaluation de l'état d'infestation des chiens est fondamentale pour une meilleure détermination des actions à prendre, afin de commencer le traitement dans les phases initiales de la maladie et de surveiller l'efficacité des mesures de contrôle. Dans les zones où *L. infantum* est répandue, la plupart des chiens restent asymptomatiques (Dantas-Torres, 2006 ; Costa et al., 2002). Ces derniers sont la source de contamination du vecteur [Molina et al., 1994 ; Michalsky et al, 2007]. L'élimination des chiens pour contrôler la leishmaniose humaine a été réalisée la première fois en Palestine, la Chine et l'Union soviétique (Costa, 2011).

Bien que de nombreuses études confirment l'efficacité des campagnes d'abattage (Costa et al., 2007; Nunes et al, 2010), quelques études montrent des résultats opposés (Moreira et al., 2004 ; De Souza et al., 2008). À l'heure actuelle, l'élimination des chiens infectés est entreprise systématiquement au Brésil (Palatnik et Boelaert., 2010) et, éventuellement, dans d'autres pays de l'Amérique du Sud (Romero et Boelaert, 2010) et en Chine (Wang et al., 2010) et pas régulièrement effectuées dans le bassin méditerranéen où le traitement de chimiothérapie est préférable (Baneth et Shaw., 2002) .

➤ **Lutte anti-vectorielle**

En dépit des préoccupations majeures liées à l'écologie très complexe du vecteur, des mesures de contrôle visant à réduire les populations dans l'environnement sont utilisées. L'application d'insecticides peut éventuellement avoir un effet transitoire, mais est généralement pas viable à long terme pour plusieurs raisons techniques et économiques.

Par exemple, une variété d'espèces de phlébotomes peut être potentiellement impliquée dans la transmission de *L. infantum* (Maroli et al., 2013), ainsi l'écologie et le comportement de chaque espèce peuvent varier considérablement. De même, la taille de la zone à traiter dans des pays où la leishmaniose est endémique peut être vaste donc rendre le contrôle de l'environnement économiquement inabordable.

– Application d'insecticides

L'information sur la dynamique des populations est fondamentale pour optimiser les modalités d'applications des insecticides. Les micro-habitats favorables à leur développement ; dans les crevasses, les fissures de murs et le sol humide devraient être détruits (Alexander B et al., 2003).

L'application d'insecticides sur les murs et les toits des habitations et dans les refuges d'animaux a été montrée pour être efficace de réduire la population phlébotomienne (Maroli M, 2010). Le danger sur l'environnement et la santé publique lors de l'emploi des organochlorés et d'autres groupes chimiques (par exemple, les organophosphorés et les carbamates) ont progressivement conduit à leur remplacement par les pyréthrinoïdes de synthèse (par exemple, cyperméthrine, deltaméthrin, et l-cyhalothrine), qui sont actuellement utilisés par les autorités de santé publique dans plusieurs pays.

– Destruction des habitats

La destruction des micro-habitats a été considérée comme l'un des rares et efficaces exemples de contrôle non insecticide (Alexander, B et al, 2003), mais une telle mesure est difficile à appliquer, il n'y a aucune preuve scientifique convaincante montrant que le nettoyage des micro-habitats peut avoir un impact sur l'incidence de la leishmaniose chez les humains et les chiens.

– Utilisation des répulsifs

L'utilisation de répulsifs tels que les pyréthrinoïdes de synthèse sur les chiens est devenu l'outil le plus efficace pour la prévention de l'infection *L. infantum* chez les animaux. Ils ont un effet toxique et irritant sur les phlébotomes, provoquant une désorientation des insectes et l'abandon soudain de l'hôte suivi de la mort peu de temps après l'atterrissage sur un animal traité. Par conséquent, la pique ne se produit pas. L'effet de pyréthrinoïdes de synthèse dans le spot et les colliers peut durer de 1 à 8 mois (Otranto et al., 2010).

L'efficacité de plusieurs produits répulsifs contre les phlébotomes a été évaluée dans des conditions de laboratoire et sur le terrain avec des résultats encourageants. Par exemple, l'effet insecticide de la deltaméthrine et la perméthrine, seul ou en combinaison avec d'autres insecticides (par exemple, l'imidaclopride) a été expérimentalement testé contre différents vecteurs (Miro et al., 2007).

Une réduction significative des anticorps anti- *Leishmania* chez les chiens en utilisant des colliers imprégnés d'insecticide (Reithinger et al., 2004) ou des spot répulsifs (Thomas et al., 2008) et une diminution de 65 % de la prévalence de la leishmaniose canine a été observée après utilisation de spot de perméthrine (Giffoni et al., 2002).

Le refus de l'abattage des animaux de compagnie par leurs propriétaires, les dilemmes éthiques des vétérinaires et les raisons humanitaires exigent le développement d'outils de prévention alternatifs.

La lutte anti-vectorielle et la vaccination des chiens et/ou des humains seraient plus efficaces que l'abattage des chiens (Dye, 1996).

8.2. Prophylaxie médicale : Vaccination

En plus de contrôler la maladie canine par le diagnostic précoce, le traitement adéquat ainsi que les moyens physiques dirigés contre le vecteur, La vaccination reste la meilleure méthode pour développer une stratégie efficace et prévenir l'apparition, la transmission et/ ou la propagation de la maladie.

En France, Un candidat vaccinal (LiESP) dont l'efficacité a été préalablement évaluée en condition expérimentale chez des chiens, en laboratoire (Lemesre et al., 2005), avait fait l'objet d'une étude sur le terrain. Les recherches menées chez cet hôte réservoir naturel de parasites comme le chien ont permis d'établir un modèle d'étude immunitaire *in vivo*, qui a constitué la première étape de l'élaboration d'un vaccin. Un partenariat public-privé entre l'IRD, Bio Vétro Test puis Virbac a ensuite permis de mettre au point le premier vaccin antiparasitaire européen contre la leishmaniose viscérale canine, CaniLeish®, disponible au Portugal depuis fin mai 2011 et en France depuis septembre 2011 (IRD, 2011). La capacité de ce vaccin à protéger les chiens a été démontrée dans une étude de provocation expérimentale, où la vaccination était encore évidente après une année (McGahie, 2011), 93% des chiens vaccinés avec CaniLeish® n'ont pas développé la leishmaniose.

La vaccination ne peut se faire que sur des chiens âgés d'au moins 6 mois. La primo vaccination consiste en 3 injections à 3 semaines d'intervalle. Ensuite un rappel vaccinal annuel. L'immunité sera optimale 4 semaines après la dernière injection de primo vaccination. Au Brésil, le premier vaccin dirigé contre la leishmaniose canin était *Leishmune*®, ce dernier a été utilisé au Brésil depuis 2004, où les chiens séropositifs avaient été sacrifiés afin de contrôler la leishmaniose viscérale humaine. D'autres vaccins sont actuellement disponibles dans beaucoup de pays dans le monde.

I. Objectif

Le présent travail a pour but de connaître la situation de la leishmaniose canine dans la région de M'Sila, foyer habituel de la leishmaniose cutanée zoonotique et viscérale, d'identifier les phlébotomes rencontrés dans la région, plus particulièrement dans des stations choisies à différentes altitudes afin d'actualiser la liste des espèces locales incriminées dans la transmission du parasite responsable de l'apparition de cette zoonose.

II. Présentation de la région d'étude

La wilaya de M'Sila a une superficie de 18 175 km². Elle est limitée par les wilayas de Bouira et Bordj-Bou-Arredj au nord, Batna et Sétif à l'est, Médéa et Djelfa à l'ouest et Biskra au sud.

Sa population est de 1 029 447 habitants. Sa morphologie et sa position géographique confèrent à cette région un aspect écologique unifié représenté par la prédominance de la steppe qui couvre 1 200 000 ha (soit 63 % de la superficie totale) de la wilaya.

Sa position géographique fait que sa vocation principale demeure l'agro-pastoralisme tributaire d'une pluviométrie malheureusement faible et irrégulière ne dépassant pas les 250 mm par an. La superficie affectée à l'agriculture représente 20 % de la surface totale, consacrées essentiellement à la céréaliculture, à l'arboriculture et aux maraîchages (superficie agricole utile de 275 711 hectares).

Le climat de la wilaya de M'sila est de type continental soumis en partie aux influences sahariennes, l'été y est sec et très chaud (38 à 42°C), alors que l'hiver y est très froid (7 à 10°C).

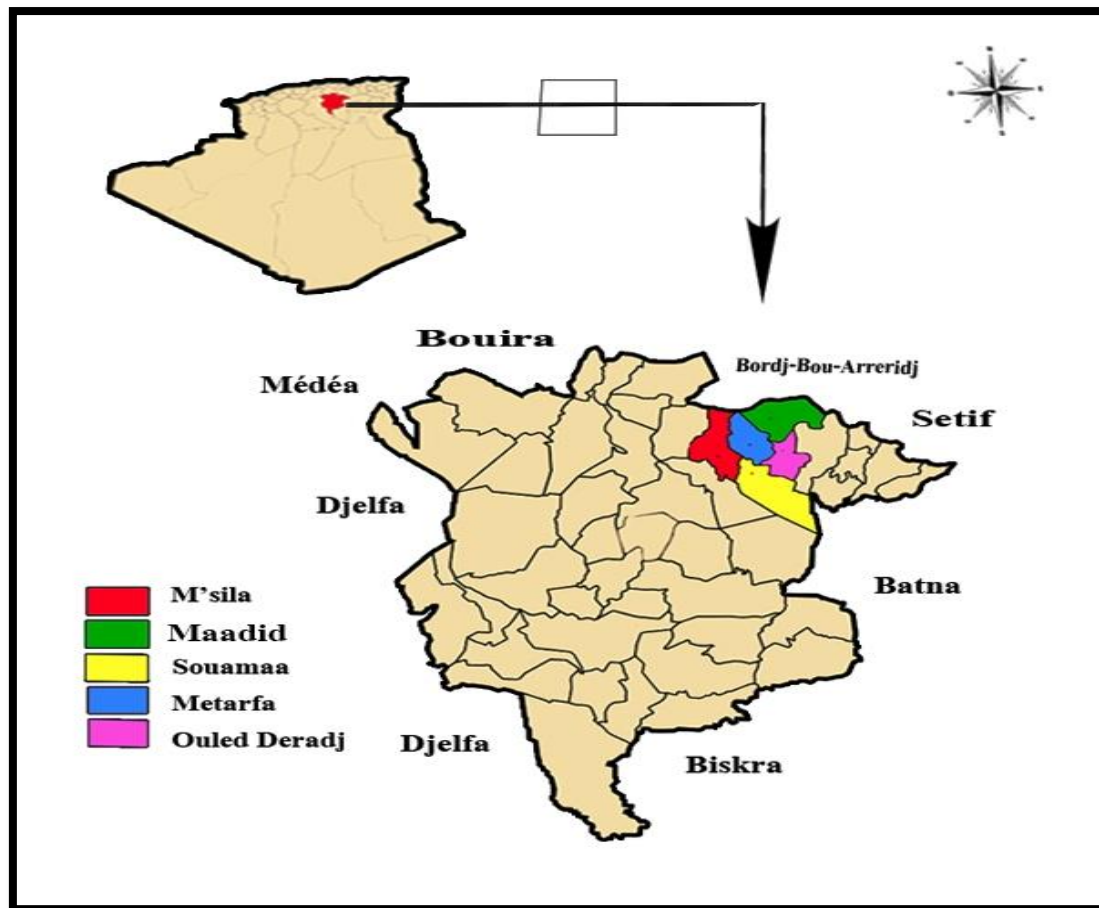


Figure 10 : Localisation de la wilaya de m'sila (en haut) et les communes ciblées pour l'étude (en bas)

II.1. Enquête rétrospective

Une étude rétrospective des cas de leishmaniose cutanée et viscérale de 2002 à 2013 a été réalisée pour la seule wilaya de M'Sila. Les données relatives à la LCH et la LVH nous ont été fournies par l'institut national de santé publique (INSP).

II.2. Enquête sérologique

II.2.1. Population canine étudiée

L'étude a concerné 120 chiens répartis sur cinq localités (Ouled-Derradj, Maadid, Souamaa, M'Sila, Metarfa), ces dernières ont été choisies sur la base des résultats obtenus précédemment révélant des chiens positifs dans la localité de Ouled-Derradj (IP Annexe M'sila, 1999) et autour des cas de leishmaniose viscérale humaine déclarés (DSP M'sila 2011).

L'enquête a été réalisée entre le mois de septembre et le mois de novembre 2013, et a concernée 120 chiens semi errants, vivant dans un milieu rural dans les communes de : Maadid, Ouled-Derradj, Souamaa, Metarfa et M'Sila.

Sur le total des animaux prélevés cinq étaient suspects, ils présentaient des symptômes similaires à ceux de la leishmaniose canine dont la cachexie, l'épistaxie ainsi que les lésions cutanées.

II.2.2. Examen clinique

Tous les chiens ont été soumis à un examen physique, afin de rechercher des signes cliniques évocateurs de la leishmaniose tels que : la perte de poids, les lésions cutanées, l'onychogribose, l'épistaxis...etc.

Une fiche pré-établie a accompagné chaque chien, contenant des informations sur le chien prélevé (Age, sexe, race, état sanitaire.....) et des renseignements relatifs à son propriétaire afin de pouvoir prendre contact avec lui si continuité du travail. Le fiche a été remplie avant de procéder au prélèvement, le chien muselé à été examiné puis photographié pour pouvoir le repérer ultérieurement.

Nous avons aussi pris attache avec les vétérinaires privés exerçant dans la région d'étude pour répondre à un questionnaire concernant la suspicion, le diagnostic et le traitement de la leishmaniose canine.

Les informations mentionnées dans chaque fiche ont été répertoriées sous forme de tableau, à l'aide du Microsoft Office Excel® afin de faciliter leur gestion, Pour chaque chien, les données ont été classées en différentes catégories (figure 11)

	B	C	D	E	F	G	H	I
3								
4								
5	PROPRIETAIRE	NOM	PRENOM	LIEU	COMMUNE	DAIRA	SEX DU CHIEN	AGE
6	1	DAHMANE	A/AZZIZ	AOUASSA	SOUAMAA	OULED DERRADJ	MALE	02ANS
7	2	DAHMANE	CHERIF	AOUASSA	SOUAMAA	OULED DERRADJ	MALE	10ANS
8	3	DAHMANE	CHERIF	AOUASSA	SOUAMAA	OULED DERRADJ	MALE	04ANS
9	4	DAHMANE	A/MAGID	AOUASSA	SOUAMAA	OULED DERRADJ	MALE	01ANS
10	5	ARIS	A/RACHID	ARISSET	O DERRADJ	OULED DERRADJ	MALE	02ANS
11	6				MAADID	OULED DERRADJ	MALE	
12	7	ARIS	A/RACHID	ARISSET	O DERRADJ	OULED DERRADJ	MALE	03ANS
13	8				MAADID	OULED DERRADJ		
14	9	ARIS	A/RACHID	ARISSET	O DERRADJ	OULED DERRADJ	MALE	06ANS
15	10	GOUFFI	REDOUANE	OULED SLAMA	METARFA	OULED DERRADJ	MALE	
16	11	GOUFFI	REDOUANE	OULED SLAMA	METARFA	OULED DERRADJ	FEMELLE	
17	12	GOUFFI	REDOUANE	OULED SLAMA	METARFA	OULED DERRADJ	MALE	
18	13	GOUFFI	REDOUANE	OULED SLAMA	METARFA	OULED DERRADJ	MALE	
19	14	GOUFFI	REDOUANE	OULED SLAMA	METARFA	OULED DERRADJ	MALE	
20	15	MAHDI	AHMED	BRAKTIA	O DERRADJ	OULED DERRADJ		
21	16	MAHDI	AHMED	BRAKTIA				
22	17	MEDINEH	RABEH	ZOUAOULA	METARFA	OULED DERRADJ		05 ANS
23	18	OD	OD	ARISSET	O DERRADJ	OULED DERRADJ		
24	19	ARISS	A/RACHID	ARISSET	O DERRADJ	OULED DERRADJ		
25	20							
26	21							

Figure 11 : Base de données des chiens prélevés

II.2.3. Prélèvement du matériel biologique

Chaque animal, après muselage, est tenu par son propriétaire afin de subir une prise de sang. Cette dernière est pratiquée à la face antérieure du membre thoracique par ponction de la veine céphalique de l'avant bras, immédiatement au dessous du pli du coude. Un numéro d'ordre a été attribué pour chaque animal prélevé (01, 02, 03, 04.....etc.).



Figure 12 : Chiens prélevés

Les prélèvements sanguins ont été acheminés au laboratoire de sérologie de L'Institut Pasteur ; annexe M'Sila. Les échantillons ont été soumis à une centrifugation de 3000 tours/min pendant 10 min. Les surnageants (sérum) sont ensuite recueillis dans de nouveaux tubes secs et mis au congélateur à -20° C, jusqu'à l'utilisation pour tests sérologiques.

II.2.4. Tests sérologiques

II.2.4.1. Diagnostic de terrain « SPEED LEISH K »

Le Speed Leish K, nous a été fourni par le représentant du laboratoire Français « VIRBAC » en Algérie. Pour le moment ce dispositif n'a pas d'AMM (autorisation de mise sur le marché) en Algérie.

Speed Leish K est un test qualitatif rapide, basé sur le principe de l'immunochromatographie sur membrane, utilisant comme antigène de capture un complexe de plusieurs kinésines recombinantes fixées sur une bandelette recouverte d'une membrane de nitrocellulose.



Figure 13 : SPEED LEISH K (1 cellule test, pipettes à usage unique et le flacon de réactifs)

Ce test permet la mise en évidence des anticorps anti-*Leishmania infantum*, chez le chien, l'échantillon peut s'agir du sérum, plasma ou sang total avec anticoagulant (EDTA ou héparine). Sa sensibilité et sa spécificité sont excellentes pour le diagnostic sérologique de la leishmaniose en comparaison avec la méthode de référence (IFI) (Bourdoiseau G et al., 2010).

Pour chaque échantillon:

- Prévoir : 1 cellule test, 1 pipette à usage unique et le flacon de réactif (mis à température ambiante).
- A l'aide d'une pipette à usage unique maintenue en position verticale, déposer 1 goutte d'échantillon dans le puits.
- Ajouter 5 gouttes du réactif dans le puits échantillon immédiatement après le dépôt de l'échantillon.
- L'ajout de 2 gouttes supplémentaires de réactif dans le puits est possible dans certains cas.

Après dépôt de l'échantillon, les particules colorées du conjugué se lient aux anticorps anti-*Leishmania infantum* présents dans le prélèvement. Ces complexes conjugué/anticorps ainsi formés migrent par capillarité sur la membrane. Ils sont capturés par des antigènes spécifiques de *Leishmania infantum* immobilisés sur la membrane, formant par accumulation de particules colorées une bande test de couleur rose. Le mélange continue de migrer sur le support jusqu'à l'extrémité de la membrane où les particules colorées restantes forment une bande de contrôle rose qui confirme la bonne réalisation du test.

Les résultats sont lus au bout de 20 minutes: la présence ou l'absence de bande rose permet de conclure :

- Si présence d'une seule bande test dans la fenêtre de lecture (bande de contrôle), le résultat est négatif.
- Si présence de deux bandes bien distinctes dans la fenêtre de lecture, (Bande test + bande de contrôle), le résultat est positif.

II.2.4.2. Immuno-Fluorescence Indirecte « IFI »

La recherche des anticorps spécifiques a été réalisée par immunofluorescence indirecte au laboratoire d'éco-épidémiologie parasitaire de L'institut Pasteur d'Alger (IPA), L'antigène utilisé a été préparé à partir de cultures de promastigotes de l'espèce *L. infantum* zymodème MON-1, isolés à partir d'un chien leishmanien.



Figure 14 : Laboratoire d'immunologie (IPA)

➤ Principe de l'IFI

Le principe de l'IFI repose sur la reconnaissance des protéines de surface des parasites (antigènes) par les Anticorps (Ac) du sérum canin à tester, cette réaction (Ag-Ac) est révélée par un conjugué qui une fois lié à l'anticorps donnera grâce à une fluorescéine, une couleur verte fluorescente sous la lumière UV. C'est la méthode de référence pour le diagnostic de la leishmaniose. Elle est couramment utilisée pour le sérodiagnostic de la leishmaniose canine et humaine à l'Institut Pasteur d'Algérie, du fait qu'elle est relativement rapide, peu onéreuse et surtout fiable.

➤ Préparation des lames sensibilisées

Les formes promastigotes de la souche de référence de *L. infantum* (zymodème MON-1) sont fixées sur les puits d'une lame où sont déposées les différentes dilutions des sérums à tester.

➤ Protocole opératoire

- * Les lames contenant les antigènes figurés sont décongelées à l'étuve pendant 15 minutes à 37°C.
- * Une fixation à l'acétone à froid est ensuite réalisée pendant 10 minutes et encore séchées à l'étuve pendant 15 minutes.



Figure 15 : Fixation dans l'acétone

- * En deuxième étape, on procède à la dilution des sérums : Deux témoins sont utilisés, l'un positif et l'autre négatif dilués au 1/20, ceux des chiens sont dilués au 1/20, 1/40, 1/80. Les sérums testés ont été dilués auparavant au 120^{ème}, 1/40^{ème} et 1/80^{ème}. A l'IPA, le seuil de positivité retenu est celui de la dilution 1/80.

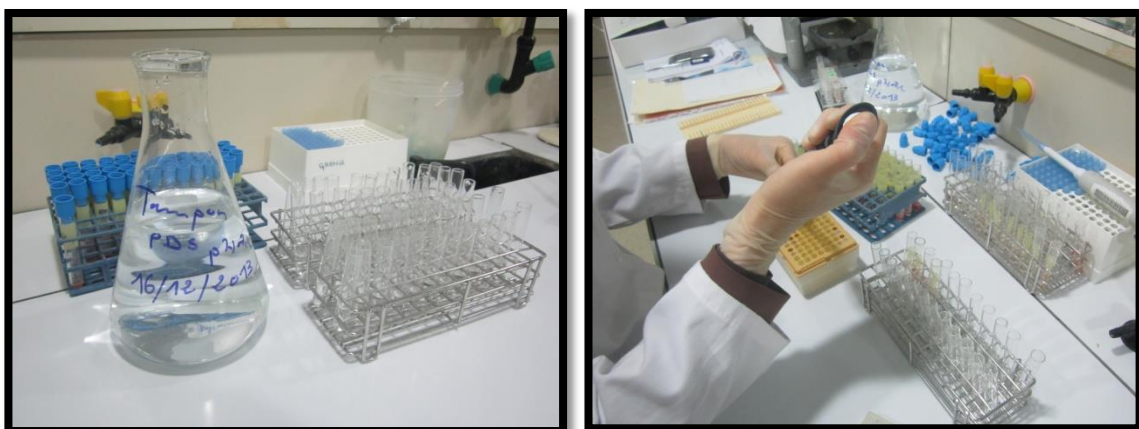


Figure 16 : Dilution des sérums

- * 10 μ l de chaque dilution est déposé sur un spot. Les deux premiers spots sont laissés pour les sérums témoins (le premier spot pour le sérum négatif et le deuxième pour le sérum positif (Contact Ag-Ac)).
- * Les lames sont remises dans une chambre humide à l'étuve à 37°C pendant 30 min.

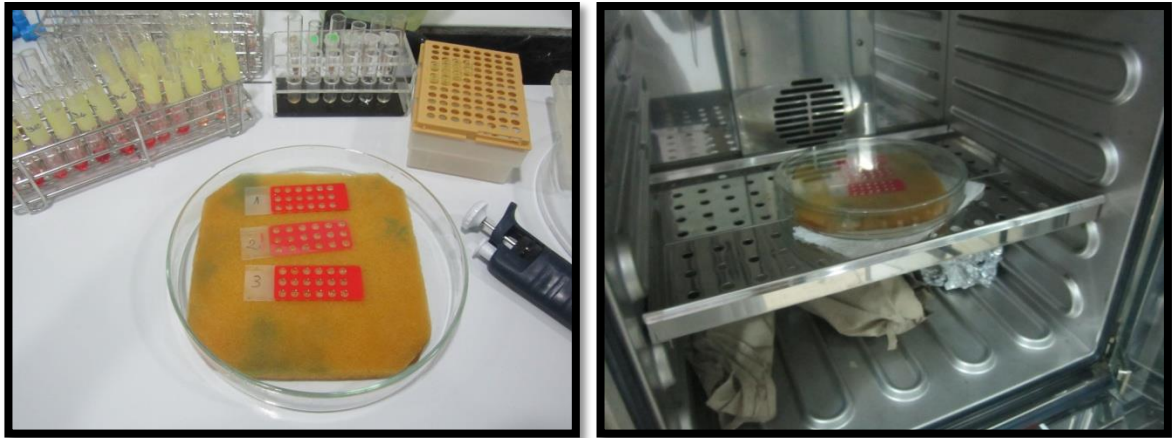


Figure 17 : Dilutions déposés sur des spots et mises à l'étuve

- * Ces dernières sont ensuite lavées avec du tampon PBS pendant 10 min, puis séchées.

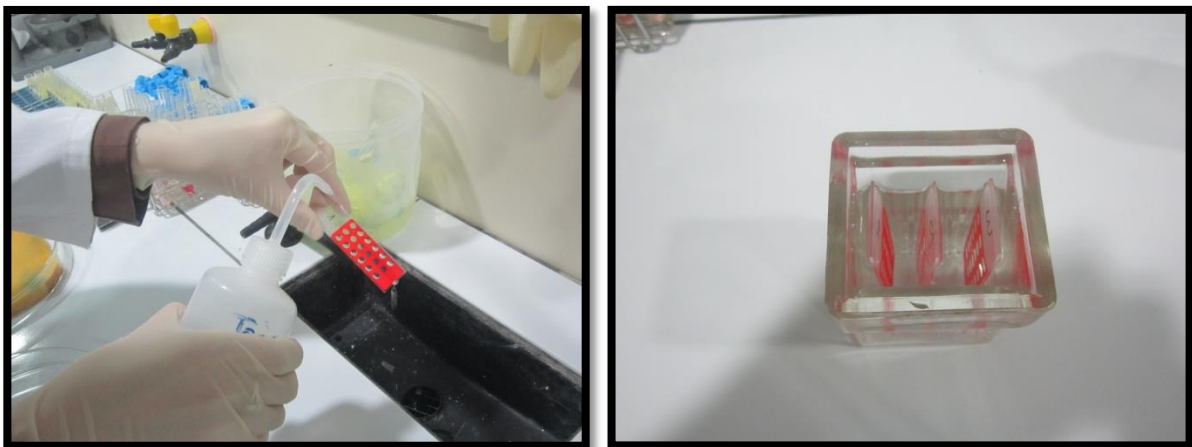


Figure 18 : Lavage au PBS

- * Dans chaque spot une goutte de conjugué (IgG) a été rajoutée, diluée au 1/100^{ème}, puis laissée pendant 30 min à l'étuve dans une chambre humide.
- * Les lames ont été ensuite lavées au PBS pendant 10 min, puis colorées avec le bleu d'EVANS, et remises à l'étuve pendant 15 min. Le bleu d'EVANS sert à colorer le fond des leishmanies en rouge et masque la coloration non spécifique.

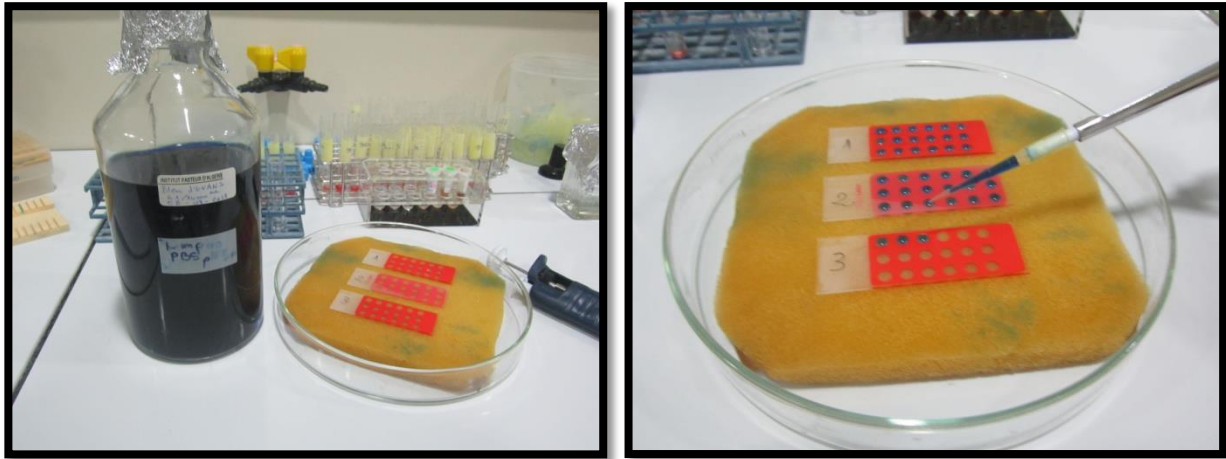


Figure 19 : Coloration au Bleu d'Evans

- * Les lames sont lavées au PBS et séchées à l'étuve.
- * La dernière étape est la lecture au microscope à fluorescence au GrX 40, après avoir ajouté quelques gouttes de glycérine aux lames.



Figure 20 : Microscope à fluorescence

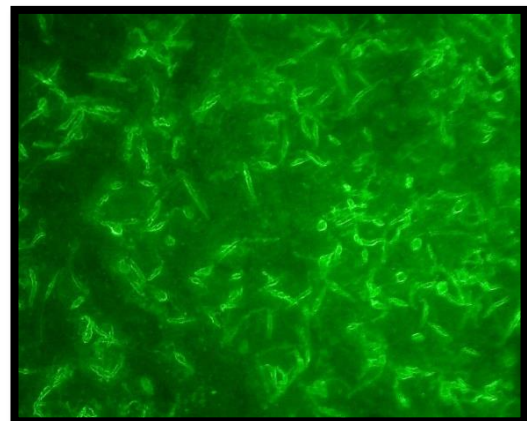


Figure 21 : Témoin positif sous microscope

- * Les parasites incubés avec les sérums positifs apparaissent colorés en vert, ceux négatifs sont colorés en rouge.

II.3. Enquête entomologique

La période de piégeage des phlébotomes s'est étalée du mois de juin 2013 jusqu'au mois de septembre de la même année, période où les phlébotomes sont plus actifs. L'enquête entomologique était aléatoire, les mêmes sites prospectés mais à intervalles irréguliers. Nous avons ainsi choisi 4 stations de capture à différentes altitudes, réparties dans 4 communes : Maadid, Ouled-Derradj, Souamaa et Metarfa (Figures 22, 23, 24, 25).

II.3.1. Sites de l'étude

➤ Station N° 01 : Maadid (35° 48' N/4° 44' E)

La commune de Maadid se situe au Nord-Est de la wilaya de M'Sila, au versant sud de l'Atlas tellien, soit dans l'étage bioclimatique semi-aride, son altitude avoisine les 1000m, la majorité de sa surface est couverte de forêts de type chêne vert et pain d'Alep. Les précipitations sont appréciables, la neige dure de 15 à 60 jours par an.



Figure 22: Station de Maadid

➤ Station N° 02 : Ouled derradj (35° 40' N/4° 46' E)

La commune de Ouled-derradj se situe sur la route nationale N°40, à une altitude de 520m, le maraichage et l'oléiculture y sont menés.



Figure 23: station de Ouled derradj

➤ **Station N° 03 : Souamaa (35° 35' N/4° 43' E)**

La commune de SOUAMAA est bordée d'Est à l'Ouest par Chott El Hodna, elle est située à une altitude de près de 400m, C'est une zone agropastorale, dont la céréaliculture et l'élevage ovin y dominant.



Figure 24 : station de Souamaa

➤ **Station N° 04 : Metarfa (35° 19' N/4° 13' E)**

La commune de Metarfa est située à quelques kilomètres de la ville de M'sila, sur une altitude de 490m, elle s'étend sur environ 21218ha dont 75% consacrée à l'agriculture à vocation arboriculture irriguée par le barrage de K'SOB, l'élevage bovin y est intense.



Figure 25 : station de Metarfa

II.3.2. Capture des phlébotomes « Piégeage Adhésif »

➤ Préparation

Les pièges ont été préparés deux semaines avant le début de l'enquête. Au cours de notre étude la seule méthode de capture utilisée est celle des pièges adhésifs. Ce piège consiste en une feuille de papier blanc de format 20cm x 20cm, de faible épaisseur, à l'aide d'un rouleau de peinture, les papiers sont largement imprégnés avec de l'huile de Ricin sur les deux faces jusqu'à transparence. Une baguette en bois a été insérée au milieu de chaque feuille pour les pièges qui seront placés verticalement,

- * Ce type de capture des phlébotomes est Connu depuis les travaux des épidémiologistes russes (Vlazov, 1932 ; Petrischeva, 1935 in Croset et al., 1977), la technique des pièges adhésifs est sans doute la mieux adaptée à l'inventaire qualitatif et quantitatif des phlébotomes en région méditerranéenne. C'est une méthode non sélective qui a été largement utilisée dans ce genre d'enquête dans divers pays de la région méditerranéenne (Rioux et al., 1964, 1969 ; Schein et al., 1982 ; Lane et al., 1988 ; Berchi, 1990).
- * Permet la récolte des spécimens morts.
- * Répond le mieux aux conditions d'une bonne technique d'échantillonnage (Rioux et al., 1984).
- * L'huile de Ricin utilisée dans ce type de piège, a la propriété d'être engluante et visqueuse, aussi cette huile est soluble dans l'alcool ce qui facilite la récupération des insectes.

➤ Gîtes prospectés

Plusieurs gîtes ont été prospectés (figure 26) à savoir les bâtiments d'élevage bovins et ovins (Ouled-Derradj, Metarfa), les niches de chiens, les anfractuosités autour des habitations rurales (Souamaa) et les anciennes maisons abandonnées (Maadid).

➤ Emplacement

Les pièges ont été mis en place entre 18 et 19 heures (activité nocturne des phlébotomes) pour être récupérés le lendemain entre 7 et 8 heures, regroupés par station dans des sacs transparents, portant une étiquette où ont été mentionnés : le site de piégeage, le nombre de pièges ainsi que la date. En moyenne 40 pièges par station. Dans les bâtiments d'élevage, les pièges ont été placés à une hauteur hors la portée des animaux.



Figure 26 : Différents Gites Prospectés
~ 39 ~

➤ Récupération des phlébotomes

Une fois au laboratoire, les phlébotomes d'une station donnée ont été récoltés à l'aide d'un pinceau fin, trempé dans de l'Alcool pour faciliter la récupération des phlébotomes morts, collés sur chaque piège.

➤ Conservation

Les phlébotomes ont été prélevés minutieusement pour éviter leurs dommages, ils ont été mis dans des flacons contenant de l'Alcool à 70° pour être conservés jusqu'à leur identification.

➤ Identification des phlébotomes

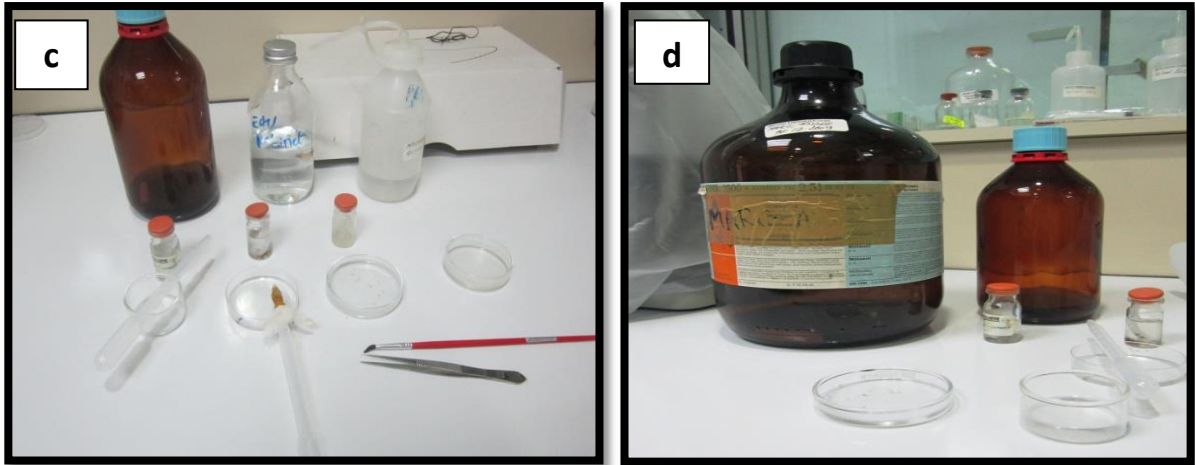
L'identification a été faite à l'institut Pasteur « Annexe M'sila » en se basant sur les différents critères morphologiques des phlébotomes d'Algérie, établis par Dedet (1984), tels que l'armature des pièces génitales mâle, les formes du pharynx, le cibarium ainsi que les spermathèques.

➤ Traitement des échantillons

Un traitement préalable des spécimens récoltés est obligatoire avant de procéder à l'identification proprement dite. Cette opération nécessite comme réactifs :

- * Solution aqueuse de potasse à 20%
- * Eau de robinet
- * Liquide de Marc-André (d'après Abonnenc, 1972) :
 - eau distillée 30 ml
 - hydrate de chloral 40 g
 - acide acétique cristallisable 30 ml
- * Ethanol à 70°





Figures 27 : Traitement des phlébotomes

(a) Echantillons de phlébotomes à identifier

(b) loupe binoculaire

(c),(d) Réactifs utilisés pour l'éclaircissement des phlébotomes

➤ **Eclaircissement**

Les phlébotomes contenus dans l'alcool sont versés dans une boîte de pétrie, à l'aide d'une pipette Pasteur, l'alcool est soutiré en évitant d'aspirer les phlébotomes avec. Des bains successifs suivants sont ensuite effectués :

- * 4 h dans la solution de potasse (KOH) à 20%.
- * 2 bains, de 15 minutes chacun, dans l'eau de robinet.
- * 1 heure minimum dans le liquide de Marc-André. Une conservation prolongée des spécimens dans le Marc-André est possible.

➤ **Identification**

Sous une loupe, chaque phlébotome est déposé en position latérale sur une lame, d'une façon qui permet la visualisation des organes clés pour l'identification, la lame est ensuite couverte par une lamelle pour enfin être identifié sous microscope à différents grossissements.

I. Enquête rétrospective

Les résultats de l'enquête rétrospective réalisée pour la seule wilaya de M'Sila sur des cas de leishmaniose cutanée et viscérale, allant de 2002 à 2013 ont montré un très faible taux d'atteinte pour la leishmaniose viscérale contrairement à la leishmaniose cutanée, dont le nombre de cas est assez élevé (tableau 3)

Tableau 3 : Nombre de cas de leishmaniose cutanée et viscérale de 2002 à 2013

LEISHMANIOSE VISCERALE (LVH)

LVH	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
POPULATION	852464	861011	870092	879650	889514	898993	908447	918557	1023595	1073910	1137389	//
MALADES	2	0	1	0	1	0	1	0	1	1	//	//

LEISHMANIOSE CUTANEE (LCH)

LCH	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
POPULATION	852464	861011	870092	879650	889514	898993	908447	918557	1023595	1073910	1137389	//
MALADES	2470	4587	4048	3389	2028	1000	2244	4621	4936	2108	255	400

L'analyse des données enregistrées par les services de santé montre une nette recrudescence de la LC. Cette recrudescence et la propagation de la maladie à de nouveaux foyers font de la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) un véritable problème de santé publique avec 32086 cas déclarés entre 2002 et 2013 (INSP, 2013).

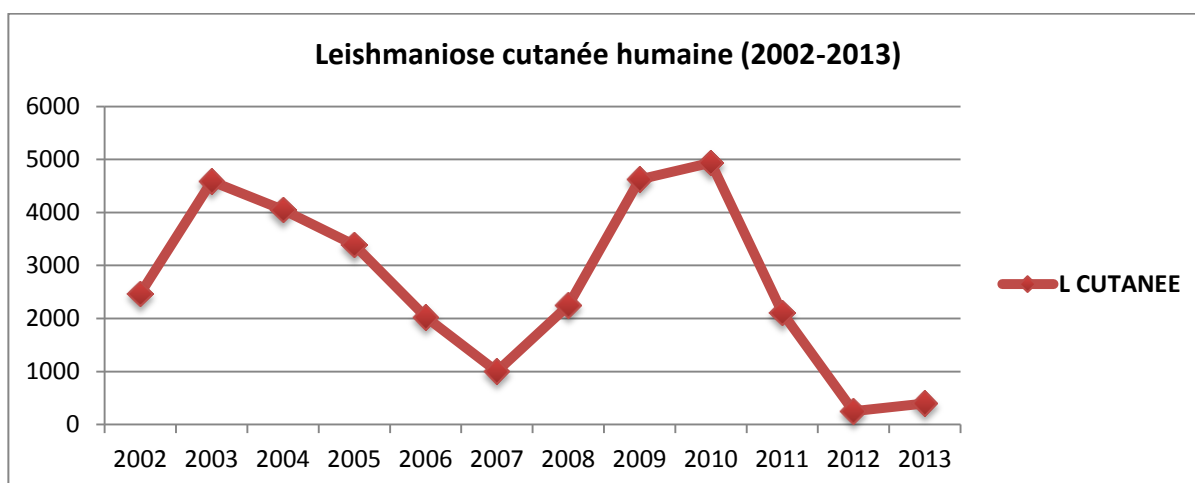


Figure 28 : Evolution des cas de la leishmaniose cutanée humaine dans la wilaya de M'Sila (2002-2013)

La leishmaniose cutanée zoonotique a fait son apparition à M'sila en 1981 (première épidémie). Depuis, plusieurs recherches ont été effectuées sur cette entité ; son aspect clinique, son vecteur le phlébotome et surtout ses deux réservoirs ; *Psammomys obesus* et *Meriones shawi* impliqués dans la dissémination de cette maladie. La LC représente 90 % des maladies vectorielles déclarées dans la wilaya.

La LC envahit tout le territoire de la wilaya en particulier les grandes agglomérations nouvellement habitées, situées à la périphérie de la ville. La dégradation De l'hygiène du milieu, l'urbanisation anarchique et le rapprochement des habitations au milieu rural, ajoutés aux changements climatiques favorisent la pullulation des vecteurs et des réservoirs ainsi la dissémination de la maladie. (D.S.P., 2013).

La leishmaniose cutanée touche toutes les catégories d'âge des deux sexes, les enfants sont les plus touchés cela s'explique par le fait qu'ils passent plus de temps à l'extérieur. La maladie sévit en mode endémo-épidémique, elle connaît des pics tous les quatre à cinq ans en concordance avec les fluctuations climatiques cycliques connues sous oscillations australes (El niño) (Franke et al., 2002), cependant, En 2003, 4587 cas ont été diagnostiqués contre 3389, 2028, 1000 et 2244 en 2005, 2006, 2007 et 2008 respectivement.

En 2010, une flambée de LC a été enregistrée dont le nombre de personnes atteints a dépassé 4900. A partir de 2011, On note une baisse du taux d'incidence de la leishmaniose cutanée avec 2108, 255 et 400 cas en 2011, 2012 et 2013 respectivement, plusieurs facteurs ont contribué à cette baisse parmi ; les changements climatiques qui ont abouti à la diminution des populations de rongeurs réservoirs de la maladie, aussi les campagnes de désinsectisation entreprises au niveau de plusieurs communes de la wilaya.

A côté de la L.C.Z., des cas autochtones de la leishmaniose viscérale ont été rapportés, 7 cas ont été enregistrés entre 2002 et 2013, les malades n'ayant jamais quitté le territoire de la wilaya laissant penser à une possible circulation du parasite *Leishmania infantum* dans son réservoir le chien.

II. Influence du facteur « climat »

Le climat de la région de M'Sila est de type semi aride soumis en partie aux influences sahariennes. L'été y est sec et très chaud, alors que l'hiver y est très froid. Il constitue l'un des facteurs qui détermine l'apparition et/ou l'accroissement de la transmission des maladies vectorielles, la variation de l'incidence d'une région à une autre et d'une saison à l'autre est un phénomène constaté dans le

monde et en Algérie. Par conséquent, on peut dire que la maladie s'adapte à un type de climat particulier, ce dernier aura donc, des répercussions sur le fonctionnement des écosystèmes et de leurs espèces membres comme dans le cas de la leishmaniose, sa transmission est assurée par un grand nombre d'espèces de phlébotomes réparties dans des étages bioclimatiques distincts donc la répartition des différentes espèces de phlébotomes n'est pas la même

Selon Dajoz (1975), les êtres vivants ne peuvent se maintenir en vie qu'entre certaines limites bien précises de températures, d'humidité relative et de pluviométrie. Au-delà de ces limites, les populations sont éliminées. Pour cette raison l'étude climatologique s'avère nécessaire pour expliquer l'absence, la persistance et/ou l'abondance des vecteurs responsables de la transmission des leishmanioses.

Les données climatiques de l'année 2013, concernent les températures maximales (Tmax), minimales (Tmin), moyennes (Tmoy), l'humidité relative et les précipitations (Pmoy), dans la présente étude ont été recueillies de la station météorologique de M'Sila.

Tableau 4 : Données climatologiques enregistrées par la station météorologique de M'Sila (année 2013)

2013	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Tmoy	10	9,2	15,4	20	22,7	28,8	34	31,9	27,9	25,1	14	9,8
Tmax	15,5	14,5	20,4	25,7	28,5	34	39,5	37,3	32,9	30,3	19	14,7
Tmin	3,8	2,3	8,1	11,8	13,9	19	24,4	22,8	20,3	18,1	8,1	3,7
Humidité	68,8	60,7	49,8	43,5	42,1	33	25,7	27,9	41,4	44,9	60	74,2
Pmoy	15,26	9,16	23,61	27,18	10,67	0	5,08	7,62	7,12	37,58	7,62	28,45

➤ Température

La température est l'un des principaux facteurs qui favorise la propagation des leishmanioses et conditionne le comportement des phlébotomes qui ont une activité crépusculaire, dans la région de M'Sila les hautes températures qui dépassent parfois les 40°C dans la saison estivale facilitent la pullulation de *phlébotomus papatasi*, agent de la leishmaniose cutanée zoonotique connu pour sévir dans les régions arides et semi arides du pays. Cette espèce apparaît début mai et disparaît fin octobre.

Les données relatives à la température indiquent que la région de M'sila est caractérisée par un hiver froid ($2.3 < m < 15.5^{\circ}\text{C}$), alors que les mois de juillet et d'août correspondent aux mois les plus chauds ($22.8^{\circ}\text{C} < m < 39.5^{\circ}\text{C}$), si on compare les températures enregistrées en janvier 2013 par rapport au mois de janvier des années précédentes, on remarque qu'elles ont légèrement augmentées.

➤ Humidité relative

La durée de vie du vecteur dépend aussi de l'humidité, elle constitue un facteur important pour le développement des larves de phlébotomes; plus l'hygrométrie est élevée, plus la durée de vie est élevée. L'humidité varie pendant l'année 2013 entre un maximum de 74.2 % en Décembre et un minimum de 25.7 à 27.9 % en Juillet et Août.

➤ Pluviométrie

La pluviométrie joue également un rôle, En effet l'abondance du réservoir suit celle de la pluviométrie. Des pluies abondantes favorisent la poussée de la végétation donc L'abondance de la nourriture entraîne une reproduction et une pullulation des rongeurs et des vecteurs, d'ailleurs, il a été remarqué que chaque poussée épidémique de la leishmaniose survient après une année pluvieuse.

D'après les données des Pmoy, Nous remarquons que le mois le plus pluvieux à M'Sila est le mois de décembre avec 28.45 mm, alors que le mois le moins pluvieux est le mois de juin avec 0 mm. La région d'étude a reçu en moyenne 179.35 mm de pluie en 2013, ce faible niveau de pluviométrie a conduit à une baisse des populations de rongeurs donc une diminution des cas de LCH durant l'année 2013.

Enfin, tous ces paramètres climatiques modifient la distribution et influent sur les taux de survie et la taille des populations, la hausse des températures qui dépassent la moyenne habituelle, les périodes de sécheresse, avec la baisse de la pluviométrie ont eu des retombées sur la situation sanitaire locale en matière de leishmaniose.

III. Enquête sérologique

Entre Septembre et novembre 2013, 120 échantillons de sérums ont été prélevés et analysés à partir de chiens semi-errants dans cinq localités de la wilaya de M'Sila (Ouled-Derradj, Maadid, Souamaa, M'Sila et Metarfa). Les résultats obtenus par les deux tests sérologiques utilisés (Speed Leish K et l'IFI) se sont révélés totalement négatifs pour tous les échantillons étudiés. Sur le total des animaux prélevés cinq (05) étaient suspects, ils présentaient des symptômes similaires à ceux de la leishmaniose canine dont la cachexie, l'épistaxie ainsi que les lésions cutanées. Cependant les tests sérologiques les ont révélés négatifs à la leishmaniose.

La séroprévalence globale de l'infection à *L. infantum* est non significative, sachant que toutes les conditions sont réunies quant à une éventuelle émergence ou ré-émergence de cette pathologie. A cet effet et afin de mieux comprendre la nature des résultats, nous nous sommes posées un certains nombre de questions : l'absence de résultats est-elle le témoin de la situation réelle de la région ? La

taille de l'échantillon est-elle assez significative ? Les tests sérologiques utilisés sont-ils assez sensibles à l'infection leishmanienne ? Les chiens avec un résultat négatif sont-ils vraiment indemnes de cette infection ?

Les résultats obtenus ne signifient pas forcément l'inexistence de la pathologie à M'Sila. Ces résultats suggèrent que : (i) même si les vecteurs hématophages sont fortement abondants et qu'ils présentent des facteurs de risque importants, ceci ne conduit pas obligatoirement à la propagation du parasite ; (ii) les chiens prélevés n'ont pas encore développé de réponse immunitaire contre le parasite, sachant qu'au début de l'infection, l'hôte n'a pratiquement pas d'anticorps circulants, vu la longue durée d'incubation ; et (iii) les méthodes utilisées ne permettent pas de dépister l'infection à temps.

Depuis la découverte du premier cas de la leishmaniose canine à Alger par les frères Sargent en 1910 (Dedet et al., 1973), de nombreuses enquêtes ont été effectuées chez le chien révélant une prévalence variable d'une région à une autre.

D'après une enquête réalisée par Harrat à Alger en 1995, puis par Ait-Oudhia et al. en 2009, ont montré que la prévalence de la leishmaniose canine est relativement élevée dans la capitale. Elle était de l'ordre de 36,5% et de 25,08%, respectivement (Harrat et al., 1995 ; Ait-Oudhia et al., 2009). L'absence d'études et de publications ne permet pas d'avoir des informations réelles sur la situation de la leishmaniose canine dans des régions steppiques et de l'étage bioclimatique aride et semi-aride telle que la wilaya de M'Sila.

En Tunisie la prévalence de la leishmaniose canine varie dans le nord et le centre du pays de 5 à 30% (Ben Said et al., 1992 ; Boelaert et al., 1999). Au Maroc, *L. infantum* a été isolé en 1986 chez des chiens vivant en milieu rural dans une zone présaharienne, près d'Issafen dans l'Anti-Atlas (Dereure et al., 1986), et dans la région de Tanant (Maroc central) en mars 1989 (Dereure, 1993 ; Dereure et al., 1991). Ces résultats avaient permis de décrire pour la première fois *L. infantum* chez des chiens dans l'étage bioclimatique aride et semi-aride. En s'appuyant sur ces résultats et en comparaison avec la région où nous avons effectué les prélèvements, nous déduisons que ce parasite pourrait certainement y exister or la recherche des anticorps par immunofluorescence indirecte des 120 sérums était négative.

Parmi les différentes techniques sérologiques disponibles, l'immunofluorescence indirecte (IFI) qui reste la méthode de référence (Aoun K et al, 2000), la plus simple et la plus utilisée dans la plupart des laboratoires à l'échelle mondiale pour la détermination de la séroprévalence de la leishmaniose canine. Le choix de la technique peut être la cause de la non révélation de chiens positifs par le fait

que les animaux au début et à la fin de maladie n'ont pratiquement pas d'Anticorps circulants, aussi la lecture sous microscope qui est subjective, cependant le résultat n'est pas fiable à 100%, une technique alternative plus développée telle la PCR pouvait certainement confirmer ou infirmer les résultats obtenus par l'IFI.

En associant les captures de phlébotomes à la sérologie, nous avons voulu déterminer, l'existence d'un éventuel rapport entre la pullulation des espèces de phlébotomes vecteurs de la leishmaniose viscérale humaine et la leishmaniose canine dans la région d'étude. Cependant, bien que *P. perniciosus* et son principal réservoir, le chien, soient présents, la présence de ces deux acteurs n'implique pas obligatoirement celle du parasite *L. infantum*. Ce dernier peut avoir des exigences bioclimatiques et trophiques pour des espèces données de vecteurs. Cette spécificité parasitaire semble bien être établie avec les phlébotomes.

La présence du réservoir d'une espèce de leishmanie donnée et la coexistence de son vecteur ne conduisent pas obligatoirement à la propagation du parasite, tant que ce vecteur n'ait pas atteint la densité critique. Euzeby (1984), précise qu'une densité minimale de 10 à 15 phlébotomes par mètre carré, est nécessaire au maintien de l'endémie. Aussi, l'aire de répartition des phlébotomes est bien plus importante que celle de la leishmaniose (Lupascu et al., 2003).

Belazzoug en 1985, lors d'une enquête sur la leishmaniose canine aux différents étages bioclimatiques du pays, il observait une relation directe entre la densité des phlébotomes et le taux de chiens séropositifs. Il y a donc une relation évidente entre la présence de phlébotomes vecteurs de la leishmaniose et l'importance de l'infection des chiens. La leishmaniose canine est donc directement liée à la présence et surtout à l'abondance des espèces de phlébotomes vectrices de cette maladie (Belazzoug, 1985).

La température est l'un des principaux facteurs qui influence la propagation de la leishmaniose viscérale et cutanée à la fois. Ce facteur climatique varie avec l'altitude. La transmission de la leishmaniose et l'altitude peut être étroitement liée à de nombreux facteurs tels que la température appropriée pour l'évolution de *Leishmania* dans les phlébotomes (Rioux et al, 1985).

La coexistence du réservoir et du vecteur ajoutés à des conditions écologiques favorables permettront la survie, la dissémination et la multiplication du parasite, exposant la région à un haut risque d'apparition de la leishmaniose canine et viscérale humaine.

IV. Enquête entomologique

IV.1. Phlébotomes de la région de M'sila

La faune phlébotomienne de la région de M'Sila regroupe 16 espèces (Tableau 5) des 24 espèces recensées en Algérie. Tous les vecteurs incriminés dans les différentes entités de leishmanioses décrites en Algérie ont été identifiés, à savoir : *P. papatasi*, *P. perniciosus*, *P. perfiliewi* et *P. sergenti*.

Tableau 5 : Liste systématique des phlébotomes de la région de M'sila.

ESPECES	GENRES	
	<i>Phlebotomus</i>	<i>Sergentomya</i>
	<i>Phlebotomus papatasi</i> Scopoli, 1786	<i>Sergentomya antennata</i> Newstead ,1912
	<i>Phlebotomus perniciosus</i> Newstead 1911	<i>Sergentomya fallax</i> Parrot, 1921
	<i>Phlebotomus alexandri</i> Sinton, 1928	<i>Sergentomya minuta parroti</i> Adler et Theodor, 1927
	<i>Phlebotomus perfiliewi</i> Parrot, 1930	<i>Sergentomya schweizeri</i> Adler, Theodor et Parrot, 1929
	<i>Phlebotomus longicuspis</i> Nitzulescu, 1930	<i>Sergentomya lewisi</i> Parrot, 1948
	<i>Phlebotomus langeroni</i> Nitzulescu 1950	<i>Sergentomya chyldei</i> Sinton, 1928
	<i>Phlebotomus chabaudi</i> Croset, Abonnenc et Rioux, 1970	<i>Sergentomya christophersi</i> Sinton, 1927
	<i>Phlebotomus sergenti</i> Parrot, 1917	<i>Sergentomya dreyfussi</i> Parrot, 1933

L'utilisation des pièges adhésifs comme moyen de capture dans les quatre stations nous a permis de récolter 1370 phlébotomes (tableau 6). A M'sila, La saison d'activité des phlébotomes s'étend d'avril-mai à septembre-octobre. Cependant, un total de 1370 phlébotomes récoltés durant les six mois est assez moyen, cela s'explique par l'irrégularité des périodes de piégeage. Pour des raisons de commodité liées aux horaires de mise en place et de récupération des pièges adhésifs, aussi la période juillet-Aout qui a coïncidé avec le ramadhan nous a empêché de mener à bien cette enquête entomologique.

Tableau 6: Différentes espèces capturées

Genres	PHLEBOTOMUS					SERGENTOMYA			Total par station	M	F
Espèces	<i>P. papatasi</i>	<i>P. perniciosus</i>	<i>P. alexandri</i>	<i>P. longicuspis</i>	<i>P. sergenti</i>	<i>S. minuta</i>	<i>S. antennata</i>	<i>S. fallax</i>			
Maadid	28	199	3	29	36	4	0	2	301	221	80
Ouled-Derradj	56	20	0	7	0	3	17	0	103	61	42
Metarfa	154	18	0	30	0	5	17	1	225	179	46
Souamaa	638	1	0	1	0	89	12	0	741	501	240
Total par espèces	876	238	3	67	36	101	46	3	1370	962	408
% par espèce	71,80	19,51	0,25	5,49	2,95	67,33	30,67	2	//	70,22	29,78
% par genre	89,05%					10,95%			100%	100%	

L'identification morphotaxonomique des phlébotomes montre la présence de huit espèces réparties en deux genres, *Phlebotomus* et *Sergentomyia*. Le genre *Phlebotomus* représente 89,05% (Figure 29) des spécimens récoltés face à 10,95% (Figure 29) pour le genre *Sergentomyia*. En Algérie seule les espèces du genre *Phlebotomus* sont impliquées dans la transmission des leishmanioses.

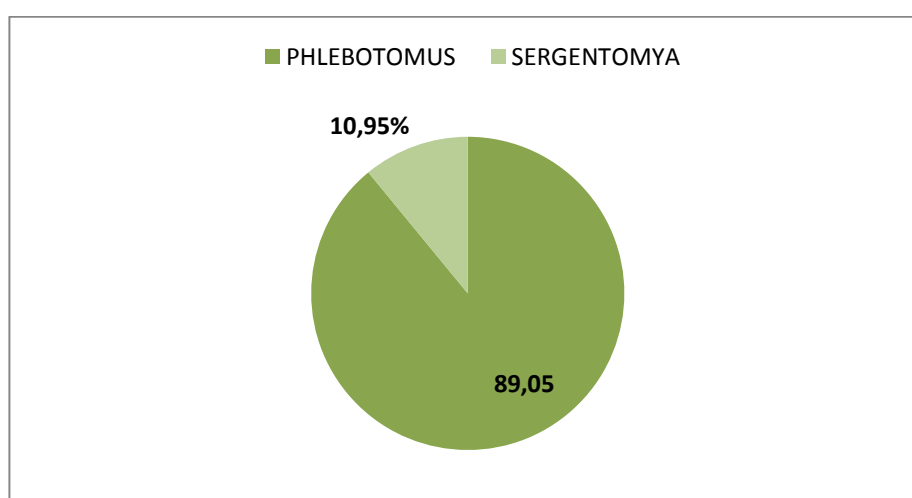


Figure 29 : Répartition des espèces en fonction du genre

Le faible taux des espèces du genre *Sergentomyia* (10,95%) s'explique par la localisation de nos pièges dans les bâtiments d'élevage et autours des habitations rurales. Ces localisations ciblent en général les espèces du genre *Phlebotomus*, car loin des gîtes préférentiels des *Sergentomyia* (roches, barbacanes...).

Ces résultats peuvent être rapprochés de ceux de Mouloua, qui a dénombré 7 espèces, réparties entre deux genres : le genre *Phlebotomus* qui représente 85% du total des captures et le genre *Sergentomyia*

avec seulement 15% (Mouloua, 2014). Bounamous dans ses travaux sur les phlébotomes de l'Est Algérien, a recensé 18 espèces. Le genre *Phlebotomus* a représenté 57,23% des captures alors que le genre *Sergentomyia* 42,77% (Bounamous, 2010).

Bencherif, lors d'un inventaire réalisé dans les régions de Batna et Biskra a remarqué que les espèces du genre *Phlebotomus* prédominent tant par le nombre de spécimens capturés que par leur diversité (7 espèces du genre *Phlebotomus* face à deux espèces du genre *Sergentomyia*. (Bencherif, 2010).

IV.2. Fréquence des phlébotomes en fonction de l'espèce

P. papatasi, *P. perniciosus*, *P. longicuspis* et *S. minuta* sont les espèces les plus constantes dans toutes les stations. Cependant, Les espèces les plus abondantes sont respectivement *Phlebotomus papatasi* Scopoli, 1786 (71,80%) et *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911 (19,51%), *Sergentomyia minuta* Adler et Théodor, 1927 (67,33 %) et *Sergentomyia antennata* Newstead, 1912 (30,67%).

Les autres espèces sont rares, dont, *Phlebotomus alexandri* Sinton, 1928 (0,25%) *Phlebotomus sergenti*, Parrot, 1917 (2,95%), *Phlebotomus longicuspis* Nitzulescu, 1930 (5,49%) et *Sergentomyia fallax* Parrot, 1921 (2%).

Les huit espèces capturées ne sont pas nouvelles, elles ont déjà été signalées dans la région étudiée. Deux sont d'une importance capitale du fait qu'elles transmettent la leishmanioses humaines et animales, il s'agit de : *P. papatasi* et *P. perniciosus*.

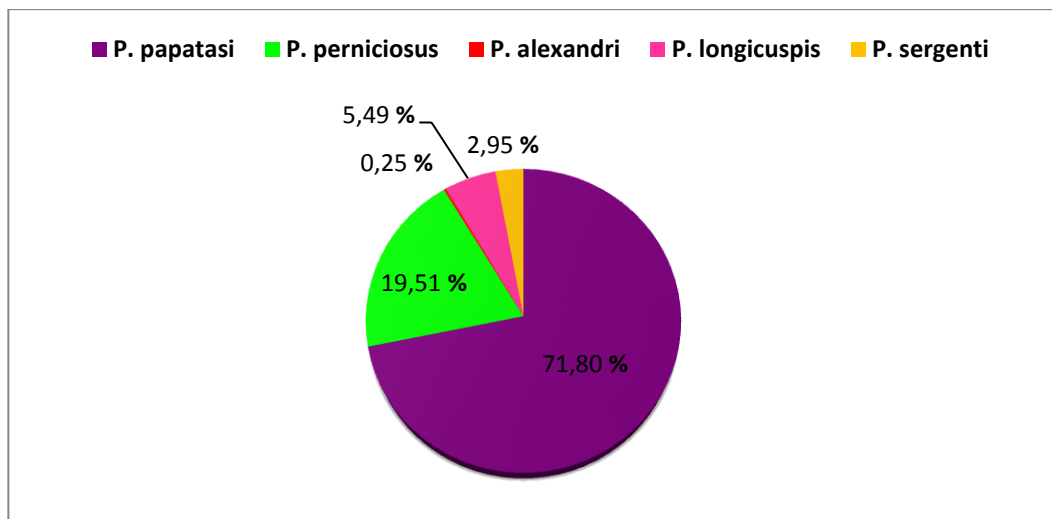


Figure 30 : Répartition des espèces capturées du genre *Phlebotomus*.

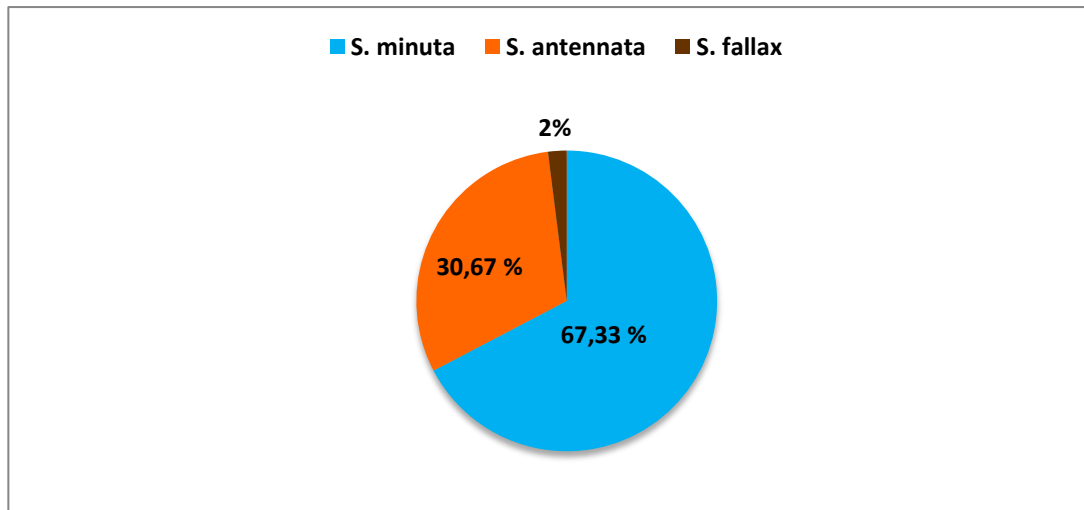


Figure 31: Répartition des espèces capturées du genre *Sergentomya*.

IV.3. Fréquence des espèces phlébotomiennes en fonction du sexe

Étant donné que la durée de vie des mâles est d'environ 5 jours et celle des femelles est bien plus longue, entre 10 et 60 jours, environ 30 jours (Dolmatova & Demina, 1971), il résulte que les femelles devraient toujours prédominer dans les échantillons capturés. D'après nos résultats, On remarque que cette corrélation n'est pas appliquée, il y'a une prédominance des phlébotomes mâles par rapport aux femelles, 962 Mâles et 408 Femelles soit une fréquence de 70,22% et 29,78% respectivement (Tableau 6). Cette observation est conforme à celle de Chauvet, 1983, dans la même région d'étude. Par contre, ces résultats ne sont pas en accord avec ceux de Rioux et *al.* (1967) in Messai (2006) qui ont capturé plus de femelles que de mâles.

Au cours de nos enquêtes, nous avons constaté que la fréquence des femelles capturées autour des habitations et en plein champs est légèrement supérieure à celle des femelles capturées aux abris d'animaux, cela laisse supposer que ces biotopes pourraient constituer un lieu de transmission de *L. major* et donc un risque potentiel pour les humains aux alentours.

IV.4. Représentation des espèces capturées par station

D'après les résultats obtenus (tableau 7), nous remarquons que le nombre d'espèces le plus élevé est noté dans la station de Maadid avec 8 espèces, suivi de Metarfa avec 6 espèces, Ouled-Derradj et Souamaa, 5 espèces pour les deux stations.

Tableau 7: richesse des espèces capturées par station

Espèce Station	<i>P. papatasi</i>	<i>P. perniciosus</i>	<i>P. alexandri</i>	<i>P. longicuspis</i>	<i>P. sergenti</i>	<i>S. minuta</i>	<i>S. antennata</i>	<i>S. fallax</i>	total
MAADID	+	+	+	+	+	+	-	+	7
OULED DERRADJ	+	+	-	+	-	+	+	-	5
METARFA	+	+	-	+	-	+	+	+	6
SOUAMAA	+	+	-	+	-	+	+	-	5

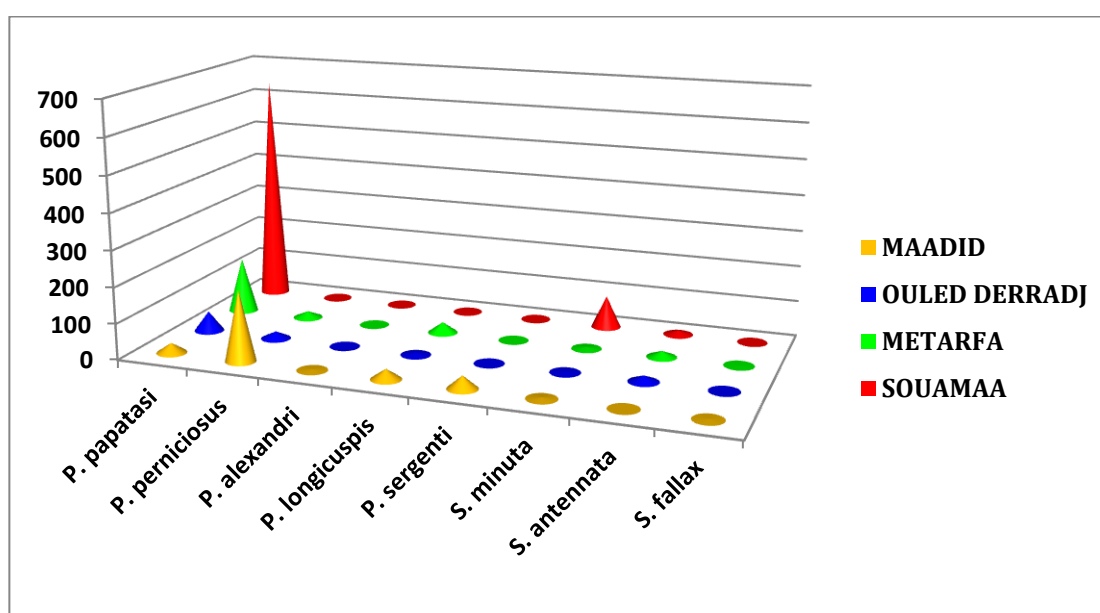


Figure 32 : Représentation des espèces capturées par station.

➤ Station Maadid

301 phlébotomes ont été récoltés au niveau de la station de Maadid dont 221 males et 80 femelles ; sur l'ensemble des phlébotomes, 295 appartiennent au genre *Phlebotomus* soit 98%, *P. perniciosus* est y dominante, elle représente à elle seule plus de 66,11% de la totalité des espèces capturées (Tableau 8). *P. sergenti* vient en deuxième position, avec 36 spécimens capturés soit 11,96%. *P. papatasi*, *P. longicuspis* avec des fréquences égales soit 9,63% et 9,30% du total des espèces récoltées. Quant aux espèces du genre *Sergentomya*, elles sont à peine représentées, 1,33% et 0,67% pour *S. minuta* et *S. fallax* (figure 33)

Tableau 8 : Espèces de phlébotomes de la station de Maadid.

Espèce	Station de Maadid			
	M	F	Total	%
<i>P. papatasi</i>	19	9	28	9,30
<i>P. perniciosus</i>	138	61	199	66,11
<i>P. alexandri</i>	03	00	3	1,00
<i>P. longicuspis</i>	26	03	29	9,63
<i>P. sergenti</i>	29	7	36	11,96
<i>S. minuta</i>	4	0	4	1,33
<i>S. fallax</i>	2	0	2	0,67
TOTAL	221	80	301	100

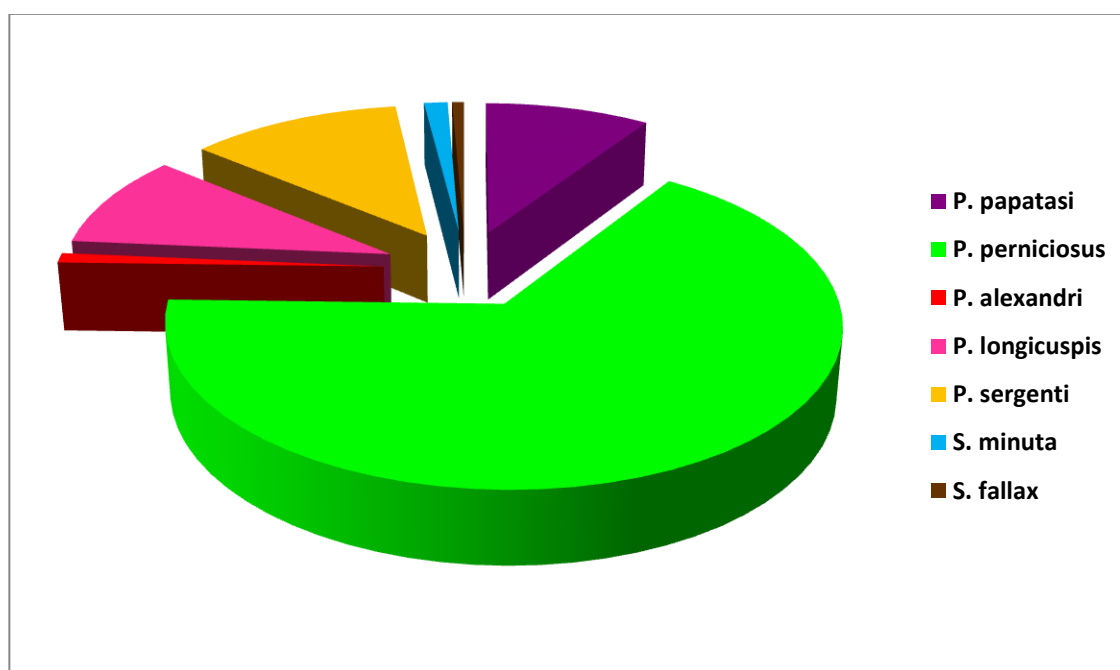


Figure 33 : Répartition des espèces capturées dans la station de Maadid

➤ Station Ouled-Derradj

La prospection de la station de Ouled-Derradj, nous a permis de dénombrer 103 spécimens, dont 61 males et 42 femelles, le genre *Phlebotomus* représente 80,59% des captures contre 19,41% pour *Sergentomya*, *P. papatasi* en tête avec 54,37%, suivi de : *P. perniciosus* (19,42%), *S. antennata* (16,50%), *P. longicuspis* (6,80%) et enfin *S. minuta* (2,91%).

Tableau 9 : Espèces de phlébotomes de la station de Ouled-Derradj

Station	Station de Ouled-Derradj			
	M	F	Total	%
Espèce				
<i>P. papatasi</i>	34	22	56	54,37
<i>P. perniciosus</i>	11	9	20	19,42
<i>P. longicuspis</i>	5	2	7	6,80
<i>S. minuta</i>	2	1	3	2,91
<i>S. antennata</i>	9	8	17	16,50
TOTAL	61	42	103	100

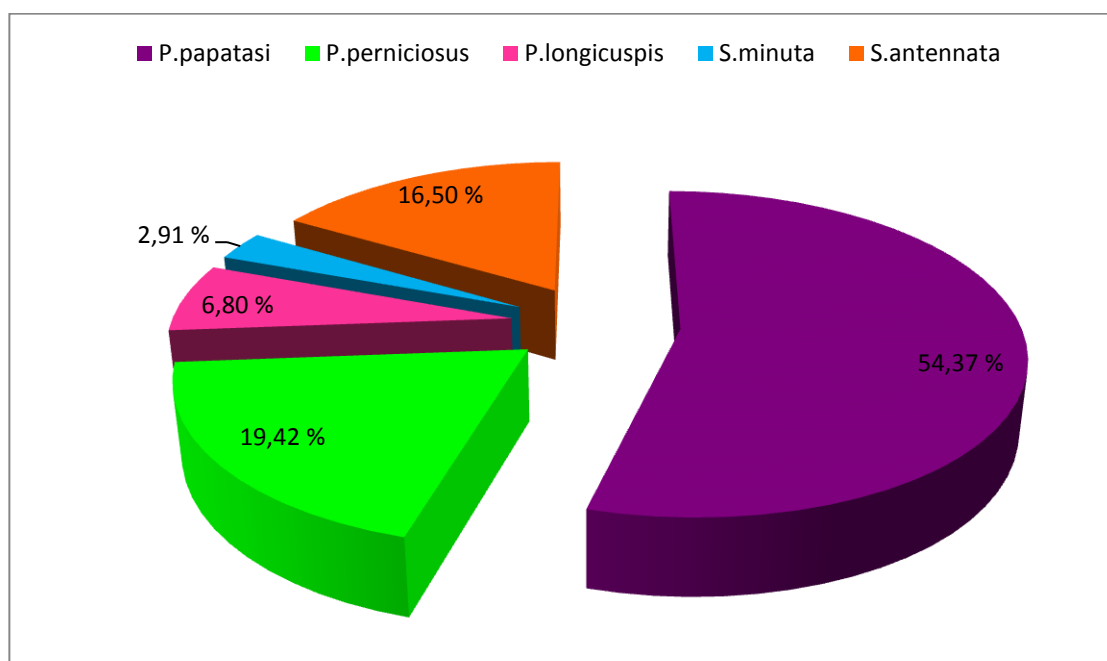


Figure 34 : Répartition des espèces capturées dans la station de Ouled-Derradj

➤ Station Souamaa

Dans cette station, *P. papatasi* est largement dominant avec 86,10% des exemplaires de phlébotomes capturés, à un degré moindre *S. minuta* avec 12,01%, Les autres espèces, *P. perniciosus*, *P. longicuspis* et *S. antennata* apparaissent avec des fréquences très réduites.

Tableau 10 : Espèces de phlébotomes de la station de Souamaa

Espèce	Station de Souamaa			
	M	F	Total	%
<i>P. papatasi</i>	429	209	638	86,10
<i>P. perniciosus</i>	1	0	1	0,13
<i>P. longicuspis</i>	0	1	1	0,13
<i>S. minuta</i>	68	21	89	12,01
<i>S. antennata</i>	3	9	12	1,62
TOTAL	501	240	741	100

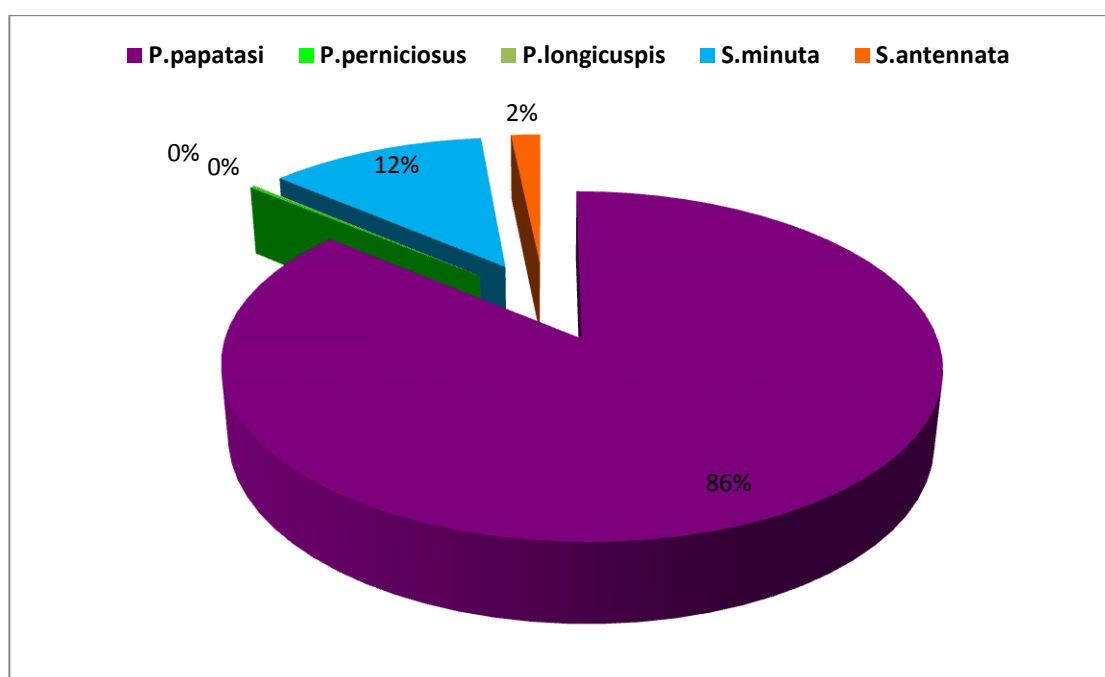


Figure 35 : Répartition des espèces capturées dans la station de Souamaa

➤ Station Metarfa

255 spécimens appartenant aux 3 espèces du genre *Phlebotomus* (51,82%) qui sont *P. papatasi* (68,44%), *P. perniciosus* (8%) et *P. longicuspis* (13,33%) et 3 espèces du genre *Sergentomyia* représenté par *S. minuta* (2,22%), *S. antennata* (7,56%) et *S. fallax* (0,44%).

Tableau 11 : Espèces de phlébotomes de la station de Metarfa

Station	Station de Metarfa			
Espèce	M	F	Total	%
<i>P. papatasi</i>	124	30	154	68,44
<i>P. perniciosus</i>	16	2	18	8,00
<i>P. longicuspis</i>	24	6	30	13,33
<i>S. minuta</i>	1	4	5	2,22
<i>S. antennata</i>	13	4	17	7,56
<i>S. fallax</i>	1	0	1	0,44
TOTAL	179	46	225	100

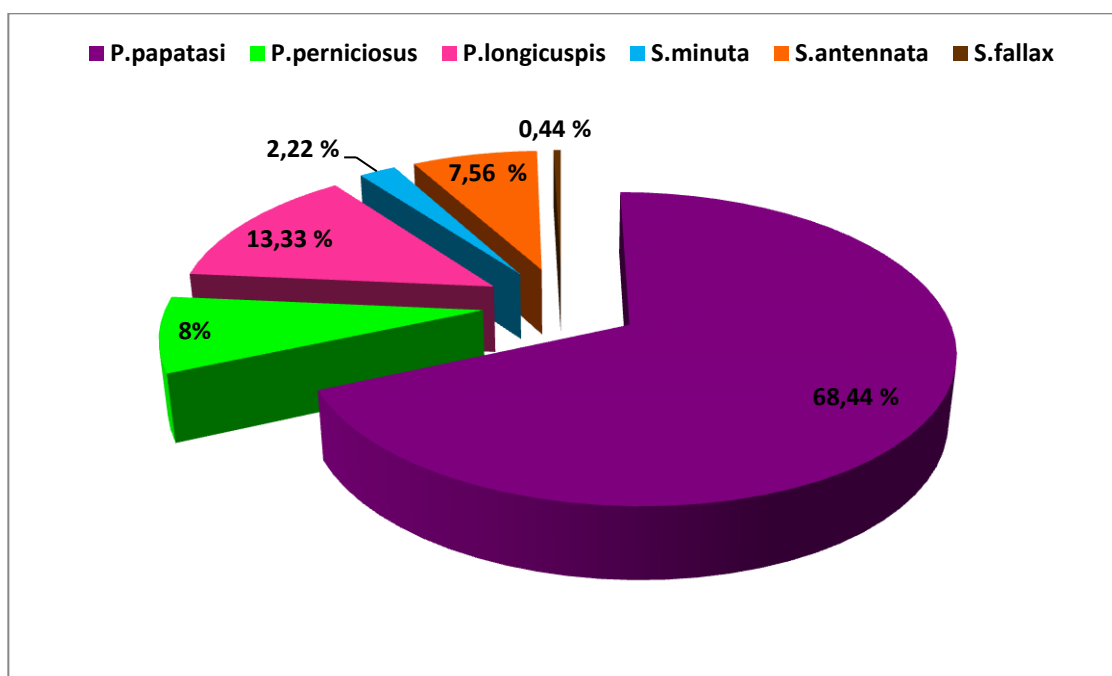


Figure 36 : Répartition des espèces capturées dans la station de Metarfa

➤ *Phlebotomus papatasi*

Nos résultats de captures montrent que *P. papatasi* domine tant par son abondance que par sa fréquence, il totalise parfois plus de 80% des captures. Ceci concorde avec les travaux antérieurs menés dans la région de M'Sila (Chauvet, 1983). En effet, l'aire de répartition de *P. papatasi* en Algérie se situe dans l'étage bioclimatique aride et semi aride, à laquelle appartient la région de M'Sila.

Du point de vue trophique, *P. papatasi* est une espèce anthropophile (Rioux et al., 1980), ainsi nos piégeages placés autours des habitations rurales au niveau de la station de Souamaa, Metarfa et Ouled derradj ont permis de capturer un nombre élevé des phlébotomes *papatasi* par apport aux autres espèces, ceci placerait cette espèce comme vecteur principal de *Leishmania major* et explique l'endémicité de la LCZ dans le foyer du M'Sila.

En ce qui concerne sa distribution, nos captures montrent qu'elle est présente dans toutes les stations à différentes altitudes y compris les zones de montagne (1000m) avec cependant une fréquence moindre.

P. papatasi est retrouvé dans les différents sites prospectés, il est prédominant dans les bâtiments d'élevage et les anfractuosités autour des habitations, au niveau de la station de Souamaa située à 390m, 638 spécimens de *p. papatasi* sur un total de 876 récoltes.

La prédominance de *P. papatasi* dans les terriers de rongeurs et dans les abris d'animaux a été rapportée dans des travaux menés en Tunisie rapportés par Helal et al (1987) et en Turquie par Svobodova et al (2003). A noter alors que les abris d'animaux, avoisinant les maisons, constituent alors un facteur de risque de la propagation de *Leishmania major* car ils constituent un biotope favorable à *P. papatasi*.

À l'issue de leurs travaux sur les phlébotomes d'Algérie, Dedet et al. (1984), avait déduit que *P. papatasi* se localise préférentiellement dans la zone steppique Nord saharienne, avec une fréquence assez élevée dans les régions de basse altitude au dessus de 300 mètres, atteignant parfois les 1000 mètres, correspondant aux altitudes où nous avons piégé des phlébotomes *papatasi*.

Au Maroc, *P. papatasi* à été récolté a une altitude maximale de 1600 m (Bailly Choumara et al., 1971), les étages aride et surtout saharien restent les localisations préférentielles de cette espèce et sa densité croît avec l'augmentation de l'aridité (Boussaa, 2008).

➤ *Phlebotomus perniciosus*

Pour *P. perniciosus*, nous l'avons rencontré dans toutes les stations, sa présence maximale était à Maadid (66,11%) à une altitude de 1000m, cette espèce est considérée depuis longtemps comme vecteur de *Leishmania infantum* dans le bassin méditerranéen (Rioux et al. 1969), au Portugal, en Espagne, en France, au sud de la Suisse, en Italie, au Malte, et au Maghreb (Libye, Tunisie, Algérie et Maroc) (Seccombe et al., 1993).

En Algérie, cette espèce se retrouve dans tous les étages bioclimatiques avec cependant une fréquence plus élevée dans les zones humides et subhumides (Berchi, 1993), elle pullule constamment en grande Kabylie et dans la région tellienne, ces deux régions connues pour être foyers de leishmaniose viscérale humaine et animale (Addadi et Dedet., 1976 ; Dedet, 1979).

Dans la localité de Larbaa Nath Irathen dans la wilaya de Tizi-Ouzou à une altitude de plus de 900m, *P. perniciosus* était l'espèce la plus dominante des récoltes, 679 sur les 883 phlébotomes capturés (Berdjane Brouk et al., 2011).

En dehors des zones humides et subhumides, l'aire de distribution de *P. perniciosus* s'étend au sud en étage bioclimatique aride voir saharien. Par ailleurs, Boukraa et al en 2011, ont signalé pour la première fois la présence de *Phlebotomus perniciosus* dans la région du M'Zab-Ghardaïa. Rappelons aussi que *P. perniciosus* a été trouvé au Hoggar à une altitude de 1400 m (Rioux J.A et al., 1967).

La présence de *P. perniciosus*, le nombre de cas de LVH déclarés dans la localité de Maadid sont autant de signes laissant penser que cette espèce véhicule le parasite responsable dans cette région.

➤ *Phlebotomus alexandri*

Son aire de répartition va de l'Espagne et le l'est du Maroc aux montagnes du nord-ouest de la Chine (Depaquit et al, 1997). Cette espèce a été enregistrée à des altitudes allant du niveau de la mer à 1500 m (Maroli et al., 2001 ; Kamal et al., 2003). A Djibouti, cette espèce se trouve sur la plaine côtière, l'intérieur, et les hautes vallées (Fryauff et al., 1995).

Sa distribution en Afrique du nord correspond à celle de la LCZ dont il peut en constituer un vecteur secondaire. Elle est aussi confirmée comme vecteur de la leishmaniose viscérale à *Leishmania donovani* en Chine (Farzin-Nia et Hanafi-Bojd., 2007), supposée être vecteur de la leishmaniose cutanée à *L. major* et *L. tropica* en Afrique du Nord (Guan & Dong, 1986). En Iran, *P. alexandri* a été trouvé infecté par *L. infantum*, son rôle est donc probable dans la transmission de la leishmaniose viscérale dans ce pays (Azizi et al., 2006).

P. alexandri a été trouvé avec une fréquence de 0,25% du total *phlebotomus*, c'est au niveau de la station de Maadid que nous avons recueilli 3 exemplaires de cette espèce, pour les autres stations, aucun spécimen de *P.alexandri* n'a été trouvé. Pour Durand-Delacre qui a travaillé dans la région de Figuig (confins algéro-marocains), cette espèce était la plus fréquente de la région (30 %) après *P.papatasi* (44 %).

D'après Chérif. (1994), *P. alexandri* est absent dans les régions de montagnes, il est par contre signalé sporadiquement autour du chott (Chérif, 1994). Berchi. (1990), avait souligné que cette espèce est strictement localisée dans le Sud du constantinois et ne franchit pas la zone semi-aride.

P.alexandri était présent dans la station de Maadid à une altitude de 1000m. En outre, nos résultats infirment ce qui a été déjà dit par les auteurs.

➤ *Phlebotomus longicuspis*

C'est une espèce endémique du Nord, elle est capturée dans le tell Algérien (Parrot, 1936), en étage saharien (Berchi ,1990) et plus particulièrement en hauts plateaux dans les étages arides et perarides (Croset et al., 1978). Il semblerait que *P. longicuspis* ait le même rôle que *P. perniciosus* dans la transmission de la leishmaniose viscérale (Parrot, 1935), il a été trouvé infecté par *Leishmania* (Parrot et Donatien., 1952).

Dans nos récoltes, la fréquence de *P. longicuspis* est de 5,49% des *phlebotomus*, retrouvé à proportions plus élevées (29 et 30 spécimens) au niveau de la station de Maadid et Metarfa par apport à la station de Ouled derradj (7 spécimens) et Souamaa où il est pratiquement absent. La localisation de la station de Metarfa près du Oued Ksob ainsi que son agriculture très développée à vocation arboriculture, oléiculture, maraichage et céréaliculture, favorisent le développement de multitude espèces de phlébotomes, plus particulièrement celles du sous genre *Larrousius*.

D'après Boudrissa, Il semblerait que cette espèce à une distribution focale, en effet on ne la retrouve que dans les stations à microclimat humide, telles les jardins et les palmeraies, et où il est capturé parfois en grand nombre, par contre en dehors de ces lieux sa présence est moins importante (Boudrissa, 2006).

➤ *Phlebotomus sergenti*

Durant notre étude, Seulement 36 exemplaires de *P. sergenti* ont pu être récoltés, dans la seule station de Maadid, soit 2,95% des *phlebotomus*. Aucun spécimen n'a été capturé dans les trois autres stations.

En Algérie, *P. sergenti* est très fréquent, il aurait comme optimum écologique les étages sub-humides et semi-arides (Berchi, 1990), présent aussi bien au sud du pays dans les contreforts de l'Atlas Saharien, les steppes présahariennes et dans les régions telliennes. Il est également présent au Sahara central, mais sa densité est faible (Dedet et al., 1984). *P. sergenti* est soupçonné transmettre la LC à côté de *P. papatasi* et *P. alexandri*.

En Tunisie (2011), Tabbabi et al ont isolé *L. tropica* d'un *P.sergenti* et ont confirmé la participation de cette espèce dans la dissémination de la LC (Tabbabi, 2011). Par ailleurs, en Algérie, Boubidi et al ont trouvé *P. sergenti* naturellement infesté par *L. killicki* dans la région de Ghardaia (Boubidi et al., 2011).

Les espèces du genre *Sergentomyia* sont largement réparties dans l'ancien Monde et sont connues pour se nourrir sur les reptiles ainsi que d'autres vertébrés, y compris les humains (Bates, 2007 ; Berdjane - Brouk et al., 2012). Bien que ces phlébotomes sont considérés comme des vecteurs de *Sauro-leishmania* chez les lézards, il a été récemment suggéré que certaines espèces du genre *Sergentomyia* sont impliqués dans la transmission de *Leishmania infantum* chez les chiens au Sénégal (Senghor et al., 2011), aussi l'ADN de *Leishmania major* a été détecté dans *Sergentomyia darlingi* lors d'une leishmaniose cutanée au Mali (Berdjane - Brouk et al., 2012). Plutôt, Mukherjee et al (1997), ont détecté l'ADN de *Leishmania donovani* dans *Sergentomyia* spp en Inde.

Au Portugal, Campino et al, ont détecté pour la première fois l'ADN de *L. major* chez *S.minuta* naturellement infecté (Campino et al, 2013). Ce constat remet en question le dogme que *Leishmania* est transmis exclusivement par les espèces du genre *Phlebotomus* dans l'Ancien Monde et que *Sergentomyia* est exclusivement un vecteur de *Sauroleishmania*.

➤ *Sergentomyia munita parroti*

C'est la seule espèce appartenant au genre *sergentomyia* qui a été capturée dans toutes nos stations, 67,33% du total *sergentomyia*. En 2006, Harrat a dénombré 3071 spécimens de *S.munita parroti* sur un total de 10441 phlébotomes capturés. D'après ce même auteur, Cette espèce ne joue aucun rôle dans la transmission des leishmanioses en Algérie.

➤ *Sergentomyia fallax*,

Dans nos propres récoltes, sa fréquence est très faible, elle a été retrouvée avec seulement 3 spécimen soit 2% des *sergentomyia*. Cette espèce a été déjà signalée dans la région lors des enquêtes entomologiques (Boudrissa, 2005).

CONCLUSION

Les leishmanioses humaines constituent un sérieux problème de santé publique en Algérie. Malgré la surveillance et l'application des mesures de lutte adéquates, le nombre de cas ne cesse d'augmenter, la recrudescence de cette maladie et son extension à partir des foyers classiques vers des localités qui ont été jusqu'au là indemnes rend la situation épidémiologique globale peu claire.

Par la présente étude, nous avons associé l'étude sérologique portée sur les chiens réservoirs de la LVH, à l'étude entomologique des phlébotomes afin de déceler l'existence d'un éventuel rapport entre la pullulation des espèces de phlébotomes vecteurs, la L. Can et l'apparition des cas de leishmaniose viscérale humaine dans la wilaya de M'sila.

L'enquête sérologique était totalement négative sur tous les chiens prélevés y compris les suspects, ces résultats permettraient d'infirmer momentanément l'hypothèse énoncée précédemment, sans pour cela exclure l'existence de la maladie.

Il est à signaler que cette étude est la deuxième dans la région de M'sila, devant l'inexistence de travaux de recherche et d'étude prospective dans ce contexte, On ne peut donc estimer la prévalence et l'incidence réelles, la situation globale n'a toujours pas été établie à partir des données existantes. Pourtant, la mise en œuvre de stratégies de lutte efficace contre cette maladie passe par une meilleure connaissance de la répartition géographique des différents maillants ainsi que des espèces phlébotomiennes responsables de la maladie.

L'enquête rétrospective met le point sur le nombre assez élevé de LC (32086 cas entre 2002 et 2013), la situation devient alarmante ces dernières années et préoccupe les services de santé locale pour mettre fin à cette maladie. Les cas de leishmaniose viscérale humaine déclarés (6 cas de 2002 à 2013) dans la région sont certainement peu liés à la maladie canine et à la circulation des espèces vectrices.

Il est important de signaler que la leishmaniose viscérale est bien présente dans les wilayas limitrophes à savoir Bordj-Bou-Argeridj, Sétif et Bouira, la possibilité d'une propagation de la maladie de ces foyers à M'sila est posée.

L'étude des caractéristiques climatiques de la région de M'sila montre la vulnérabilité de la région aux maladies à transmission vectorielle y compris les leishmanioses. Par ailleurs, Elle représente un terrain propice à la multiplication du parasite et à l'activité du vecteur aussi, les

conditions d'un milieu aussi dégradé qui facilite l'expansion et la flambé de cette parasitose sont autant de facteurs qui n'empêchent pas sa poussée.

Avec 16 espèces, l'inventaire entomologique de la région de M'sila s'avère assez riche englobant les phlébotomes de l'étage bioclimatique humide, subhumide, aride et semi-aride. Toutes les espèces vectrices prouvées y sont répertoriées, exposant la région à un risque véritable d'apparition des leishmanioses notamment la *L. viscérale* et canine ainsi la présence de certaines espèces vectrices suspectées faisant de la région un territoire potentiel pour la transmission de nouvelles formes.

L'enquête entomologique effectuée entre juin et Novembre 2013, montre une prédominance des espèces appartenant au genre *Phlebotomus* (89,05%), face à (10,95%) pour le genre *Sergentomyia*. Les huit espèces capturées ne sont pas nouvelles, elles ont déjà été signalées dans la région de M'sila ; *P. papatasi*, *P. perniciosus*, *P. longicuspis* et *S. munita* sont les espèces les plus constantes le long de la durée de notre étude et dans toutes les stations prospectées.

Les espèces les plus abondantes sont respectivement *Phlebotomus papatasi* (71,80%) et *Phlebotomus perniciosus* (19,51%), l'abondance de *P. perniciosus*, vecteur de la leishmaniose viscérale humaine et canine en Algérie. Cet espèce pourrait certainement jouer ce rôle dans la région de M'sila, si les conditions d'exigence se réunissent.

La méconnaissance de la situation sanitaire de la région de M'sila non seulement pour la leishmaniose mais aussi pour d'autre zoonoses telles la brucellose et la tuberculose, sévissant à l'état endémique sans toutefois être étudiée émettent plusieurs hypothèses et interrogations. Il serait alors intéressant et judicieux à l'avenir :

- D'exploiter ces données et de continuer la recherche sur cette thématique dans la même région.
- De recourir à des études à grande ampleur afin d'identifier et de localiser la maladie.
- D'approfondir les recherches sur les phlébotomes en s'appuyant sur des techniques et des outils plus développés tel l'outil moléculaire.
- De contrôler le réservoir domestique et pourquoi pas le réservoir sauvage qui ne peut être épargné du cycle de transmission des leishmanioses en particulier la leishmaniose viscérale humaine.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abonnenc E., 1972 – Les phlébotomes de la région Ethiopienne (Diptera : Psychodidae) . Mém ; O.R.S.T.O.M, Sér .Ent. Méd. Parasitol., 55,289p.
- Abonnenc E., léger N., 1976 – Sur une classification rationnelle des diptères Phlebotomidae .Cah . O.R.S.T.O.M, Sér. Ent, Méd. Parasitol., 14,69-78.
- Ahmed Tabbabi , Nadia Bousslimi , Adel Rhim , Karim Aoun , and Aïda Bouratbine, (2011)- Short Report: First Report on Natural Infection of Phlebotomus sergenti with Leishmania Promastigotes in the Cutaneous Leishmaniasis Focus in Southeastern Tunisia., Am. J. Trop. Med. Hyg., 85(4), 2011, pp. 646–647
- Ait-Oudhia K, Lami P, Lesceu S, et al (2009) Increase in the prevalence of canine leishmaniasis in urban Algiers (Algeria) following the 2003 earthquake. Ann Trop Med Parasitol 103(8): 679-92.
- Aït-Oudhia K., Z. Harrat, , Dedet J.P. Benikhlef R., Pratlong F.2011. Canine Leishmania infantum enzymatic polymorphism: A review including 1023 strains of the Mediterranean area, with special reference to Algeria. Acta Tropica 118 (2011) 80–86
- Ait-Oudhia. K, Gazanion E., Sereno D., Oury B., Pratlong F., Dedet J.P., Lachaud L. In vitro susceptibility to antimonials and amphotericin B of Leishmania infantum strains isolated from dogs in a region lacking drug selection pressure Vet. Parasitol., 187 (2012), pp. 386–393
- Alexander, B. and Maroli, M. (2003) Control of phlebotomine sandflies. Med. Vet. Entomol. 17, 1–18
- Alvar J, Yactayo S, Bern C. Leishmaniasis and poverty. Trends Parasitol 2006;22:552-7.
- Alvar J., C. Canavate, R. Molina, J. Moreno, and J. Nieto, “Canine leishmaniasis,” Advances in Parasitology, vol. 57, pp. 1–88, 2004.
- Alvar, J., Canavate, C., Molina, R., Moreno, J., Nieto, J., 2004. Canine leishmaniasis. Adv. Parasitol. 57, 1–88.
- Andres, M., Gonzalez, F., Castillo, J.A., Lucientes, J., Alvar, J., 1994. Infectivity of dogs naturally infected with Leishmania infantum to colonized Phlebotomus perniciosus. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 88, 491–493.
- Aoun K, Bouratbine A, Chahed Kk & Ben Ismail R – Apport du test d’agglutination directe (DAT) dans le diagnostic de la leishmaniose viscérale en Tunisie. Tunisie Médicale, 2000, **78**, 719-722.
- Aubry P. Leishmanioses. Actualités 2008. Médecine Tropicale 2008; <http://medecinetropicale.free.fr/cours/leishmanioses.htm>.
- Azizi K., Y. Rassi, E. Javadian, M. H. Motazedian, S. Rafizadeh, M. R. Yaghoobi Ershadi and M. Mohebal, (2006) - Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri: a probable vector of Leishmania infantum in Iran. Annals of Tropical Medicine & Parasitology, Vol. 100, No. 1, 63–68.
- Bailly-Chaumara H., Abonnec E. et Pastre J. (1971) - Contribution à l’étude des phlébotomes du Maroc (Diptera: Psychodidae). Données faunistiques et écologiques. Cah. O.R.S.T.O.M. sér. Ent. Méd. Parasitol. IX, **4**, 431-460pp.
- Baldet T., 2004. Biologie et contrôle des maladies vectorielles émergentes, - Montpellier : CIRAD/EMVT.-30p.
- Baneth G., Hoffman O., Jaffe C.L., Straus D., Schnur L.F., Sandler B., Sekeles E., Eisenberger C.L., Jacobson R.L., Warburg A. Allopurinol treatment diminishes the infectivity of dogs with canine leishmaniasis to Lutzomyia longiPalpis sand flies. Isr. J. Vet. Med., 2001, 56, 28-33
- Bates P 2007. Transmission of Leishmania metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. Int J Parasitol 37: 1097-1106.

- Belazzoug S, Bensali-braham S, Lakhal Z, Abdennebi H. Hémagglutination indirecte dans le sérodiagnostic de la leishmaniose viscérale, comparaison avec l'immunofluorescence indirecte. Arch I; Inst Pasteur Alger 1986;55 ;107-12.
- Belazzoug S, Lanotte G, Maazoun R, et al (1985) Un nouveau variant enzymatique de *Leishmania infantum* Nicolle, 1908, agent de la leishmaniose cutanée du Nord de l'Algérie. Ann Parasitol Hum Comp 60(1):1-3
- Belazzoug S., Lanotte G., Maazoun R., Pratlong F & Rioux JA., 1985 : Un nouveau variant enzymatique de *leishmania infantum* Nicolle, 1908 agent de la leishmaniose cutanée du Nord de l'Algérie. Ann. Parasitol. Hum. Comp., **60**, 1-3
- Ben Said M., A. Jaïem, M. Smorembourg, S.J. Semiao-Santos, M.S. Ben Rachid et A. El Harith (1992). La leishmaniose canine dans la région d'Enfidha. Estimation de la séro-prévalence par agglutination directe (DAT) et immunofluorescence indirecte (IFAT). Bull. Soc. Path. Exot., 159-163.
- Bencherif F., Contribution à l'étude des insectes d'intérêt médical dans les régions de Batna et de Biskra : Cas particulier des phlébotomes (Diptera : Psychodidae). Mémoire de magistère (Université de Batna algérie. 130
- Benikhlef R, Harrat Z, Toudjine M, Djerbouh, A . Bendali-Braham S .,& Belkaid M.(2004) - Présence de *Leishmania infantum* MON-24 chez le chien.
- Berchi S., 1990 – Ecologie des phlébotomes (Diptera, Psychodidae) de l'Est algérien, mémoire de Magister en Entomologie Appliquée. Université de Constantine, 116p.
- Berdjane-Brouk Z, Koné AK, Djimdé AA, Charrel RN, Ravel C, Delaunay P, del Giudice P, Diarra AZ, Doumbo S, Goita S, Thera MA, Depaquit J, Marty P, Doumbo OK, Izri A 2012. First detection of *Leishmania major* DNA in *Sergentomyia* (*Spelaeomyia*) *darlingi* from cutaneous leishmaniasis foci in Mali. PLoS ONE 7: e28266.
- Bettini S., Gradoni L. (1986). Canine leishmaniasis in the Mediterranean area and its implication for human leishmaniasis. Insect Sci Appl, 7: 241-245.
- Boelaert M., K. Aoun, J. Liinev, E. Goetghebeur et P. Van Der Stuyft (1999). The potential of Latent Class Analysis in diagnostic test validation of canine *Leishmania infantum* infection. Epidemiol. Infect., 123, 499-506.
- Boubidi, S. C., Benallal, K., Boudrissa, A., Bouiba, L., Bouchareb, B., and Garni, R. 2011 *Phlebotomus sergenti* (Parrot , 1917) identified as *Leishmania killicki* host in Ghardaï " a , south Algeria, Microbes and Infection, Elsevier Masson SAS 13, 691-696.
- Boudrissa A., 2005- étude des facteurs de risque de transmission de la leishmaniose cutanée zoonotique cas du foyer de Chott El Hodna, Mémoire de magistère, Univ. Oum el Bouaghi, 146p.
- Boudrissa A., Cherif K., Kherrachi I., Benbetka S., Bouiba L., Boubidi S.C., Benikhlef R., Arrarb. Hamrioui L. et Harrat Z., 2012 - Extension de *Leishmania major* au nord de l'Algérie. Bull. Soc. Pathol. Exot. ; 105: pp 30-35.
- Bounamous A., 2010. Biosystématique et caractérisation par la biologie moléculaire des phlébotomes de l'est Algerien. Thèse de Doctorat en Biologie Animale. université Mentouri de Constantine.
- Bourdoiseau, G.; Denerolle, P. 2000. Traitement de la leishmaniose canine : actualités. Rev. Méd. vét., 151:401-408.
- Bourdoiseau G., Chene J. Chabanne L. et coll. Comparison of a rapid immunochromatographic test with immunofluorescence assay for the detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in dog. 2nd COongresso Internazionale SCIVAC - Leishmaniosi canina. Pisa - Italy, April 2010.
- Boussaa S., 2008. Epidémiologie des leishmanioses dans la région de Marrakech, Maroc : effet de l'urbanisation sur la répartition spatio-temporelle des phlébotomes et

caractérisation moléculaire de leurs populations. Thèse de Doctorat d'Ecologie-Epidémiologie. Université Louis Pasteur – Strasbourg : 181p.

- Campino Lenea, Sofia Cortes, Lúcia Dionísio, Luís Neto⁴, Maria Odete Afonso, Carla Maia (2013). -The first detection of *Leishmania major* in naturally infected *Sergentomyia minuta* in Portugal., Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 108(4): 516-518.
- Carrio, J., Portus, M., 2002. In vitro susceptibility to pentavalent antimony in *Leishmania infantum* strains is not modified during in vitro or in vivo passages but is modified after host treatment with meglumine antimoniate. BMC Pharmacol. 2, 11.
- Cester C.C., Schneider M. Et Toutain P.L. : Comparative kinetics of two orally administered fluoroquinolones in dog : enrofloxacin versus marbofloxacin. Rev. Méd. Vét., 1996, 147, 703-716.
- Chauvet G. (1983) - Investigations entomologiques dans les foyers de Leishmaniose cutanée de la wilaya de M'sila, Rapport d'une mission en Algérie. 36p.
- Chérif k., 1994 : Les phlébotomes de Bou-Saâda. Etude de la susceptibilité aux insecticides. Mémoire de Magistère (Sétif) Algérie. 140.
- Costa, C.H. (2011) How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 44, 232–242
- Costa, C.H. et al. (2002) Asymptomatic human carriers of *Leishmania chagasi*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 66, 334–337
- Costa, C.H., Tapety, C.M., and Werneck, G.L. (2007). Control of visceral leishmaniasis in urban areas: randomized factorial intervention trial. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 40, 415–419.
- Croset H., Rioux J.A., Léger N., Houin R., Cadi-Soussi M., Benmansour N. et Maistre M. (1977)- Les méthodes d'échantillonnages des populations de phlébotomes en région méditerranéenne. Coll. Inter. C.N.R.S. 239 "Ecologie des leishmanioses ", 139-151 pp.
- Daeninck F. Etude comparative, en immunofluorescence directe, des formes promastigote et amastigote de *Leishmania infantum*. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine Claude Bernard, Lyon, 1998, 89p.
- Dajoz R. (1975) - Précis d'écologie Ed. Bordas Paris. 549p.
- Dantas-Torres, F. et al. (2006) Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. Vet. Parasitol. 310, 54–60
- Dantas-Torres, F., Brandaño-Filho, S.P., 2006. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 48, 151–156.
- Davidson R.N., Di Martino L., Gradoni L., Giacchino R., Russo R., Gaeta G.B., Pempinello R., Scott S., Raimondi F., Cascio A., Prestileo T., Caldeira L., Wilkinso R.J. Et Bryceson A.D.M. : Liposomal amphotericin B (AmBisome) in Mediterranean visceral leishmaniasis : a multi-centre trial. Quarterly J. of Med., 1994, 87, 75-81.
- Deane, L.M., Deane, M.P., 1955. Observações preliminares da importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios de *Leishmania donovani*, em área endêmica do calazar, no Ceará. Hospital (Rio J) 48, 79–98.
- Dedet J P, Addadi K & Pascal R - Epidémiologie des leishmanioses en Algérie :2- fluctuation saisonnière de la leishmaniose canine à Alger. Arch Inst Pasteur Algérie, 1973, 51, 195-201.
- Dedet J-P., Addadi K., Belazzoug S., 1984 – Les Phlébotomes (Diptera: Psychodidae) d'Algérie. Cah. ORSTOM. Sér. Ent. Méd. Parasitol. vol XXII, N° 2, 99-127.
- Dedet. J. P, Pratlong. F., Lambert. M., Bastien. P. (1999). Leishmaniose et immuno-dépression. Les leishmanioses. Ellipses. 249, 189-190.
- Denerolle P. : Leishmaniose canine : difficultés du diagnostic et du traitement (125 cas). Prat. Méd. Chir. An. Comp., 1996, 31, 137- 145.

- Depaquit J: Revision du sous-genre *Paraphlebotomus* (*Phlebotomus*-*Phlebotominae* - *Psychodidae* - *Diptera*). Approches morphologique et moléculaire. Doctoral Dissertation Reims, France: L'University de Reims 1997.
- Dereure J - Place du chien dans les complexes pathogènes leish - maniens des pays du pourtour méditerranéen et du Moyen- Orient (Algérie, Egypte, France, Maroc, Syrie, Yémen). Thèse Faculté de médecine, Université Montpellier I, 1993, 179 p.
- Dereure J, Rioux Ja, Gallego M, Perieres J, Pratlong F et al.-*Leishmania tropica* in Morocco: infection in dogs. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1991, 85, 595.
- Dereure J, Velez Id, Pratlong F, Denial M, Lardi M et al.- La leishmaniose viscérale autochtone au Maroc méridional. In : *L e i s h - mania*. Taxonomie et Phylogénèse. Applications éco-épidémiologiques. JA RIOUX édit. IMEEE, Montpellier, 1986, pp. 421-425.
- Dereure J. Réservoirs de leishmanies. In: Dedet JP, editor. *Les Leishmanioses*. Paris: Ellipses; 1999. p. 109-30.
- Dereure, J., Rioux, J.A., Gallego, M., Perieres, J., Pratlong, F., Mahjour, J., Saddiki, H., 1991. *Leishmania tropica* in Morocco: infection in dogs. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85, 595.
- Desjeux, P., 2004. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 27, 305–318.
- DeSouza,V.M.M.,Julião,F.S.,Neves,R.C.S.,Magalhães,P.B.,Bisinotto,T.V.,Lima,A.S.,deOliveira,S.S.,and Júnior,E.D.M.(2008).Community assay for assessment of effectiveness of strategies for prevention and control of human visceral leishmaniasis in the municipality of Feira de Santana,State of Bahia,Brazil. *Epidemiol.Serv.Saúde* 17, 97–106.
- DOLMATOVA AV, DEMINA NA - Les Phlébotomes et les maladies qu'ils transmettent. ORSTOM ed, 1971, 168 p.
- DOLMATOVA, A. V., N. A. DEMINA, 1971 – Les phlébotomes (*Phlebotominae*) et les maladies qu'ils transmettent. ORSTOM, Documentation technique, 18: 1-168.
- DURAND-DELACRE(R .), 1948. - Quelques observations biologiques sur les Phlébotomes de Béni Ounif-de-FiguEgag (Sahara Oranais). *Arch. Znst. Pastezrr d'Algérie*, XXVI, 406430.
- Dye, C. (1996).The logic of visceral leishmaniasis control. *Am.J.Trop. Med.Hyg.* 55, 125–130.
- Euzeby J., 1984 – Les parasitoses humaines d'origine animale. Caractères épidémiologiques. Ed. Flammarion. Paris. 324p.
- Farzin-Nia B. et Hanafi-Bojd A.A. (2007) - The Sand Fly Fauna of an Endemic Focus of Visceral Leishmaniasis in Central Iran. *Iranian. Jour. Arthropod. Borne. Dis.*1(2): 48- 52 pp. 60.
- Feliciangeli, M.D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies *Medical and Veterinary Entomology*, 2004, 18, 71-80
- Feliciangeli, M.D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies *Medical and Veterinary Entomology*, 2004, 18, 71-80
- França C. (1918) - Note sur les espèces portugaises du genre *Phlebotomus*. *Bull. Soc. Path. Exot.* 11 : 730-733 pp.
- Franke, C.R., M. Ziller, C. Staubach & M. Latif. 2002. Impact of the El Niño/ Southern oscillation on visceral leishmaniasis, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 914-917.
- Fryauff D, Cope S, Presley S, Hanafi H, Bailly C, Said-Salah E, Abro M, Dabale D: Sand flies of the Republic of Djibouti: ecological distribution, seasonal population trends, and identification of species. *Journal of Vector Ecology* 1995, 20(2):168-188

- G. Baneth, A. F. Koutinas, L. Solano-Gallego, P. Bourdeau, and L. Ferrer, "Canine leishmaniosis—new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one," Trends in Parasitology, vol. 24, no. 7, pp. 324–330, 2008.
- Gaeta G. B., L. Gradoni, M. Gramiccia et al., "Leishmaniosi viscerale in Italia. Epidemiologia, clinica, terapia," Recenti Progressi di Medicina, vol. 85, pp. 340–347, 1994.
- Giffoni, J.H., deAlmeida, C.E., dos Santos, S.O., Ortega, V.S., and de Barros, A.T. (2002). Evaluation of 65% permethrin spot-on for prevention of canine visceral leishmaniasis: effect on disease prevalence and the vectors (Diptera: Psychodidae) in a hyper endemic area. Vet. Ther. 3, 485–492.
- Gramiccia, M., Gradoni, L., 2005. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. Int. J. Parasitol. 35, 1169–1180.
- Gramiccia, M., Gradoni, L., di Martino, L., Romano, R., Ercolini, D., 1992, Two syntopic zymodemes of *Leishmania infantum* cause human and canine visceral leishmaniasis in the Naples area, Italy. Acta Trop 50, 357–359.
- Grevot A, Jaussaud Hugues P., Marty P., Pratlong F., Ozon C., Haas., Breton C., Bourdoiseau G., (2005), leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeLV positive cat with cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods, parasit, 12, (3), 271–275.
- Guan J.L. R. et Dong J. (1986) - The role of *Phlebotomus alexandri* Sinton 1928 in the transmission of kala-azar. Bull. Soc. Path. Exot. **64**: 107–112 pp.
- Giudice E, Passantino A. 2011. Detection of *Leishmania* amastigotes in peripheral blood from four dogs. Acta Veterinaria Hungarica 59(2): 205–213.
- Harrat Z., Hamrioui B., Belkaid M. & Tabet-Derraz O., 1995 : Point actuel sur l'épidémiologie des leishmanioses en Algérie. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique. **88**. 180–184.
- Harrat, Z., Boubidi, S. C., Pratlong, F., Benikhlef, R., Selt, B., Dedet, J. P., Ravel, C., and Belkaid, M. 2009 Description of a dermatropic *Leishmania* close to *L. killicki* (Rioux, Lanotte & Pratlong 1986) in Algeria., Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 103, 716–720.
- Harrat. Z., Pratlong. F., Belazzoug. S., Dereure. J., Deniau. M., Rioux. J.A., Belkaid. M., Dedet. J.P. (1996): *Leishmania infantum* and *Leishmania major* in Algeria Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 90, 625–629
- Hausmann K., Et Ülsmann N., 1996. Protozoology, New York : Thieme Medical Publishers, Inc. 30 : 365–371.
- Helal H., Ben Ismail R., Bach-hamba D., Sidhom M., Bettini S. et Ben Rachid MS., 1987. Enquête entomologique dans le foyer de leishmaniose cutanée zoonotique (*Leishmania major*) de Sidi Bouzid (Tunisie) en 1985. Bull. Soc. Path. Exot., 80 : 349–356.
- Henning W., 1972 - Insektenfossilien aus der unteren Kreide. IV. Psychodidae (Phlebotomidae) mit einer kritischen Übersicht über das phylogenetische System der Familie und die bisher beschriebenen Fossilien (Diptera). - Stuttgart Beiträge zur Naturkunde aus dem Staatlichen Museum für Naturkunde in Stuttgart, 24/1: 1–89.
- Hommel M. Visceral leishmaniasis: biology of the parasite. J Infect 1999;39:101–111. [CrossRefMedlineWeb of Science](#)
- Hubert B. (2006) Comment diagnostiquer la leishmaniose canine. Le Point Vét., 270, 54–59.
- Izri A, Belazzoug S - *Phlebotomus* (*Larrousius*) *perfiliewi* naturally infected with dermatotropic *Leishmania infantum* at Tenes, Algeria. Trans R Soc Trop Med Hyg 1993 ; 87 : 399.

- Izri A. et Belazzoug S. (2007) - Diagnostic de laboratoire des leishmanioses rencontrées en Algérie. Revue Francophone des Laboratoires. 396 : 3-10 pp.
- Kamal HA, Doha SA, El-Hosary SS, Shehata MG, El Sawaf BM: Human zoonotic cutaneous leishmaniasis and associated sand flies (Diptera:Psychodidae) in Sheikh Atiya village, southern Sinai, Egypt. Journal of the Egyptian Society of Parasitology 2003, 33(3):795-803
- Kettle, D.S. Medical and Veterinary Entomology - Second Edition CAB International, Wallingford, 1995, 177-191
- Killick-Kendrick R. (2002). The life-cycles of Leishmania in the sand fly and transmission of leishmaniasis by bite. In: Intervet, Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis forum, Séville, 57-68.
- Killick-Kendrick R., 1990. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis : a review. Med. Vet. Entomol. 4: 1-24
- Killick-Kendrick, R. 1979. Biology of Leishmania in phlebotomine sandflies. In: Biology of Kinetoplastida, vol. 2 (W.H.R. Lumsden and D.A. Evans, Ed.) .. Academic Press, London, 395-460.
- Killick-Kendrick, R., 1999. The biology and control of phlebotomine sand flies. Clin. Dermatol. 17, 279–289.
- Killick-Kendrick, R., Y. Tang, M. Killick-Kendrick et al., 1994. Phlebotomine sandflies of Kenya (Diptera, Psychodidae).III. The identification and distribution of species of the subgenus Larrousius. Ann. Trop. Med. Parasitol., 88: 183–96
- Koutinas A. F., Z. S. Polizopoulou, M. N. Saridomichelakis, D. Argyriadis, A. Fytianou, and K. G. Plevraki, “Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989–1996),” Journal of the American Animal Hospital Association, vol. 35, no. 5, pp. 376– 383, 1999.
- Lainson, R., Rangel, E.F., 2005. Lutzomyia longipalpis and the ecoepidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 100, 811– 827.
- Lamothe J., Gaudray Ch., Zarka P. (2004). Diagnostic de la leishmaniose canine. Prat. Méd chir. Anim. Cie, 38, 41-46.
- Lamothe, J. 1997. Essai de traitement de la leishmaniose canine par l'amphotéricine B (39 cas). Prat. méd. chir. Anim. Cie., 1997, 32 133-141.
- Lane R-P., Abdel-hafez S., Kamhawi S., 1988 – The distribution of phlebotomine sandflies in the principal ecological zones of Jordan. Med. Vet. Entomol. 2, 237-246.
- Lanotte, G., and J. A Rioux. 1990. Fusion cellulaire chez les Leishmania (Kinetoplastida, Trypanosomatidae). C. R. Séances Acad. Sci. III 310:285-288.
- Léger N., Depaquit J., 1999- Les phlébotomes. In: J-P. Dedet (ed.), les leishmanioses, Paris : Ellipses : 90-108.
- Léger N., Depaquit J., 2001 – Les phlébotomes et leur rôle dans la transmission des leishmanioses. Revue Française des laboratoires № 338, 41-48.
- Léger N., Depaquit J., 2002- Systématique et Biogéographie des phlébotomes (Diptera : Psychodidae) .Ann. Soc. Entomol. Fr. (n.s.), 38 (1-2) ; 163-175.
- Leger, N., Depaquit, J. Les phlebotomes In: Les leishmanioses, coordinateur J.-P. Dedet, Editions Ellipses, Collection Universités Francophones, Paris, 1999, 89-109
- Lemesre JI, Holzmüller P, Cavaleira M., Gonçalves Rb, Hottin G, Papierok G (2005) Protection against experimental visceral leishmaniasis infection in dogs immunized with purified excreted secreted antigens of Leishmania infantum promastigotes. Vaccine, 23 (22), 2825-2840.
- Levine ND., Corliss JO., Cox G E G et al. 1980 : A newly revised classification of protozoa. J. Protoz., 27, 37-48.

- Lipoldová et al. Nature Reviews Genetics 7, 294–305., April 2006.
- Lounaci Z., 2003 – Biosystématique et bioécologie des Culicidae (Diptera, Nematocera) en milieux rural et agricole. Thèse Mag. INA, El-harrach.
- Lupascu G., Duport M., Dancescu P. et Cristescu M. (2003) - Ethologie et phénologie des phlébotomes vecteurs potentiels de la leishmaniose en Roumanie. colloques internationaux du C.N.R.S. 239 :191-194 pp.
- Madeira, M., Schubach, A., Schubach, T., Pereira, S., Figueiredo, F., Baptista, C., Leal, C., Melo, C., Confort, E., Marzochi, M., 2006. Post mortem parasitological evaluation of dogs seroreactive for *Leishmania* from Rio de Janeiro, Brazil. Vet. Parasitol. 138, 366–370.
- Maia C, Campino L 2008. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. Veterinary Parasitology 158(4):274-87.
- Maia, C., Ramada, J., Cristovao, J., Campino, L., 2007. Diagnosis of canine leishmaniasis: conventional and molecular techniques using different tissues. Vet. J., doi:10.1016/j.tvjl.2007.08.009.
- Maroli M, Krasnonos L, Gafurov I: Epidemiological and entomological survey in a focus of visceral leishmaniasis in Pap district (Fergana Valley) of Namangan region, Uzbekistan. Acta Tropica 2001, 80(3) :223-228.
- Maroli, M. et al. (2010) Guidelines for prevention of leishmaniasis in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 236, 1200–1206
- Maroli, M. et al. (2013) Phlebotomine sand flies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. Med. Vet. Entomol. 27, 123–147
- Martín-Sánchez J, Acedo C, Muñoz-Pérez M, et al (2007) Infection by *Leishmania infantum* in cats: Epidemiological study in Spain. Vet Parasitol 145(3-4):267-73. Epub 2006 Dec 8.
- Marty P, Delaunay P, Fissor C et Le Fichoux Y., 2007 : La leishmaniose méditerranéenne due à *Leishmania infantum* : Mise au point – intérêts des tests de diagnostic rapide : IT-Leish et IDPAGIA Leishmaniasis. Med trop. 67 :79-85.
- Marty, P., Lelievre, A., Quaranta, J.F., Suffia, I., Eulalio, M., Gari-Toussaint, M., Le Fichoux, Y., Kubar, J., 1995, Detection by Western blot of four antigens characterizing acute clinical leishmaniasis due to *Leishmania infantum*. Trans R Soc Trop Med Hyg. 89, 690-691.
- McGahie D. CaniLeish®: Development of a new preventive tool. How do you produce a vaccine which really works? Proceedings of the symposium “Advanced management of Canine Leishmaniasis” Southern European Veterinary Congress 2011, Barcelona, pp 13,14
- Messai N. (2006) - Contribution à l'étude de la biodiversité des espèces Culicidiennes (Diptera- Culicidae) et inventaire des Phlébotomes (Diptera-Psychodidae) dans la région de Mila. Mémoire de Magister en entomologie, Université de Constantine ; 179p.
- Michalsky, E.M. et al. (2007) Infectivity of seropositive dogs, showing different clinical forms of leishmaniasis, to *Lutzomyia longipalpis* phlebotomine sand flies. Vet. Parasitol. 147, 67–76
- Miro, G. et al. (2007) Evaluation of the efficacy of a topically administered combination of imidacloprid and permethrin against *Phlebotomus perniciosus* in dog. Vet. Parasitol. 143, 375–379
- Molina, R. et al. (1994) Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 88, 491–493
- Moreira Ma, Luvizotto Mc, Garcia Jf, Corbett Ce, Laurenti Md, 2007. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. Veterinary Parasitology 145(3-4):245-52.

- Moreira, E.D.Jr, Mendes de Souza,V.M.,Sreenivasan,M.,Nascimento, E. G.,and Pontes de Carvalho,L. (2004). Assessment of anoptimized dog-culling program in the dynamics of canine Leishmania transmission. *Vet.Parasitol.* 6, 245–252.
- Moulinier, C. Parasitologie et mycologie medicales – Elements de morphologie et de biologie Lavoisier, Editions medicales internationales (EMinter), Paris, 2003
- Mouloua A., 2014. Etude écoépidémiologique de la leishmaniose canine en Kabylie. Thèse de Doctorat en sciences biologiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- Mukherjee S, Hassan MQ, Ghosh A, Ghosh KN, Bhattacharya A, Adhya S 1997. Leishmania DNA in Phlebotomus and Sergentomyia species during a kala-azar epidemic. *Am J Trop Med Hyg* 57: 423-425.
- MyskovaJ., VotypkaJ.,and Volf P., 2008; Leishmania in sand flies: comparison of quantitative polymerase chain reaction with other techniques to determine the intensity of infection. *J Med Entomol.*; 45(1):133-8.
- Nunes,C.M.,Pires,M.M.,daSilva,K.M.,Assis,F.D.,GonçalvesFilho,J.,and Perri,S.H.(2010).Relationship between dog culling and incidence of human visceral leishmaniasisin an endemic area. *Vet.Parasitol.* 170, 131–133.
- O. Cortadellas, M. J. F. del Palacio, A. Bay ´ on, A. Albert, and J. Talavera, “Systemic hypertension in dogs with leishmaniasis: prevalence and clinical consequences,” *Journal of Veterinary Internal Medicine*, vol. 20, no. 4, pp. 941–947, 2006.
- Ordeix L., L. Solano-Gallego, D. Fondevila, L. Ferrer, and A. Fondati, “Papular dermatitis due to Leishmania spp. infection in dogs with parasite-specific cellular immune responses,” *Veterinary Dermatology*, vol. 16, no. 3, pp. 187– 191, 2005.
- Otranto, D. et al. (2010) Prevention of endemic canine vector-borne diseases using imidacloprid 10% and permethrin 50% in young dogs: a longitudinal field study. *Vet. Parasitol.* 172, 323–332
- Ozon C., Marty P., Pratlong F., Breton C., Blein M., Lelievre A., Haas P, (1998) disseminated feline leishmaniasis due to leishmania infantum in southern France, *Vet. Parasitol.*, 1998, 75, (2-3), 273-277.
- Palatnik-de-Sousa,C.B.,Santos,W.R.,França-Silva,J.C.,daCosta,R.T., Reis,A.B.,Palatnik,M.,Mayrink, W.,andGenaro,O.(2001).Impact of canine control onthe epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. *Am.J.Trop.Med. Hyg.* 65, 510–517.
- Papierok G. M. (2002). Diagnostic biologique de la leishmaniose canine et perspectives. *Nouv. Prat. vét.*, 7, 65-68.
- Pinelli E, Killick-Kendrick R, Wagebaa J, Bernadina W, Del Real G, Ruitenberg J (1994) Cellular and humoral imune responses in dogs experimentally and naturally infected with Leishmania infantum *Infection and Immunity*, 62, 229-235.
- Plevraki K., A. F. Koutinas, H. Kaldrymidou et al., “Effects of allopurinol treatment on the progression of chronic nephritis in canine leishmaniosis (Leishmania infantum),” *Journal of Veterinary Internal Medicine*, vol. 20, no. 2, pp. 228–233, 2006.
- Pratlong, F., Rioux, J.A., Marty, P., Faraut-Gambarelli, F., Dereure, J., Lanotte, G., Dedet, J.P., 2004. Isoenzymatic analysis of 712 strains of Leishmania infantum in the south of France and relationship of
- Rallis T., M. J. Day, M. N. Saridomichelakis et al., “Chronic hepatitis associated with canine leishmaniosis (Leishmania infantum): a clinicopathological study of 26 cases,” *Journal of Comparative Pathology*, vol. 132, no. 2-3, pp. 145–152, 2005.
- Reithinger, R., Coleman,P.G., Alexander,B., Vieira,E.P., Assis,G., and Davies,C.R.(2004).Are insecticide- impregnated dog collar safe asible alternative to dog

culling as a strategy for controlling canine visceral leishmaniasis in Brazil ? *Int.J.Parasitol.* 34, 55–62.

- Rioux J.A., Golvan Y.J., Croset H., Houin R., Juminer B., Bain O., Tour S. 1967. Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. I. les Phlébotomes. Echantillonnage. Ethologie. *Annales de Parasitologie Humaine Comparée* 42 : 561-603.
- Rioux J.A., R. Killick-Kendrick, A. J. Leaney, D. P. Turner, M. Bailly, and C. J. Young, "Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 11. La leishmaniose viscérale canine: succès de la transmission expérimentale chien-phlébotome-chien par la pique de *Phlébotomus ariasi* Tonnoir 1921," *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, vol. 54, pp. 401–407, 1979.
- Rioux J.A., 2007, Le paradigme « éco pathologie » son application à l'épidémie des leishmanioses, académie des sciences et lettres de Montpellier, conf.n°3933, *Bull.*37, pp21-29
- Rioux J.-A., Lanotte G., Serres E., Pratlong F., Bastien P. & Périères J., 1990 : Taxonomy of *Leishmania*. Use of isoenzymes. Suggestions for a new classification. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 65: 11-125.
- Rioux J.A., Rispail P., Lanotte G. & Lepart J., 1984 : Relations phlébotomes- bioclimat en écologie des leishmanioses. Corollaires épidémiologiques. L'exemple de Maroc. *Bull. Soc.Bot. Fr.*, 131 Actual. Bot, (2/3/4), 549-557.
- Rioux J.-A., Coluzzi M., Bain O., Baubouy J.-P., 1964 – Présence de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 en Italie du Nord. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 57, 966-971.
- Rioux, J.A., Golvan, Y.J Epidemiologie des leishmanioses dans le sud de la France INSERM, Paris, 1969, 223p
- Rioux, J.A., J.P. Aboulker, G. Lanotte, R. Killick-Kendrick, and Martni-Dumas. 1985. Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 21. Influence de la température sur le développement de *Leishmania infantum* Nicolle, 1908 chez dans *Phlebotomus ariasi*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 60: 221–229.
- RODHAIN F., PEREZ C. (1985). Chapitre 5: Les phlébotomes: systématique, biologie, importance médicale. In: *Précis d'entomologie médicale et vétérinaire*, Maloine, Paris, 157-175.
- Romero,G.A.,andBoelaert,M.(2010). Control of visceral leishmaniasis in Latin America- a systematic review. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 4, e584. doi:10.1371/journal.pntd.0000584
- Rutledge, L.C., Gupta, R.K. Moth flies and sand flies (Psychodidae) In: *Medical and veterinary entomology – Second Edition*, MULLEN, G.R., DURDEN, L.A., Elsevier, Amsterdam, 2009, 153-168
- Santos D.O., Coutinho C.E.R., Madeira M.F., Bottino C.G., Vieira R.T., Nascimento S.B., Bernardino A., Bourguignon S.C., Corte-Real S., Pinho T., Rodrigues C.R. et Castro H.C., 2008- Leishmaniasis. Treatment-a challenge that remains: a review. *Parasitol.Res.*; 103: pp 1-10.
- Saridomichelakis Mn, Mylonakis Me, Leontides Ls, Koutinas Af, Billinis C, Kontos Vi, 2005. Evaluation of lymph node and bone marrow cytology
- SCALIBOR, 2008. [en ligne] accès internet : <http://www.scalibor.fr/publicleishmaniose/phlebotome>.
- Schlein., Warburg A., Schnur L-F., Gunders A-E., 1982 – Leishmaniasis in the Jordan Valley. II. Sandflies and transmission in the central endemic area. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 76, 582-586.
- Secombe AK, Ready PD, Huddleston LM (1993). A catalogue of Old World phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Occ Pap Syst Ent* 8: 1–57.

- Semiao-Santos S. J., A. El Harith, E. Ferreira, C. A. Pires, C. Sousa, and R. Gusmao, "Evora district as a new focus for canine leishmaniasis in Portugal," *Parasitology Research*, vol. 81, no. 3, pp. 235–239, 1995.
- Senghor M, Niang A, Depaquit J, Faye M, Ferté H, Faye B, Gaye O, Elguero E, Alten B, Perktas U, Diarra K, Bañuls AL 2011. Canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* transmitted by *Sergentomyia* species (Diptera: Psychodidae) in Senegal: ecological, parasitological and molecular evidences. Available from: isops7.org/ISOPS7_Abstract_book.pdf.
- Sergeant E, Gueidon E. Chronique du bouton d'Orient en Algérie « Le clou de Mila ». *Arch Institut Pasteur Algerie* 1923;1:1. 3.
- Slappendel. R. J, "Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in The Netherlands," *Veterinary Quarterly*, vol. 10, no. 1, pp. 1–16, 1988.
- Sobrino, R., Ferroglio, E., Oleaga, A., Romano, A., Millan, J., Revilla, M., Arnal, M.C.M.C., Trisciuglio, A., Gortázar, C., 2008. Characterization of widespread canine leishmaniasis among wild carnivores from Spain. *Vet. Parasitol.* 155, 198–203.
- Solano-Gallego L, Lull J, Ramos G, Riera C, Arboix M, Alberola J, Ferrer L (2000) The Ibizaian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Vet. Parasitology*, 90, 37-45
- Solano-Gallego L., A. Koutinas, G. Mir 'o et al., "Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis," *Veterinary Parasitology*, vol. 165, no. 1-2, pp. 1–18, 2009.
- Svobodova M., Sadlova J., Chang KP. et Volf P., 2003. Distribution and feeding preference of the sandflies *P. sergenti* and *P. papatasi* in a cutaneous leishmaniasis focus in Sanliurfa, Turkey. *Am. Trop. Med. Hyg.*, 68 (1) : 6-9.
- Swenson C. L., J. Silverman, P. C. Stromberg et al., "Visceral leishmaniasis in an English Foxhound from an Ohio research colony," *Journal of the American Veterinary Medical Association*, vol. 193, no. 9, pp. 1089–1092, 1988.
- Tesh RB. et Guzman H., 1996. Sandflies and the agents they transmit. In: Beaty B.J. Marquardt W.C., *The biology of disease vectors*. Ed. Colorado. 632 p.
- Thomas, C., Roques, M., and Franc, M. (2008). The effectiveness of a pyriproxyron (125mg/ml) and ametaflumizone (150mg/ml) combined with amitraz (150mg/ml) spot-on treatment in preventing *Phlebotomus perniciosus* from feeding on dogs. *Parasite* 15, 93–96.
- Vamvakidis C. D., Koutinas A. F., Kanakoudis G., Georgiadis G., and Saridomichelakis M., "Masticatory and skeletal muscle myositis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*)," *The Veterinary Record*, vol. 146, no. 24, pp. 698–703, 2000.
- Vattier-Bernard G., 1970. Contribution à l'étude systématique et biologique des phlébotomes cavernicoles en Afrique intertropicales. *Cahier O.R.S.T.O.M. Sér. Entomol. Méd. et Parasitol.*, VIII (2) 175-230.
- Wang, J.Y., Gao, C.H., Yang, Y.T., Chen, H.T., Zhu, X.H., Lv, S., Chen, S.B., Tong, S.X., Steinmann, P., Ziegelbauer, K., and Zhou, X. N. (2010). An outbreak of the desert subtype of zoonotic visceral leishmaniasis in Jiashi, Xinjiang Uygur Autonomous Region, People's Republic of China. *Parasitol. Int.* 59, 331–337.
- WHO. The World Health Report, Geneva. 2011. p. 192–7.