

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique

Faculté des sciences Biologiques et des sciences Agronomiques



Département de biologie

Spécialité : Biologie des populations et des organismes



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Thème

Situation épidémiologique de la leishmaniose humaine et canine dans la région de Tizi-Ouzou

Présenté par :

M^{lle} Bensalem Katia

M^{lle} Nait Ali Nabila

Soutenu publiquement le : 16 /07 / 2023.

Devant le jury composé de :

Présidente : M ^{me} Talmat-Chaouchi N.	MCA	UMMTO
Promotrice : M ^{me} Eddaikra N.	MCA	IPA
Co-promotrice : M ^{me} Brahmi K.	Professeur	UMMTO
Examinatrice : M ^{me} Lekmache-Arabdiou Y.	MAA	UMMTO

Année Universitaire : 2022/2023.

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tous puissant de nous avoir donné la force, le courage, la santé et la patience pour pouvoir accomplir ce travail.

Nos sincères remerciements à notre promotrice **Eddaikra N.** maitre de recherche et chef de laboratoire parasitaire et génétique des populations de l'Institut Pasteur d'Alger pour sa grande compétence, sa disponibilité et ses conseils au cours de réalisation de ce travail.

Nous tenons ensuite à remercier notre Co- promotrice Mme **Brahmi K.** professeur à l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour son encadrement, sa patience, ses orientations et ses conseils qui nous ont éclairé le chemin tout au long de notre recherche.

Nous remercions également Mme **Talimat-Chaouchi N.** maitre de conférence (A) à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour l'intérêt qu'elle a porté à notre recherche et pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous exprimons nos plus sincères remerciements et toute notre estime envers Mme **Lekmach-Arabidiou Y.** maitre assistante classe (A) à l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour avoir accepté d'évaluer cette étude.

Nous exprimons notre profonde gratitude envers Mme **Benikhlef R.** et Mme **Mezai GH.**, responsables de recherches au sein du laboratoire d'éco- épidémiologie à l'Institut Pasteur d'Algérie, pour leur bienveillance et leur assistance tout au long de notre stage, assurant ainsi son bon déroulement. Nous tenons également à remercier tous les membres de service.

Afin de n'oublier personne, nous voudrions exprimer nos sincères remerciements à toutes les personnes qui nous ont apporté leurs aides et leur soutien de près ou de loin à mener à bien ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste mémoire;

A mes très chers parents, Arezki et Djidji les plus grandes sources de mon bonheur

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce modeste travail est le fruit de toutes les sacrifices que vous avez déployé pour mon éducation et ma formation qu'Allah le tout puissant vous préserve et vous procure santé et bonheur.

A ma très chère grande sœur Celia, qui n'as pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout en long de mes études. Que dieu la protège et lui offre la chance et le bonheur.

A mon cher frère Juba, j'aurais souhaité que tu sois parmi nous en ce jour, mais le destin en a décidé autrement, les retrouvailles seront encore plus merveilleuses.

A ma toute grande famille, oncles, tantes, cousins et cousines et leurs familles

A toutes mes cousines : Ryma, Radia, Tafsout, Feriel et Anais

A ma meilleure amie Sirine, qu'importe ce que je fais, ce que je traverse, tu es toujours à mes côtés. Ton amitié est une véritable chance, que dieu te protège et t'offre tous le bonheur.

A mon binôme Nabila, pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet, je te souhaite de la réussite et du bonheur dans ta vie, que notre amitié dure.

A toutes les copines avec lesquelles j'ai partagé que de bons souvenirs durant la réalisation de ce projet : Lisa, Hassiba et Lamia, je vous souhaite beaucoup de succès dans le futur.

A toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Katia

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail

Pour les deux personnes les plus importantes dans ma vie, ceux qui m'ont appris à vivre, **mes très chers parents**, source de vie, d'amour et d'affection, qui ont été toujours là à m'encourager pour aller de l'avant.

A mes frères et mes sœurs

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite, et aussi je les remercie surtout pour avoir supporté mes changements d'humeur.

A ma chère adorable amie avant d'être binôme

Je te dédie ce travail à toi qui as toujours été à mes côtés, à me soutenir en toutes épreuves. Tu as toujours été présente pour me motiver et stimuler mon ardeur. Je te remercie surtout pour ta compréhension.

A mes amies

Yasmine, Nida, Nora, Tafsut, Soumia, Nour El Houda, Lisa et Hassiba, pour votre amour et pour Votre présence pour vos bons conseils, votre soutien moral et vos belles paroles réconfortantes qui tombaient à point, aux moments opportuns.

NABILA

Abréviations

AC : Anticorps

AG : Antigène

ADN : Acide Désoxyribonucléique

BET : Bromure d’Ethidium

CHU : Centre hospitalo-universitaire

DSP : Direction de la santé et de populations

J7 : jour 7

IFI : Immunofluorescence indirecte

IPA : Institut Pasteur d’Alger

ITS1 : Internal transcribed spacer 1

LC : Leishmaniose cutanée

LCS : Leishmaniose cutané sporadique

LCZ : Leishmaniose cutané zoonotique

LV : Leishmaniose viscérale

MGG : May- Grünewald-Giemsa

Min : Minute

ml : Millilitre

NNN : Novy-Mac Neal-Nicolle

OMS : Organisation mondiale de la santé

PBS : phosphate buffer solution

PCR : polymérase chaîne réaction

PH : potentiel hydrogène

PM : Poids moléculaire

SDS : dodecylsulfate de sodium ou laurylsulfate de sodium

SLC : Sérum du lapin coagulé

TAE : Tris Acétate EDTA

TBE : Tris Acide Borique EDTA

URSS : Union des républiques socialistes soviétiques

UV : Ultra-violet

V : Voltes

Figure 1 - Morphologie générale d'un phlébotome adulte (Bounamous, 2010).	04
Figure 2 - Cycle de vie d'un phlébotome (Cherif, 2014)	05
Figure 3 - Répartition des principaux genres de phlébotomes dans le monde (Léger & Depaquit, 2002).	06
Figure 4 - Distribution des principaux genres de phlébotomes en Algérie (Kabbout, 2017)	07
Figure 5 – Les deux principaux stades morphologiques de Leishmania (Bennai, 2018).	09
Figure 6 - Cycle de transmission du parasite Leishmania (Zeroual, 2022).	10
Figure 7 - Les différentes formes cliniques de la leishmaniose humaine (Aronson & Magill, 2020) (A) forme viscérale, (B) forme cutanée, (C) forme cutané-muqueuse	12
Figure 8 - Les signes cliniques de la leishmaniose canine (Gilles et <i>al.</i> , 2015).	13
Figure 9 - Distribution des différentes leishmanioses dans le monde (Guillaume, 2010)	13
Figure 10 - Distribution de la leishmaniose en Algérie (Eddaikkra, 2016)	14
Figure 11- Le principal réservoir de la leishmaniose, le chien (Originale, 2023).	15
Figure 12 - Carte administrative de la Wilaya de Tizi-Ouzou modifiée représentant les différents sites d'échantillonnage (Meddour-Sahar et <i>al.</i> , 2010)	17
Figure 13 - Étable d'élevage des ovins (Originale, 2023).	19
Figure 14 - Les pièges adhésifs. A : les feuilles trempées d'huile de ricin. B : pose de piège au niveau d'une étable d'élevage. C : récupération des pièges dans des chemises en plastiques (Originale, 2023).	19
Figure 15 - Prise du sang veineux au niveau d'une veine saphène pour un chien (Originale, 2023).	20
Figure 16 - Grattage cutané d'une lésion d'un chien (Originale, 2023).	21
Figure 17 - Réalisation d'une ponction ganglionnaire (Originale, 2023)	21
Figure 18 - Tri des phlébotomes capturés par des pièges adhésifs. 1 : Des phlébotomes observés sous un microscope ; 2 : Stockage des spécimens dans des microtubes contenant de l'alcool à 70° (Originale, 2023).	22
Figure 19 - Traitement des échantillons de sang à différentes étapes (Originale, 2023)	23
Figure 20 - les différentes étapes de la coloration au MGG (Originale, 2023).	23
Figure 21 - Ensemencement de la couche leucocytaire sur milieu NNN et SLC devant un bec bunsen (Originale, 2023).	24
Figure 22 - Protocole suivi pour la technique d'immunofluorescence indirecte (Originale, 2023).	26
Figure 23 - Protocole d'extraction d'ADN par la méthode phénol chloroforme (Originale, 2023).	28

Figure 24 - Kit d'extraction d'ADN, type Omega (Originale, 2023).....	30
Figure 25 - préparation du mix sous une hotte bio-cap (originale, 2023).....	31
Figure 26 - Thermocycleur IPA (Originale, 2023)	32
Figure 27 - Protocole d'électrophorèse sur gel d'agarose (Originale, 2023)	33
Figure 28 - Protocole de la PCR à temps réel (originale, 2023)	34
Figure 29 - Évolution temporelle de LC et LV au fil du temps (2013-2023)	35
Figure 30 - Évolution des cas de LC et LV par tranches d'âge.	36
Figure 31 - Évolution temporelle de cas de LC et LV selon le sexe.....	37
Figure 32 - Répartition des cas de LC et LV en fonction des communes.....	38
Figure 33 - Cultures en milieu NNN contaminé par des moisissures (Originale, 2023)	39
Figure 34 - Les formes promastigotes observé sous un microscope (Originale, 2023).....	41
Figure 35 - Une forme amastigote observé sous une loupe binoculaire après coloration au MGG (Originale, 2023).....	41
Figure 36 - Taux des résultats obtenus par la technique d'immunofluorescence indirecte	42
Figure 37 - Formes promastigotes observés sous microscope à UV après examen de sérologie (champ positif) (Originale, 2023).....	43
Figure 38 - Formes promastigotes observés sous microscope à UV après examen de sérologie (champ négatif) (Originale, 2023)	43
Figure 39 - Nombres de sérums humains positifs, négatifs ou douteux par IFI	44
Figure 40 - Résultat d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose (Originale, 2023)	46
Figure 41 - Résultat de la PCR en temps réel (Originale, 2023).....	46
Figure 42 - Signes clinique du chien LC 18(Originale, 2023)	47
Figure 43 - Signes cliniques du chien LC45 (Originale, 2023)	47
Figure 44- Signes clinique de chien LC47 (Originale, 2023).....	47
Figure 45 - Signes cliniques de chien LC57 (Originale, 2023).....	48

Liste des tableaux

Tableau 1 - Localités d'échantillonnage avec le nombre de chiens et humains prélevés	18
Tableau 2 - Protocole de la préparation du Mix pour la PCR-ITS1.....	31
Tableau 3 - Protocole de la préparation du Mix.....	34
Tableau 4 - Répartition des cas de LC et LV du 2013 au 2023	35
Tableau 5 - Répartition de cas de LC et LV en fonction d'âge.....	36
Tableau 6 - Répartition des cas de LC et LV selon le sexe.....	36
Tableau 7 - Répartition des cas de LV et LC en fonction des communes	37
Tableau 8 - Résultats des captures par pièges adhésifs sur une période de 4 mois au niveau des sites d'études.	38
Tableau 9 - Résultats d'hémoculture après 4 semaines de contrôle.....	39
Tableau 10 - Résultats de culture sur milieu SLC après 3 contrôles.....	40
Tableau 11 - Résultat d'ensemencement des ponctions ganglionnaire sur les milieux de culture NNN et SLC	40
Tableau 12 - Résultat d'immunofluorescence indirecte sur les chiens	42
Tableau 13 - Résultat d'immunofluorescence indirecte sur les humains.	43
Tableau 14 - Résultats de la PCR selon la race, l'âge, le sexe et la région des chiens	44
Tableau 15 - Résultats de la PCR standard des ADN des humains	45

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 01

Chapitre I : Données bibliographiques

I.1. - Généralités sur les phlébotomes	03
I.1.1. - Taxonomie	03
I.1.2. - Morphologie	03
I.1.3. - Cycle de développement.....	04
I.1.4. - Distribution géographique	05
I.1.4.1. - Dans le monde	05
I.1.4.2. - En Algérie.....	06
I.1.5. - Les phlébotomes et la transmission des maladies.....	07
I.2. - Généralités sur la leishmaniose	08
I.2.1. - Définition.....	08
I.2.2. - Épidémiologie de la leishmaniose	08
I.2.2.1. - Le parasite Leishmania	08
I.2.2.1.1. - Taxonomie	08
I.2.2.1.2 - Cycle de vie et morphologie	09
I.2.2.2. - Cycle de transmission de la leishmaniose	09
I.2.2.3. - Les formes cliniques de la leishmaniose	11
I.2.2.3.1. - La leishmaniose viscérale(LV)	11
I.2.2.3.2. - La leishmaniose cutanée (LC)	11
I.2.2.3.3. - La leishmaniose cutané-muqueuse(LCM).....	12
I.2.2.4. - La leishmaniose canine.....	12
I.2.2.5. - La répartition géographique de la leishmaniose	13
I.2.2.5.1. - Dans le monde	13
I.2.2.5.2. - En Algérie.....	14
I.2.2.5.3. - En Kabylie	14

I.2.2.6. - Les réservoirs.....	15
I.2.2.7. - Moyens de lutte	15
I.2.2.7.1. - Lutte contre le vecteur	15
I.2.2.7.2. - Lutte contre le réservoir.....	16
I.2.2.7.3. - Lutte contre la leishmaniose	16

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. - Présentation de la région d'étude	17
II.2. - Description et choix des stations	17
II.3. - Méthodes utilisés sur le terrain.....	18
II.3.1. - Méthode d'échantillonnage des phlébotomes	18
II.3.1.1. - Pièges adhésifs	19
II.3.2.- Méthodes de prélèvement du sang	20
II.3.2.1. - Méthodes de prélèvement du sang chez les Chiens	20
II.3.2.2. - Méthodes de prélèvement du sang chez les Humains	20
II.3.3. - Méthode du grattage cutanée.....	21
II.3.4. - Réalisation d'une ponction ganglionnaire.....	21
II.4. - Méthodes utilisées au laboratoire	22
II.4.1. - Tri des phlébotomes	22
II.4.2. - Traitement des prélèvements sanguins.....	22
II.4.3. - Examen direct.....	23
II.4.4. - Hémoculture	24
II.4.5. - Technique d'immunofluorescence indirect IFI	24
II.4.5.1. - Mode opératoire d'IFI	25
II.4.6. - Extraction d'ADN	27
II.4.6.1. - Extraction d'ADN par la méthode de phénol chloroforme	27
II.4.6.1.1. - La lyse cellulaire	27
II.4.6.1.2. - La déprotéinisation.....	27
II.4.6.1.3. - La précipitation	27
II.4.6.2. - Extraction d'ADN à l'aide du kit Omega	29
II.4.6.2.1. - La lyse	29
II.4.6.2.2. - La précipitation	29
II.4.6.2.3. - Lavage	29
II.4.6.2.4. - Élution	29

II.4.7. - PCR (Polymerase chain reaction).....	30
II.4.7.1. - La PCR classique	30
II.4.7.1.1. - Préparation du Mix	30
II.4.7.1.2. - Programmation du thermocycleur	31
II.4.7.1.3. - Révélation des produits PCR par électrophorèse sur gel d'agarose	32
II.4.7.1.3.1. - Préparation du gel.....	32
II.4.7.2. - La PCR en temps réel.....	34
II.4.7.2.1. - Préparation du mix	34
II.4.7.2.2. - Vortexage	34
II.4.7.2.3. - Lecture des résultats	34

Chapitre III : Résultats

III.1. - Évolution temporelle des cas de LC et LV enregistrées entre 2013 et 2023 dans la région de Tizi-Ouzou selon la DSP	35
III.1.1 - Évolution temporelle des cas de LC et LV au fil du temps	35
III.1.2. - Évolution temporelle des cas de LC et LV selon les tranches d'âge	36
III.1.3. - Évolution temporelle de cas de LC et LV selon le sexe	36
III.1.4. - Évolution temporelle des cas de LC et LV en fonction des communes	37
III.2. - Résultats de capture des phlébotomes	38
III.3. - Les résultats des prélèvements effectués sur le terrain	39
III.3.1. - Résultats d'hémoculture.....	39
III.3.1.1. - Sur milieu NNN	39
III.3.1.2. - Sur milieu SLC	40
III.3.2. - Résultats des ponctions ganglionnaires	40
III.3.3. - Résultat d'examen direct.....	41
III.3.4. - Résultats d'immunofluorescence indirecte (IFI)	42
III.3.4.1. - Sérums des chiens.....	42
III.3.4.2. - Sérums des humains.....	43
III.3.5. - Résultat de la PCR classique et la Rt-PCR	44
III.3.5.1. - Résultat de la PCR sur l'ADN des chiens.....	44
III.3.5.2. - Résultat de la PCR sur l'ADN des humains	48

Chapitre IV : Discussion

IV.1. - Discussion des résultats des fluctuations temporelles des LC et LV.....	49
IV.1.1. - Évolution des cas des deux types de leishmaniose humaine (LC et LV) dans la	

région de Tizi-Ouzou	49
IV.1.2. - Évolution des cas de LC et LV en fonction de l'âge	49
IV.1.3. - Évolution des cas de LC et LV en fonction du sexe.....	50
IV.1.4.- Répartition des cas de LC et LV par communes	50
IV.2. - Discussion des résultats d'ensemencement sur milieux NNN et SLC	51
IV.3. - Discussion des résultats des frottis dermiques.....	51
IV.4. - Discussion des résultats de l'immunofluorescence indirecte	52
IV.5. - Discussion des résultats de la Rt PCR et la PCR classique	53
Conclusion Générale	54
Références bibliographiques	56
Résumé	



Les leishmanioses sont des maladies parasitaires dues à la présence d'un protozoaire flagellé appartenant au genre *Leishmania*. Parasites principalement zoonotiques, les *Leishmania* affectent de très nombreuses espèces de mammifères dont l'homme et sont transmises dans la nature par la piquûre d'un insecte vecteur, le phlébotome femelle (**Basset et al., 2001**). Elles sont caractérisées par leur extrême diversité. On peut schématiquement distinguer trois grandes variétés : les leishmanioses viscérales, les leishmanioses cutanées et les leishmanioses cutanées muqueuses. Elles sont présentes à l'état endémique sur pratiquement tout le parcours méditerranéen (**Khiati, 1992**).

L'importance des leishmanioses dans le monde est illustrée par le nombre annuel de nouveaux cas qui se chiffre entre 1,5 à 2 millions de cas (**Harrat & Belkaid, 2003**). Les leishmanioses se révèlent aujourd'hui beaucoup plus répandues qu'on ne le croyait. L'Algérie compte parmi les pays les plus touchés dans le monde. Deux formes cliniques (viscérale et cutanée) sévissent à l'état endémique. L'augmentation de leur incidence annuelle ainsi que leur extension à travers le territoire national, avec une coexistence des deux formes au niveau d'un même foyer, font des leishmanioses un problème de santé publique (**Bachi, 2006**).

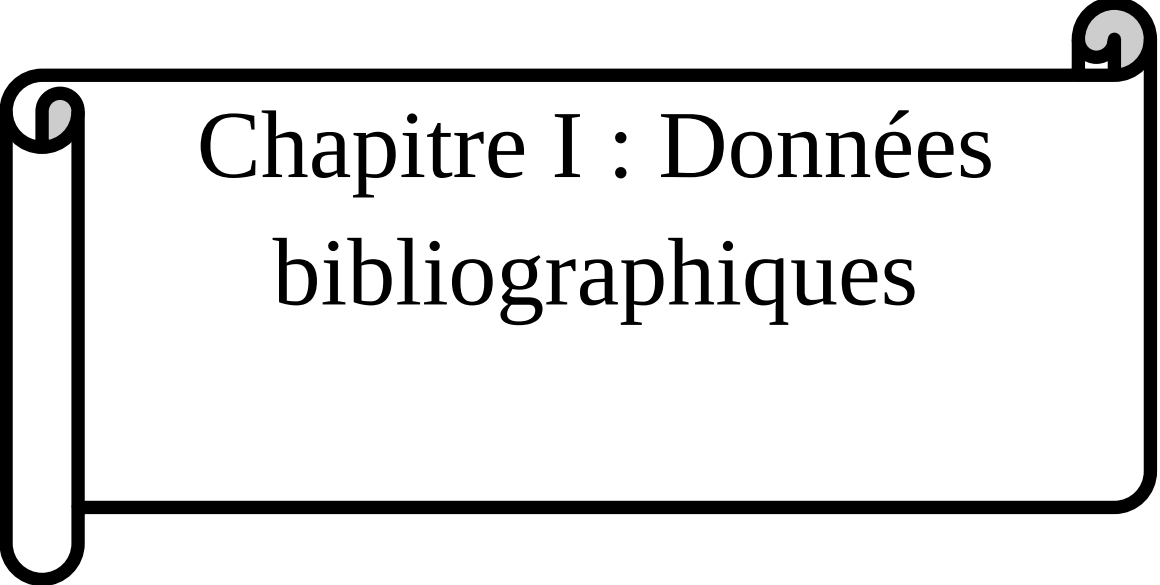
La région de Tizi-Ouzou, située en Kabylie, dans la partie nord de l'Algérie est connue depuis longtemps comme étant le foyer le plus actif de la leishmaniose viscérale dans ce pays. Cette région présente une grande variété de paysages, offrant des biotopes très diversifiés pour la faune phlébotomienne. C'est aussi un foyer de leishmaniose canine (**Mouloua et al., 2017**).

La leishmaniose canine est de loin plus importante que la leishmaniose viscérale humaine. Elle est de plus en plus fréquente à Alger, ce qui explique la survenue de cas de leishmaniose viscérale chez les enfants n'ayant jamais quitté la capitale (**Harrat et al., 1995**). Le chien est le principal réservoir de la leishmaniose viscérale méditerranéenne à *Leishmania infantum* (**Djerbouh et al., 2005**). Au cours des dix dernières années, de nombreuses recherches ont été menées sur la leishmaniose canine en Kabylie, notamment les études réalisées par **Mihoubi et al., en (2012)**, **Mouloua en (2014)**, **Sahraoui et Abed en (2017)** et **Mouloua et al., (2020)**. Les travaux de ces auteurs se sont concentrés principalement sur les prélèvements sanguins. C'est dans ce contexte que nous avons enrichi notre travail en incluant d'autres examens tels que l'examen direct et le prélèvement ganglionnaire.

En vue d'évaluer la situation épidémiologique et les cas de la leishmaniose cutanée, viscérale et canine présents dans la région de Tizi-Ouzou, qui est l'une des régions les plus

touchées par cette zoonose, nous allons d'abord réaliser une enquête sur les cas de LC et LV répertoriés au niveau de la direction de la santé publique (DSP) de Tizi-Ouzou. Ensuite, nous mènerons une étude prospective en effectuant un échantillonnage des chiens et des humains dans les localités suivantes : Draa El Mizan, Ain El Hammam, Tizi Rached, Meklaa et Timizart Loghbar.

Nous proposons, à travers ce travail de synthétiser en premier chapitre une étude bibliographique sur les leishmanioses. Le deuxième chapitre, quant à lui est dédié à la présentation de la région d'étude, ainsi que les différents matériels et méthodes utilisés pour articuler ce travail. La troisième partie portera sur les résultats obtenus, et le quatrième portera leur discussion. Ces différents chapitres sont précédés d'une introduction générale et suivis d'une conclusion.



Chapitre I : Données bibliographiques

Ce chapitre présente des informations générales sur les phlébotomes en incluant la taxonomie, la morphologie, le cycle de développement et la distribution géographique. Ensuite des généralités sur la leishmaniose et ces différents types, en étudiant le parasite, le cycle de transmission de la maladie et sa répartition géographique, ainsi que le réservoir. Il aborde également les méthodes de lutte.

I.1. - Généralités sur les phlébotomes

Il y a environ 230 années, le premier phlébotome était décrit d'Italie et aujourd'hui on compte plus de 1000 espèces et sous-espèces. L'intérêt qu'ils suscitent tient à leur implication ; d'abord suspectée puis prouvée à de nombreuses reprises dans la transmission de maladies humaines et vétérinaires, au premier rang desquelles se trouvent les leishmanioses (**Gérard et al., 2017**). Cependant, la leishmaniose reste la principale affection que les phlébotomes transmettent à travers le monde (**Ramdane et al., 2018**)

I.1.1. – Taxonomie

Les phlébotomes sont des petits diptères hématophages, constituant au sein de la famille des psycodidae, la sous-famille phlebotominae (**Leger & Depaquit, 2001**), qui regroupe environ 800 espèces largement réparties dans les régions tropicales et tempérées, deux genres : *Phlebotomus* dans l'ancien monde et *Lutzomyia* dans le nouveau monde qui présente un intérêt médicale (**Izri et al., 2006**). Seuls ces deux derniers se trouvent impliqués dans l'épidémiologie des leishmanioses (**Leger & Depaquit, 1999**). Seuls 10% d'entre elles sont vectrices de maladies (**Melano, 2016**). En Algérie, *Phlebotomus perniciosus* est le principal vecteur de la leishmaniose viscérale et *Phlebotomus pappatasi* pour la leishmaniose cutanée (deux espèces anthropophiles) (**Belkaid et al., 1992**).

I.1.2. - Morphologie

Les phlébotomes sont de petits moucheron nocturnes (**Chavy et al., 2019**), de taille de 2 à 3 mm de long, confondus avec de petits moustiques. Ils sont de couleur clair, jaune pâle, à brune, à peine visible à l'œil nu (**Izri et al., 2006**). Ils possèdent un aspect bossu, de longues pattes, une pilosité développée, ses ailes lancéolées sont dressées en V en repos (**Leger & Depaquit, 2001**), ainsi qu'un corps grêle et allongé, recouvert (**Bouchery, 2007**). Comme d'autres insectes le corps d'un phlébotome adulte est composé de trois principaux compartiments : tête, thorax et abdomen (Fig.1).

Les caractères d'identification d'espèces les plus utilisées sont les antennes, le pharynx et le ciborium au niveau de la tête, les ailes et l'implantation de soies au niveau du thorax, l'implantation des soies dorsales au niveau abdominal et les génitalia qui permettent aujourd'hui l'identification rapide et précise de nombreuses espèces (**Izri et al., 2006**).

Chez le mâle, l'armature génitale très développée se compose de trois paires de prolongements : une paire de coxites sur lesquels s'articulent les styles, une paire de pièces médianes, les paramères naissant à la base des coxites, une paire de prolongements ventraux appelés lobes latéraux et enfin, soudés à la partie interne de ces derniers, deux lames membraneuses, les lamelles sous-médianes entre lesquelles s'ouvre l'anus. Chez la femelle, l'appareil génital interne se constitue de trois organes pairs : deux ovaires, deux glandes annexes et deux spermathèques (**Mouloua, 2014**).

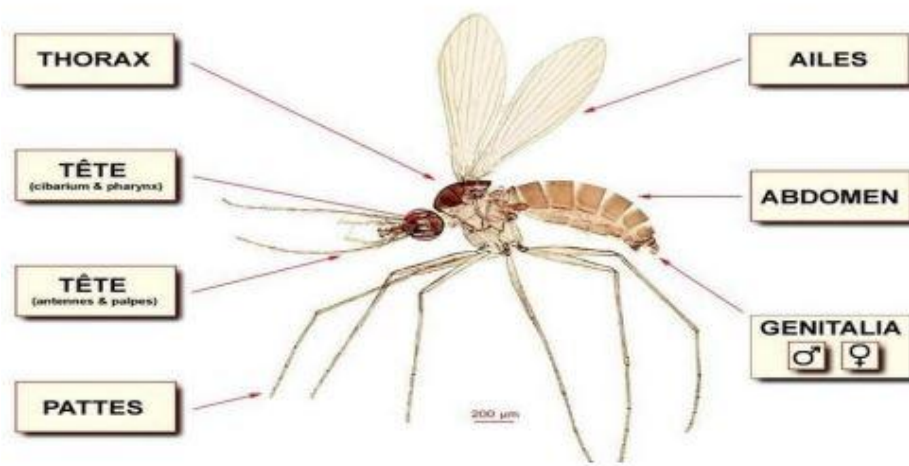


Figure 1 – Morphologie générale d'un phlébotome adulte (Bounamous, 2010).

I.1.3. - Cycle de développement

La plupart des insectes de phlébotomes ont un cycle gonotrophique, c'est-à-dire que leur cycle se déroule depuis le moment d'un repas sanguin jusqu'à l'oviposition.

Ce sont des insectes à présentant un cycle de vie holométabole (**Randrianambinintsoa, 2013**), dont le développement pré-imaginal (œuf, quatre stades larvaires, et nymphe) se déroule dans la terre humide (Fig.2). Après l'accouplement, la femelle effectue un repas sanguin afin d'amener ses œufs à maturité (**El Alami, 2009**). Les œufs sont pondus un à un par les femelle dans des substrats de toutes sortes mais surtout dans des endroits humides qui constituent les gîtes des larves. L'incubation de ces œufs varie avec la température : elle est de l'ordre de quatre à dix-sept jours (**Jebbouri, 2013**). La larve est terricole, sédentaire, saprophage et phytophage. Les gîtes larvaires varient selon les espèces. Les quatre stades

larvaires sont entrecoupés par des mues (**Boudrissa, 2014**), et la durée de ces dernières successifs varie selon les conditions climatiques, elles se nourrissent de débris organiques surtout végétaux (**Jebbouri, 2013**). La nymphe ne nourrit pas et la durée du seul stade nymphal serait de six à quinze jours selon la température et l'humidité du lieu de ponte de phlébotome (**Sibiry, 2006**). Elle est plus grande que la larve et adaptée à un milieu aérien sec. La nymphe entre alors en état de vie ralentie pour subir enfin, la mue imaginale conduisant à l'adulte (**Bounamous, 2010**). Le développement de l'œuf à adulte dure de 35 à 60 jours en absence de phénomène de la diapause qui peuvent intervenir lorsque les conditions sont défavorables (période hivernale pour les phlébotomes des régions tempérées). La durée de la vie des adultes est en fonction de la température (plus celle-ci est basse, plus la durée de la vie est longue) et l'humidité (plus l'hygrométrie est élevée, plus la durée de vie est élevée (**Leger & Depaquit, 2001**)).

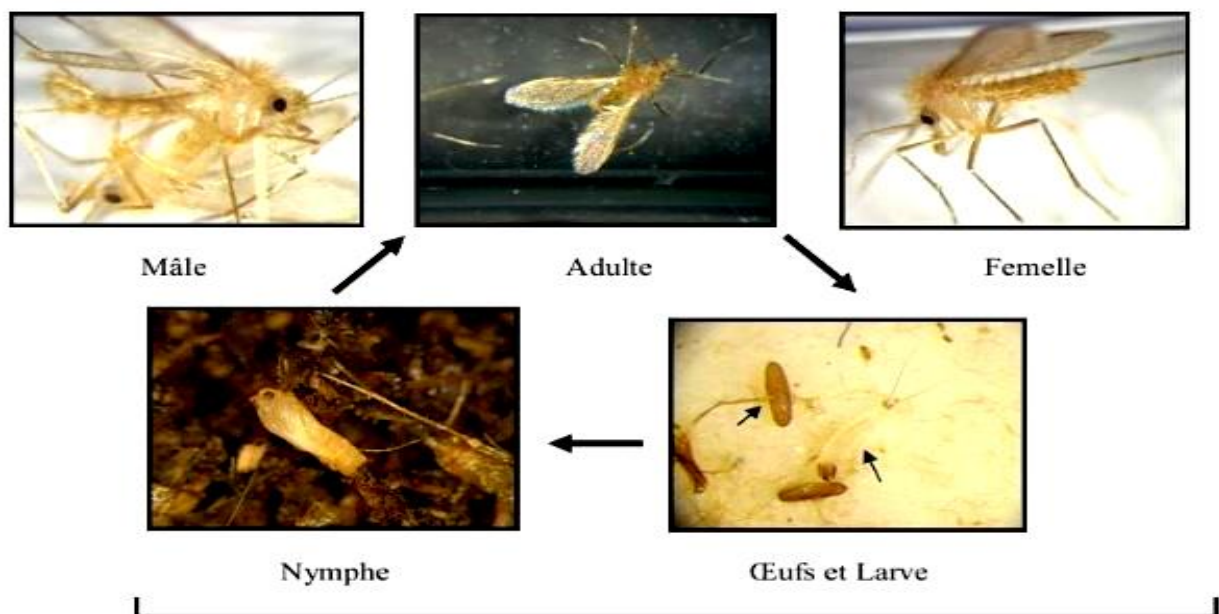


Figure 2 – Cycle de vie d'un phlébotome (Cherif, 2014).

I.1.4. - Distribution géographique

I.1.4.1. - Dans le monde

L'aire de répartition des phlébotomes dans le monde est très vaste et se rencontrent sur tout les continents, mais ne dépassent pas certaines latitudes (Fig. 3). Ils n'ont pas été signalés dans les pays nordiques, très rare en Amérique du nord, peu abondants en Australie, abondants dans les zones tropicales et équatoriales de l'Afrique, de l'Amérique orientale et de la province malaise (**Bounamous, 2010**). Ils ont su s'adapter à des climats très différents :

méditerranéens, désertiques, tropicaux ou équatoriaux. Étant peu mobiles, ils sont généralement absents des îles purement volcaniques ou coralliennes isolés, à quelques exceptions près telles les Comores ou l'atoll d'Aldabra aux Seychelles (**Depaquit & Leger, 2017**). Ils convient d'ajouter que, bien que leurs aires de répartitions se chevauchent largement (**Leger & Depaquit, 2001**), les espèces appartenant aux genres *Phlebotomus* sont dominantes dans la région paléarctique, qui est la région la plus tempérée de l'ancien monde, tandis que les *Sergentomyia* sont distribués dans les régions afrotrpicales, là où certaines espèces de *Phlebotomus* connues pour habiter cette région sont absentes (**Akhoundi et al., 2016**).

Leur répartition altitudinale peut arriver jusqu'à (par la mer morte) 3500 m au-dessus du niveau de la mer tel que *Phlebotomus rupester* en Afghanistan (**Gherbi, 2020**).

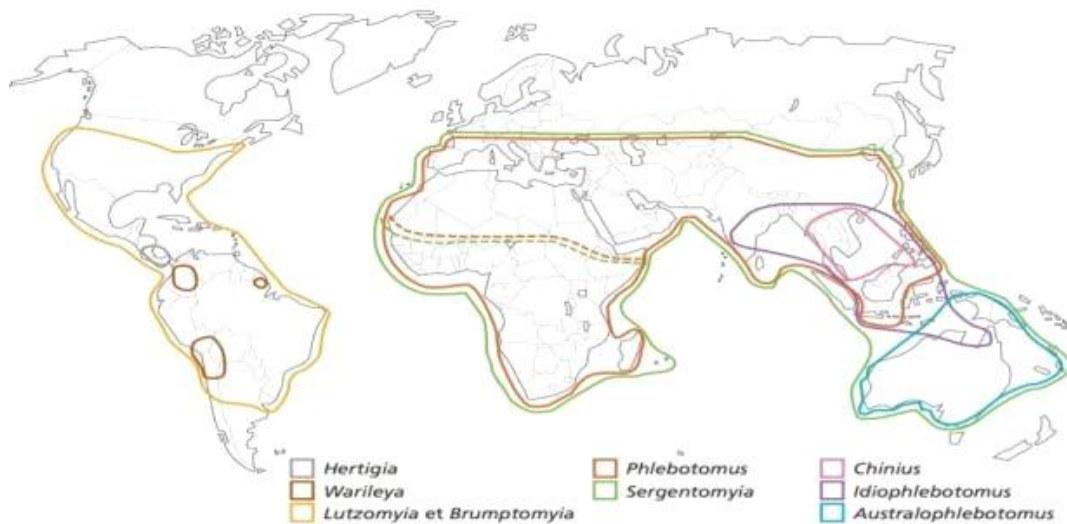


Figure 3 – Répartition des principaux genres de phlébotomes dans le monde modifié (Léger & Depaquit, 2017)

I.1.4.2. – En Algérie

En Algérie, les phlébotomes sont répartis sur tout le territoire national, d'Est en Ouest et du Nord au Sud; sous tous les étages bioclimatiques, de l'étage humide jusqu'à l'étage saharien (Fig. 4) (**Dedet et al., 1984; Belazzoug, 1991**).

Les phlébotomes ont été signalés pour la première fois en Algérie en 1912 par Foley et Leduc (**Boudrissa, 2014**), et signalés plus tard par Parrot et Sargent dont les travaux ont été menés entre 1917 et 1960 (**Dedet et al., 1984**), ainsi Dedet a montré que parmi les 15 espèces rencontrés en Algérie, seules deux espèces dominent par leur abondance et leur fréquence, il s'agit de *Sergentomyia minuta* (78,9%) et de *Phlebotomus perniciosus* (10,4%).

A ce jour l'Algérie compte 24 espèces de phlébotomes après le report de la présence de *Phlebotomus mascitti* en Kabylie (**Berdjane et al., 2011**).

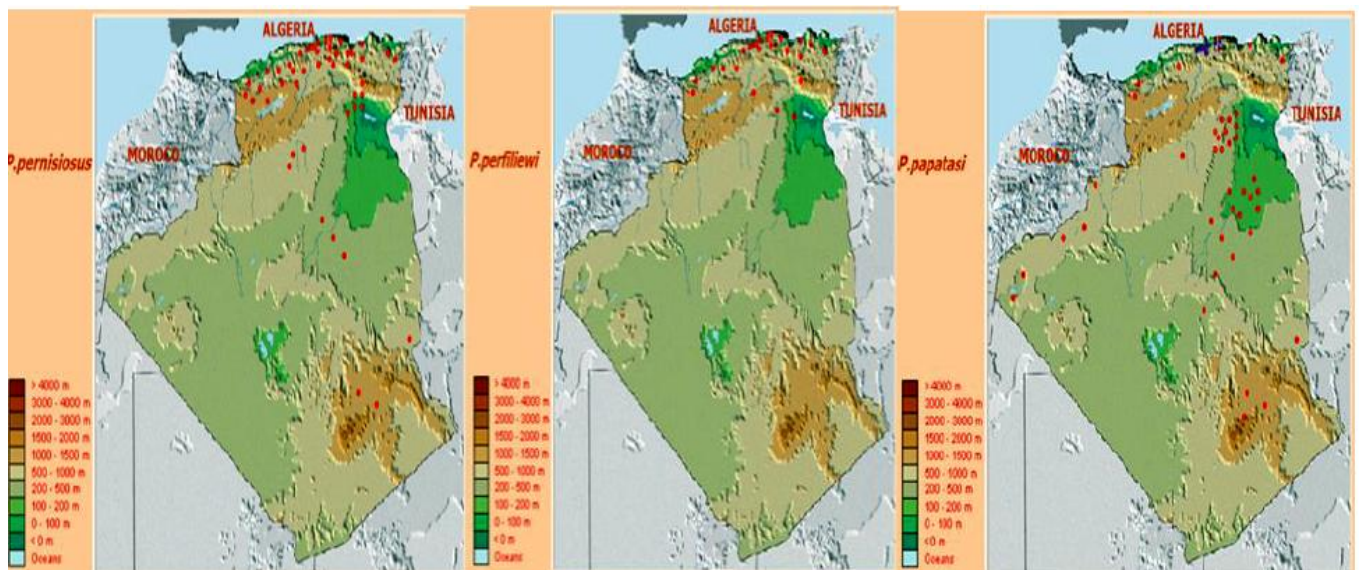


Figure 4 – Distribution des principaux genres de phlébotomes en Algérie (Kabbout, 2017)

I.1.5. - Les phlébotomes et la transmission des maladies

En piquant aussi bien l'homme que l'animal, les phlébotomes permettent la prolifération et la circulation de nombreux agents pathogènes (**Izri et al., 2006**). Ils ont une grande importance médicale en tant que vecteurs de plusieurs maladies affectant l'homme. Parmi ces maladies transmises par ces insectes, on trouve sur le territoire de l'U R S S, les leishmanioses cutanée et viscérale et la fièvre A pappataci (**Dolmatova & Demina, 1971**). Le rôle de ces derniers dans la transmission des leishmanioses a été, pour la première fois suspecté en 1905, par Et & Edm Sargent, de l'institut Pasteur d'Algérie. En dehors de ce rôle, la piqûre des phlébotomes peut déterminer une éruption prurigineuse assez violente chez certains individus (**Abonnenc, 1972**).

Sur 81 espèces de phlébotomes, 19 ont été confirmées comme différentes espèces de *Leishmania* (**Killick-Kendrick et al., 1991**).

Chez l'homme, ils piquent les parties découvertes du corps, notamment les visages, les mains, la région malléolaire. La piqûre douloureuse, occasionne des démangeaisons vives et persistantes qui se manifestent principalement le soir, et provoquent chez les individus des accidents locaux souvent très intense qui constituent une éruption, dont les éléments parfois très nombreux, peuvent être confluents (**Bounamous, 2010**).

La femelle en particulier celle du genre *Phlebotomus*, joue un rôle très important dans le transport des protozoaires, des bactéries et des virus qui sont des agents de plusieurs maladies humaines et animales (**Frahtia-Benotmane, 2015**).

Le mâle depuis longtemps considéré comme ne jouant aucun rôle vecteur en raison de sa non-hematophagie, mais peut transmettre des agents parasites à certaines plantes (**Bounamous, 2010**).

I.2. - Généralités sur la leishmaniose

I.2.1. - Définition

Les leishmanioses sont des anthroponoses (**Hocar et al., 2020; Eddaikra et al., 2017**), ce sont des maladies parasitaires dues à la présence chez l'homme d'un protozoaire flagellé du genre *Leishmania* (**Minodier et al., 2003; Basset et al., 2001; Dedet & Pratlong, 2001**), de la famille des trypanosomatida (**Messai et al., 2011, Akhoundi et al., 2016**). Ce sont des maladies infectieuses dues au parasitisme des cellules du système des phagocytes mononuclées par ces protozoaires flagellés (**Mokni, 2019**), ces parasites de génétiques ou hétéroxènes (**Harrat et al., 2019**), affectent de nombreuses espèces de mammifères, dont l'homme (**Dedet et al., 2001**), aux quelle ils sont transmis par la piqûre d'un insecte vecteur : phlébotome femelle (**Harrat & Belkaid, 1995**).

C'est la deuxième cause majeure de décès après le paludisme possédant un caractère d'endémie en Asie et Afrique (**El Mouhdi et al., 2019**).

Trois grandes formes cliniques sont décrites : cutanée (localisé ou diffuse), mucocutanée et viscérale (**Minodier et al., 2003; Issof et al., 2019**).

L'incidence des leishmanioses est estimée par l'organisation mondiale de la santé OMS entre 2 et 2,5 millions par an (**Minodier et al., 2003**).

I.2.2. - Épidémiologie de la leishmaniose

I.2.2.1. - Le parasite Leishmania

I.2.2.1.1. - Taxonomie

Les premières tentatives de classification de *Leishmania* étaient des classifications linnéennes mono-thétiques proposées entre 1916 et 1961, basées uniquement sur des caractères extrinsèques (**Akhoundi et al., 2016**). Depuis la description du genre *Leishmania* par Ross, en 1903, différentes classifications ont été proposées, dont celle-ci-dessous proposée par Levine et collaborateurs en 1980 (**Acebey, 2007**).

Règne : Protista

Sous-règne : Protozoa

Embranchement : Sarcomastigophora

Classe : Zomastigophrea

Ordre : Kinetoplastida

Sous-ordre : Trypanosomatina

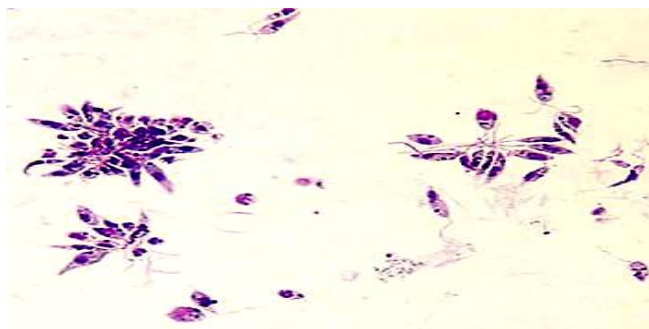
Famille : trypanosomatidae

Genre : *Leishmania* Ross, 1903

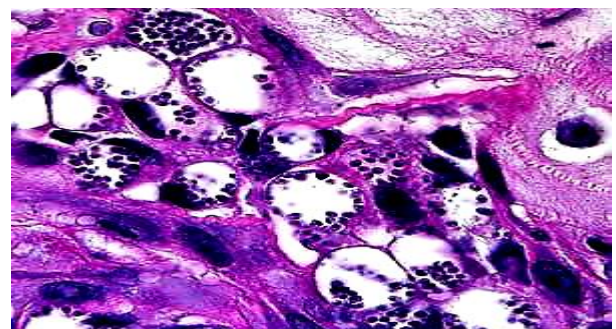
Le genre *Leishmania* est subdivisé en deux sous-genres : *Leishmania* (décrit dans l'ancien et le nouveau monde) et *Vannia* (uniquement dans le nouveau monde) (Gilles et al., 2015), selon que le parasite se développe dans la partie centrale ou postérieure de l'intestin du vecteur, respectivement. Au début des années 1970, les caractéristiques intrinsèques (immunologiques, biochimiques et moléculaires) de *Leishmania* ont été identifiées et utilisées pour développer de nouveaux systèmes de classification (Akhoundi et al., 2016).

I.2.2.1.2 - Cycle de vie et morphologie

Le parasite eucaryote unicellulaire *Leishmania* est pourvu d'un organe spécifique aux Kinetoplastidae, le kinetoplaste situé en position antérieure. La composition cellulaire des leishmanies inclut des organites plus classiques tels que, le noyau, le flagelle et sa poche flagellaire ou encore l'appareil de Golgi (Bennai, 2018). Ce sont des parasites di génétiques ou hétéroxènes (Denis et al., 2019) et di morphiques qui se présentent sous la forme de deux stades morphologiques principaux : l'amastigote intracellulaire, dans le système phagocytaire mononucléaire de l'hôte mammifère, et le promastigote flagellé dans le tractus intestinal de l'insecte vecteur et dans le milieu de culture (Fig. 5) (Dedet, 2002).



Formes promastigotes



Formes amastigotes

Figure 5 – Les deux principaux stades morphologiques de *Leishmania* (Bennai, 2018).

I.2.2.2. - Cycle de transmission de la leishmaniose

Le cycle vital des leishmanies peut se résumer au passage alterné du parasite d'un mammifère à un autre par l'intermédiaire du phlébotome vecteur (**Jebbouri, 2013**).

Le parasite *Leishmania* possède un cycle de vie biomorphe qui nécessite deux hôtes, un hôte invertébré (le phlébotome vecteur) et un mammifère réservoir de parasites (homme, rongeur, chien,...) (**Cherfi, 2014**). Il se présente chez leurs hôtes successifs sous deux stades morphologiques principaux : les promastigotes et les amastigotes. Lorsque la femelle de ce vecteur infectée prend un repas sanguin chez un hôte mammifère, elle salive au site de piqûre et régurgite le sang qui se contamine au contact des parasites, sous forme promastigote metacyclique infectieuse (**Boussa, 2008**), il infecte ensuite un phagocyte (principalement les monocytes/macrophages) du système réticulo-endothélial et se transforme en amastigote, s'ensuit une multiplication du parasite par fission binaire dans le phagolysosome du phagocyte qui est finalement lysé (**Cherfi, 2014**). Les parasites sont alors libérés et vont à nouveau être phagocytés par les cellules avoisinantes. Le cycle est achevé lorsque, à l'issue d'un nouveau repas sanguin, le phlébotome prélève des phagocytes infectés. Dans le tube digestif de l'insecte, les amastigotes se différencient en promastigotes, 12 à 18h après leur ingestion. Ces derniers se multiplient et migrent vers les glandes salivaires et la trompe jusqu'au prochain repas sanguin (**Hamrouni, 2019**).

La transmission vectorielle, une transmission interhumaine directe peut exister. Les descriptions de contaminations transplacentaires, associés à des transplantations d'organe ou à des transfusions, restent anecdotiques, mais les contaminations par échange de seringue chez toxicomanes (**Faucher et al., 2011**).

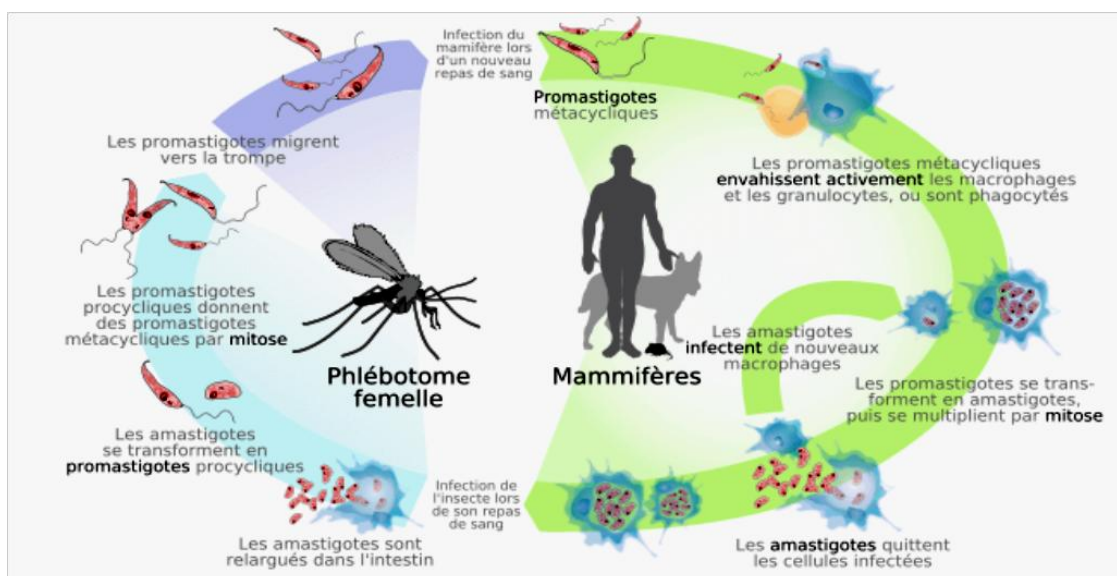


Figure 6 – Cycle de transmission du parasite *Leishmania* (Zeroual, 2022).

I.2.2.3. - Les formes cliniques de la leishmaniose

Leishmania est un parasite protozoaire responsable d'une morbidité et d'une mortalité importante dans le monde entier (**Oullette et al., 2003**). Les leishmanioses sont caractérisées par leur extrême diversité, on peut schématiquement distinguer trois grandes variétés (**Khiati, 1992**)

I.2.2.3.1. - La leishmaniose viscérale(LV)

La forme la plus grave, et potentiellement mortelle de la maladie est la leishmaniose viscérale (**Chalgaf, 2017**). Elle est appelée également Kala-azar «fièvre noire» ou fièvre «DumDum» (**Frahtia-Benotmane, 2015**). Autrefois considéré comme une maladie de l'enfant, on sait depuis l'avènement du Sida que l'adulte immunodéprimé est également concerné et que cette affection est opportuniste. Cliniquement la LV se caractérise par une triade de signes comprenant une fièvre anarchoïque ou fièvre folle qui évolue pendant plusieurs mois, une pâleur intense et une splénomégalie de plus en plus volumineuse allant jusqu'à dépasser l'ombilic. En fin d'évolution, cette splénomégalie accompagne d'une hépatomégalie et d'adénopathies, donne au sujet l'aspect dit d'enfant «araigne» en raison d'un volumineux abdomen qui contraste avec un état cachectique (Fig.7, A). Sans traitement spécifique, l'évolution est fatale, la mort survient par surinfections et hémorragies (**Izri & Belazzoug, 2007**).

La LV humaine pose un réel problème de santé publique en Algérie puisqu'on dénombre environs 400 nouveaux cas par an (**Djebbouh et al., 2005**).

I.2.2.3.2. - La leishmaniose cutanée (LC)

La leishmaniose cutanée est la forme la plus courante de la leishmaniose (**Khamesipour et al., 2022**), connue de longue date sous le nom de «clou de Biskra» (**Izri et al., 1992; Barchiche et al., 2009**), ou sous le nom de «Bouton d'orient» (**Izri & Belazzoug, 2007**). Selon l'OMS (2014), c'est une maladie potentiellement grave et défigurante. Les caractéristiques cliniques de cette manifestation clinique ne sont pas uniformes dans toutes les régions, ni même à l'intérieur d'une région donnée, par suite de différences touchant à l'espèce parasitaire et peut être aussi d'un déterminisme génétique de la réponse du patient (**Bachi, 2006**). Elle se manifeste par une papule infiltrée qui évolue en nodule puis en lésion ulcérée (Fig.7, B), en zone de peau découverte, au point de piqure de l'insecte. Cette lésion indolore, va se recouvrir d'une croûte et guérir spontanément en quelques mois en laissant une cicatrice indélébile (**Patrice, 2014**). Elle est d'un polymorphisme susceptible de stimuler de nombreuses dermatoses : furoncles, tuberculose, syphilis, mycose..... (**Hammani, 2002**).

En Algérie, la leishmaniose cutanée est observée sous deux formes cliniques et épidémiologiques distinctes : la forme cutanée sporadique du nord à *Leishmania infantum* et la forme cutanée zoonotique à *Leishmania major* (Hamiroune et al., 2019)

I.2.2.3.3. - La leishmaniose cutané-muqueuse(LCM)

Selon l'OMS (1999), elle est causée par *Leishmania braziliensis*, particulière à l'Amérique du sud et centrale, où elle est connue sous le nom de «Espundia».

Elle se manifeste par une ulcération près d'un orifice naturel de la face. Puis cette lésion s'étend en surface et en profondeur et provoque des délabrements importants au niveau de la cloison nasale (Fig.7, C), des lèvres et du palais, avec des risques de surinfection locale et pulmonaire pouvant évoluer vers le décès. Là encore, le diagnostic repose sur l'examen du frottis de la lésion (Patrice et al., 2014). Contrairement au cas de la leishmaniose cutanée, les lésions ne guérissent pas spontanément (OMS, 1984).



Figure 7 - Les différentes formes cliniques de la leishmaniose humaine (Aronson & Magill, 2020) (A) forme viscérale, (B) forme cutanée, (C) forme cutané-muqueuse

I.2.2.4. - La leishmaniose canine

En Algérie, la première observation sur la leishmaniose canine a été rapportée par Sergent et Sergent en 1910. La leishmaniose canine se traduit par une atteinte cutanée et viscérale comportant un tableau clinique varié et assez caractéristique (Fig. 8). Les lésions et les signes cliniques se développent sur une période variant de quelques mois à plusieurs années suivant l'infection (Djerbouh et al., 2005). Cette maladie se caractérise dans sa forme classique par des symptômes généraux (abattement, amaigrissement, fièvre et anorexie) (Boni et al., 1999). En France 10% de chiens sont séropositifs pour la leishmaniose (Christian et al., 1996). Cette manifestation est de plus en plus à Alger, ce qui explique la survenue de cas de

la LV chez les enfants n'ayant jamais quitté la capitale, elle est de loin plus importante que la LV humaine (Harrat *et al.*, 1995).



Figure 8 – Les signes cliniques de la leishmaniose canine (Gilles *et al.*, 2015)

I.2.2.5. - La répartition géographique de la leishmaniose

I.2.2.5.1. - Dans le monde

Selon l'organisation mondiale pour la santé (OMS), pour laquelle la leishmaniose est une préoccupation majeure au même titre que le sida, le paludisme et la tuberculose, 14 millions de personnes dans le monde sont atteintes par la maladie. Les pays pauvres sont les plus touchés (Clemence, 2009). Elle est largement répandue à la surface du globe, les leishmanioses connaissent une aire géographique circumterrestre, globalement intertropicales, mais débordant fortement sur des zones tempérées d'Afrique du nord, du sud de l'Europe et de l'Asie (Fig. 9) (Dedet, 2001). Cette zoonose est endémique dans 88 pays avec une incidence annuelle estimée de 1 à 1,5 millions de cas de la LC et 500 000 cas de la LV (Desjeux, 2001), on peut rajouter qu'elle est endémique dans la majorité des pays ayant un climat tempéré comme le Soudan, le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, le Bangladesh, l'Inde et le Brésil (El Mouhdi *et al.*, 2019).

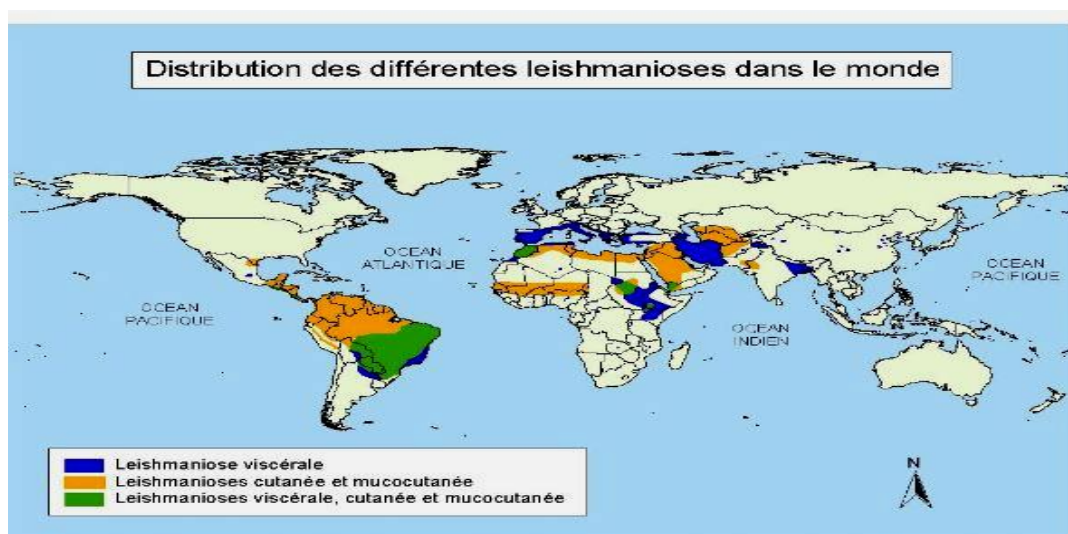


Figure 9 – Distribution des différentes leishmanioses dans le monde (Guillaume, 2010)

I.2.2.5.2. - En Algérie

L'Algérie est comme d'autres pays méditerranéens, fortement concerné par les zoonoses qui sont classées dans notre pays comme maladies à déclaration obligatoire (**Harrat et al., 1995**). L'Algérie qui compte parmi les pays les plus exposés, est concerné par trois formes cliniques sévissant à l'état endémique : la leishmaniose viscérale(LV), la leishmaniose cutanée sporadique du nord(LCS) et la leishmaniose cutanée zoonotique(LCZ) (**Harrat & Belkaid, 2003**). La leishmaniose viscérale qui a la même distribution que la leishmaniose canine s'étend sur toute la partie du nord au niveau des étages bioclimatiques humides et subhumides. Par ailleurs, de nombreux cas ont été signalés dans les régions semi arides et arides connus pour être des foyers de leishmaniose cutanée zoonotique, ex : Biskra et Batna (**Boudrissa, 2014**). Cette zoonose est connue de longue date à sévir en Algérie (Fig. 10) (**Harrat et al., 1995**).

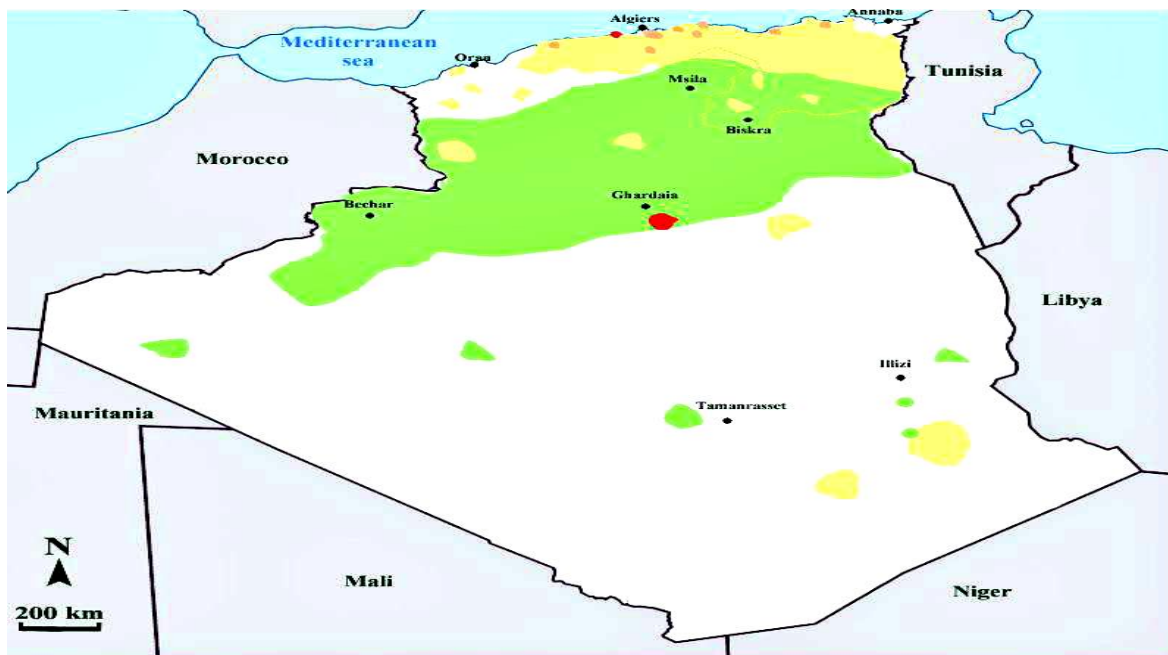


Figure 10 – Distribution de la leishmaniose en Algérie

▲ *L. major*, ▲ *L. killicki*, ▲ *L. infantum LV*, ▲ *L. infantum LC* (**Eddaikkra, 2016**)

I.2.2.5.3. - En Kabylie

La région de la grande Kabylie est connue depuis longtemps comme un foyer très actif de la leishmaniose qui sévit sous deux formes cliniques chez l'homme : la leishmaniose viscérale endémique et la leishmaniose cutanée sporadique (**Bessad & Mouloua, 2012**). Il est cependant important de noter que le foyer de la grande Kabylie regroupe à lui seul près de 50% de cas recensées (**Harrat & Belkaid, 2003**), il comprend la région de Tizi Ouzou, de

Bouira, de Bejaïa, et de Boumerdes. Le foyer englobe une partie de ces wilayas et s'étend jusqu'à collo à l'Est, et déborde au Sud jusqu'à Sétif (**Harat & Belkaid, 1995**).

Dans le foyer de Tizi-Ouzou qui reste le plus actif dans le Maghreb, la leishmaniose viscérale est responsable de 6% de décès (**Djerbouh et al., 2005**).

I.2.2.6. - Les réservoirs

Les leishmanies ont un spectre d'hôtes très large incluant des espèces sauvages, domestiques ou commensales. Certains espèces de *Leishmania* sont limitées aux mammifères inférieurs, les rongeurs, alors que d'autres sont adaptées aux mammifères carnivores et à l'homme (**Bachi, 2006**).

En Algérie, le chien est le principal réservoir de la leishmaniose viscérale méditerranéenne *Leishmania infantum* (**Djerbouh et al., 2005; Belkaid et al., 1996**).



Figure 11 – Le principal réservoir de la leishmaniose, le chien (Originale, 2023)

I.2.2.7. - Moyens de lutte

I.2.2.7.1. - Lutte contre le vecteur

Les phlébotomes qui comptent environ 900 espèces, sont les principaux vecteurs d'agents pathogènes tels que les bactéries, les virus et les protozoaires (*Leishmania*) dans le monde entier (**Yavar et al., 2020**). Selon l'OMS (2014), la lutte anti vectorielle aide à atténuer ou interrompre la transmission de la maladie en s'attaquant aux phlébotomes en particulier au niveau domestique. Selon **Boudrissa (2014)**, il existe deux types de lutte, la lutte chimique qui consiste à éliminer les phlébotomes par l'utilisation des insecticides à l'intérieur et au pourtour des maisons, et la lutte physique par l'obturation des fissures de

murs des vieilles maisons, élimination des ordures autour des maisons et élimination des amas de pierres.

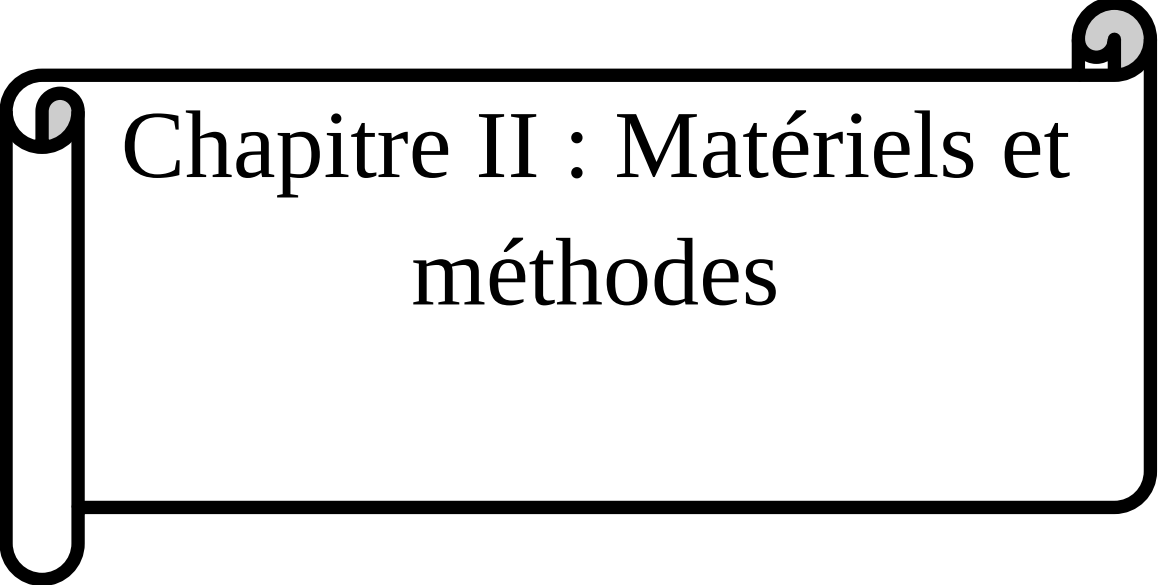
I.2.2.7.2. - Lutte contre le réservoir

Étant donné la très grande variété des cycles des leishmanioses, domestiques, péri-domestiques ou selvatiques, aucune méthode de lutte n'est généralisable. Pour chaque parasite et dans chaque foyer il faut élaborer une stratégie en rapport avec l'épidémiologie de la maladie et l'écologie des vecteurs et réservoirs. Elle consiste la destruction des terriers de rongeurs réservoirs ou leur empoisonnement, les chiens symptomatiques ou séropositifs qui sont le réservoir de la forme viscérale seront systématiquement à abattre **(Boudrissa, 2014)**, par le dépistage de masse, qui peut se faire par examen clinique ou par sérologie **(Bouchery, 2007)**. Ainsi, il est à noter que la lutte contre les rongeurs se pratique uniquement au niveau des zones agricoles, ce qui ne permettra guère l'éradication définitive ce fléau, notamment avec le développement de l'agriculture steppique **(Benelmouffok et al., 2017)**. Ce qui concerne l'homme; se fait par le dépistage actif et le traitement devraient réduire la charge parasitaire et la transmission. En dernier, la lutte contre les animaux sauvages consiste l'utilisation de pièges à trappe appâtes pourrait être efficace dans les zones urbaines **(Bouchery, 2007)**.

I.2.2.7.3. - Lutte contre la leishmaniose

Il faut concevoir diverses stratégies de lutte selon chaque situation, notamment selon le type de maladies, son caractère urbain ou rural **(OMS, 1984)**, en 2014 ils ont signalé qu'il faut avancer la recherche sur les moyens de combattre efficacement la leishmaniose, y compris au moyen de médicaments, outils diagnostiques et vaccins sûrs, efficace et d'un prix abordable.

Selon le rapport de l'organisation mondiale de la santé en **1984**, pour la LV urbaine et rural : dépistage et traitement rapide, ce point étant particulièrement important quand l'homme constitue le principal réservoir; même principe pour toutes les formes cliniques qui se présente par dépistage précoce et traitement de tout les patients suivi d'un contrôle sérologique.



Chapitre II : Matériels et méthodes

Ce chapitre comporte une description de notre région d'étude en incluant le choix des différentes localités analysées, ainsi que les différentes opérations effectuées sur le terrain faisant l'objet de notre étude, par la suite les différentes méthodes consacrées au laboratoire pour l'exploitation des résultats.

II.1. - Présentation de la région d'étude

La wilaya de Tizi-Ouzou est située au nord du massif du Djurdjura. C'est la wilaya qui contient le plus grand nombre de communes en Algérie, elle a une superficie de 3568 Km²; elle appartient à l'étage bioclimatique subhumide à hiver tempéré. Elle est limitée au Nord, par la mer méditerranée avec 80 Km de côte ; à l'Ouest, par la Wilaya de Boumerdes ; à l'Est, par la Wilaya de Bejaia et au Sud, par la Wilaya de Bouira (Fig. 12) (Mouloua, 2014).

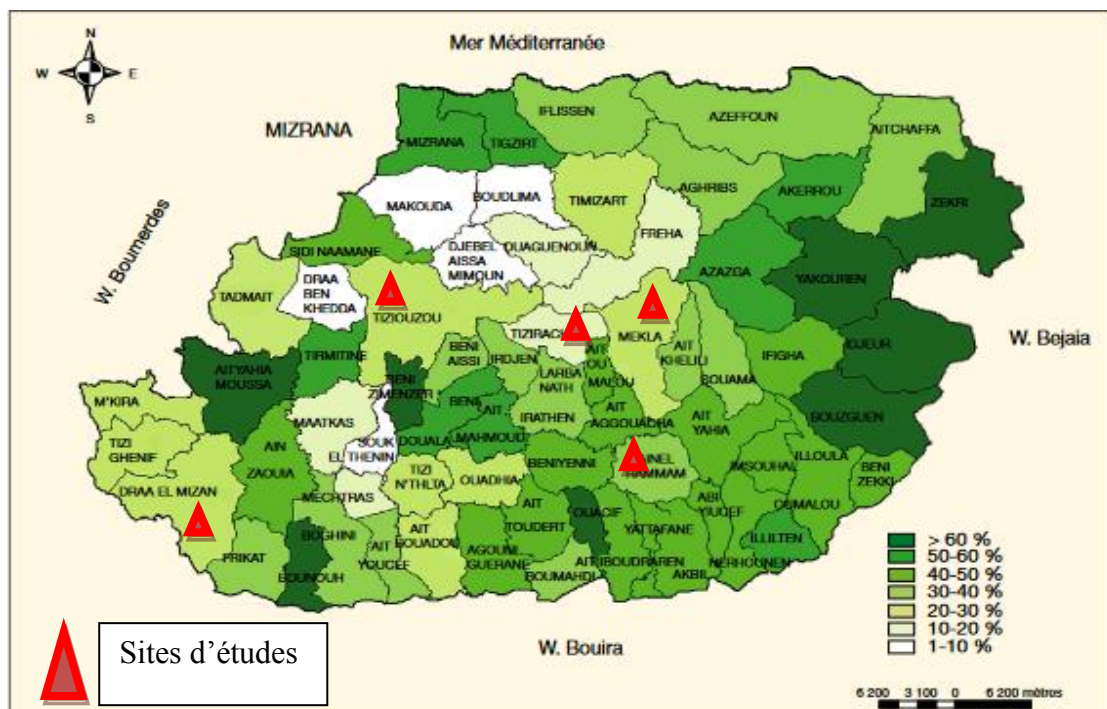


Figure 12 - Carte administrative de la Wilaya de Tizi-Ouzou modifiée représentant les différents sites d'échantillonnage (Meddour-Sahar et al., 2010)

II.2. - Description et choix des stations

Tout d'abord, les informations fournies par la DSP de Tizi-Ouzou ont servi de référence pour sélectionner certaines localités.

Le choix des localités est basé sur la présence d'un nombre important d'étables et de fermes avec de divers élevages, ainsi d'anciennes maisons d'argile qui représente la litière préféré des larves de phlébotomes (vecteur principal de la maladie) dans la localité de Ain El

Hamмам et Timizart Loghbar ,qui sont nos villages nataux, facilitant ainsi l'accès à ces fermes et ces anciennes maisons .

En second lieu, après avoir examinés plusieurs critiques et articles portant sur les études menées sur la LC, la LV, la leishmaniose canine et des phlébotomes dans la localité de Draa El Mizan, nous avons décidé de mener notre recherche dans cette localité.

De nos jour, il est bien reconnu que les chiens atteints d'infections asymptomatiques sont beaucoup plus fréquent que les chiens symptomatiques dont le chien est le réservoir majeur de l'infection, c'est dans ce contexte que nous avons choisi les refuges canins des localités de Mekla, Tizi Rached , Taboukirt, et Tizi-Ouzou auxquelles nous avons obtenu un accord d'accéder à ces derniers de la part de leurs propriétaires. (Tab. 1)

Nous avons également choisi le CHU de Tizi-Ouzou en raison du nombre de cas suspects enregistrés et hospitalisés au niveau du service infectieux.

Tableau 1 - Localités d'échantillonnage avec le nombre de chiens et humains prélevés

Zones d'échantillonnages	Localisation	Type d'échantillonnage	Nombre de prélèvement	
			Chiens	Humain
Mekla (Tala N' Zaouche)	36°71'13.0" N., 4°19'62.9" E.	Prélèvement Sanguin, et échantillonnage des phlébotomes	8	0
Taboukirt	36°71'13.0" N , 4°19'62.9" E		9	5
Ain El Hammam	36°57'14.1" N , 4°31'37.5" E		21	1
Timizart Loghbar	36°72'47.5" N , 4°09'12.6" E		6	0
Draa El Mizan	36°51'65.0" N , 3° 88'24.5"E	Prélèvement Sanguin	4	0
Tizi Rached	36°67'17.6" N , 4°19'17.6" E	Prélèvement sanguin veineux et échantillonnage des phlébotomes	8	0
Tizi Ouzou	36°71'82.0" N , 4°,05'41.8" E		/	2

II.3. - Méthodes utilisés sur le terrain

Nous avons mis en place diverses méthodes durant notre phase d'échantillonnage. Celles-ci englobaient la collecte de phlébotomes dans les localités sélectionnées, la prise du sang chez les chiens et les humains (symptomatiques et asymptomatiques), ainsi que des grattages cutanés et des ponctions ganglionnaires pour les chiens symptomatiques.

II.3.1. - Méthode d'échantillonnage des phlébotomes

L'objectif de ce travail consiste à dénombrer la faune phlébotomienne dans les régions d'études et les espèces susceptibles de transmettre les leishmanioses dans ce foyer. L'échantillonnage et les captures ont été effectués dans des biotopes propices au

développement des phlébotomes : les refuges de chiens (Fig. 13, A) et les fermes à plusieurs élevages (bovins (Fig. 13, B), ovins (Fig. 13, C) situés dans les sites choisies.

Nous avons choisi la méthode de pièges adhésifs, bien adapté pour l'échantillonnage et peu sélectif afin de pouvoir identifier les principales espèces vecteur de la maladie.



Figure 13 - Refuge pour les chiens (Originale, 2023)



Figure 13 - Étable d'élevage des ovins (Originale, 2023)



Figure 13 - Étable d'élevage des Bovins (Originale, 2023)

II.3.1.1. - Pièges adhésifs

La technique des pièges adhésifs est sans doute la mieux adaptée à l'inventaire qualitatif et quantitatif des phlébotomes en région méditerranéenne et tout particulièrement aux études chronologiques (**Bounamous, 2010**). Les pièges ont été réalisés avec de papiers découpés en feuilles de couleur jaunâtre, de format 20×20 cm, trempé d'huile de ricin purifié (Fig. 14, A) ayant des propriétés attrayantes et collantes. Sur le terrain nous avons installer des pièges, tenus par un fil ou maintenus par des supports de bois, placé dans les différentes localités étudiés au niveau des fermes et de étables (Fig. 14, B) pour une période de 2 à 4 jours, ces derniers sont ramassés et regroupés par localité dans des chemises en plastiques (Fig. 14, C) portant le numéro de localité, la date et le nombre de pièges posés, suivi d'une récolte dépouillée et classée pour éviter la détérioration des phlébotomes. Une fois au laboratoire, les phlébotomes sont prélevés avec un pinceau imbibé d'alcool et stockés dans des micros tubes avec de l'alcool à 70° dans lequel l'huile de ricin est soluble portant le numéro de la station et la date de piégeage.



Figure 14 - Les pièges adhésifs. A : les feuilles trempé d'huile du ricin. B : pose de piège au niveau d'une étable d'élevage. C : récupération des pièges dans des chemises en plastiques (Originale, 2023).

II.3.2. - Méthodes des prélèvements sanguins

II.3.2.1. - Méthodes de prélèvement du sang chez les Chiens

Pour effectuer cet acte, nous avons pris un échantillon de sang veineux. Après avoir placé la muselière à l'animal avec l'aide de son propriétaire, nous avons procédé aux prélèvements sanguins. Ces derniers ont été réalisés ainsi :

- On rase le site de prélèvement au besoin et on réalise une désinfection avec de l'alcool chirurgical à 70°.
- Après une pose de garrot modérément serré, la veine saphène sera gonflée et franche.
- Cette dernière est perforée avec une aiguille sur une seringue de 5ml et soutirer le volume du sang désiré (Fig. 15).
- Le sang aspiré est immédiatement introduit dans un tube EDTA et un autre sec.
- L'identification de l'échantillon est notée avec précision : numéro et date du prélèvement avec le code du chien, suivi du remplissage d'une fiche de renseignement contenant toutes les informations possibles sur le chien (sexe, race ...).
- Les prélèvements sanguins ont été déposés dans une glacière, où la température interne est maintenue à 4°C, et emmenés le lendemain matin au laboratoire d'Eco épidémiologie parasitaire d'IPA pour centrifugation.

Cette opération a été effectuée sur un nombre de 57 chiens de race et sexe différents dans les sites échantillonnés.



Figure 15 - Prise du sang veineux au niveau d'une veine saphène pour un chien (Originale, 2023)

II.3.2.2. - Méthodes de prélèvement du sang chez les Humains

Ces prélèvements sanguins ont été effectués sur les propriétaires de ces refuges canins et des cas suspects hospitalisés au niveau du service infectieux à l'hôpital de Tizi-Ouzou (CHU), il s'agit de 8 personnes de sexe et âge différents. La technique est comme suit :

- Après avoir choisi le site de ponction, on pose le garrot et on désinfecte avec de l'alcool, on tend la peau pour immobiliser la veine.
- On réalise la ponction veineuse, en introduisant l'aiguille épicroténienne dans la veine et on introduit le premier tube EDTA suivi d'un autre sec.

- On desserre le garrot et on pose un pansement.
- On remplit une fiche avec toutes les informations de l'homme.
- On les emmène ensuite au laboratoire.

II.3.3. - Méthode du grattage cutané

La méthode a été appliquée sur des chiens présentant des signes évidents de lésions cutanées. Voici les étapes suivies : Tout d'abord la lésion a été désinfectée avec un morceau de coton imprégné d'alcool 70°. Ensuite, à l'aide d'un bistouri stérile, la croute a été retirée et une zone de grattage a été réalisée à la périphérie et à l'intérieur de la lésion (Fig. 16), parfois le liquide aspiré à l'aide d'une seringue. On dépose le liquide sur une lame et on réalise des frottis soigneusement sans endommager les cellules pour un éventuel examen direct.



Figure 16 - Grattage cutané d'une lésion d'un chien (Originale, 2023)

II.3.4. - Réalisation d'une ponction ganglionnaire

On réalise des ponctions ganglionnaires aux chiens symptomatiques possédant des ganglions infectés, on commence par immobiliser le ganglion du chien, puis on introduit une aiguille d'une seringue de 5ml, en effectuant 3 à 4 allers retour à l'intérieur de ce dernier (Fig.17). Le contenu de la seringue est immédiatementensemencé sur un tube NNN et un autre SLC devant un bec bunsen en rajoutant 2 à 3 gouttes de solution eau physiologique + antibiotiques , qui sont ensuite incubés à 25°C.

L'examen au laboratoire se fait de la même façon que les cultures.

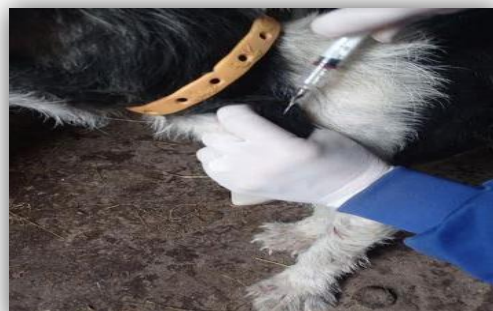


Figure 17 - Réalisation d'une ponction ganglionnaire (Originale, 2023)

II.4. - Méthodes utilisées au laboratoire

Afin de parfaire notre étude nous avons complété les opérations effectués sur le terrain par des techniques adoptés au laboratoire : la première repose sur le tri des phlébotomes capturés et explorer encore d'avantage le parasite étudié par des techniques d'analyses telle l'hémoculture, des tests immunologique telle que l'IFI, et des examens de biologie moléculaire comme la PCR.

II.4.1. - Tri des phlébotomes

Après avoir récupéré les phlébotomes capturés à partir des pièges adhésifs (Fig. 18,2). Les spécimens récoltés ont été séparés par sexe à l'aide d'une loupe binoculaire (Fig. 18, 1), en observant les critères des organes reproducteurs mâles et femelles (les mâles ont un squelette génital très développé composé de trois paires d'extensions, tandis que les femelles ont des simples endogenitaux).

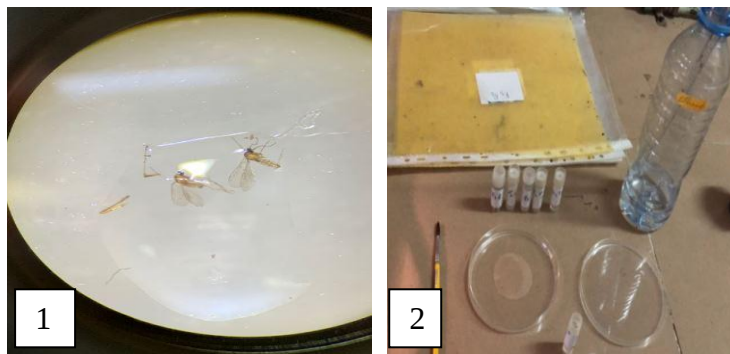


Figure 18 - Tri des phlébotomes capturé par des pièges adhésifs. 1 : Des phlébotomes observés sous un microscope ; 2 : Stockage des spécimens dans des micro tubes contenant de l'alcool à 70° (Originale, 2023)

II.4.2. - Traitement des prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins emmenés dans des tubes EDTA et sec sont passés à la centrifugation pendant 10 mn à 2500 tours et à une température de 25°C (Fig. 19, 1).

Après centrifugation, apparition de trois couches bien distinctes (Fig. 19, 2) pour le tube EDTA qui se présente en : les érythrocytes au fond du tube, une fine couche leucocytaire au milieu d'une couleur blanchâtre et une couche importante du plasma. Pour le deuxième tube sec, il est subdivisé en 2 couches : le caillot sanguin au fond et du sérum (Fig. 19, 4).

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile et devant un bec bunsen pour éviter toute contamination sur une paillasse bien nettoyé à l'anios, on commence par prélever soigneusement la couche

leucocytaire (Fig. 19, 3) du premier tube EDTA pour l'ensemencer ainsi sur milieu NNN et un tube contenant du sérum du lapin coagulé SLC (selon la disponibilité) pour les examens d'hémoculture. De la même méthode on prélève l'autre couche leucocytaire du deuxième tube qui sera conservé dans des epindorfs, ces derniers congelés à -20° le temps d'accumuler les autres échantillons pour une éventuelle technique.

Concernant le tube sec, on prélève le sérum dans des epindorfs et les conserver a -20° pour une prochaine technique sérologique IFI.

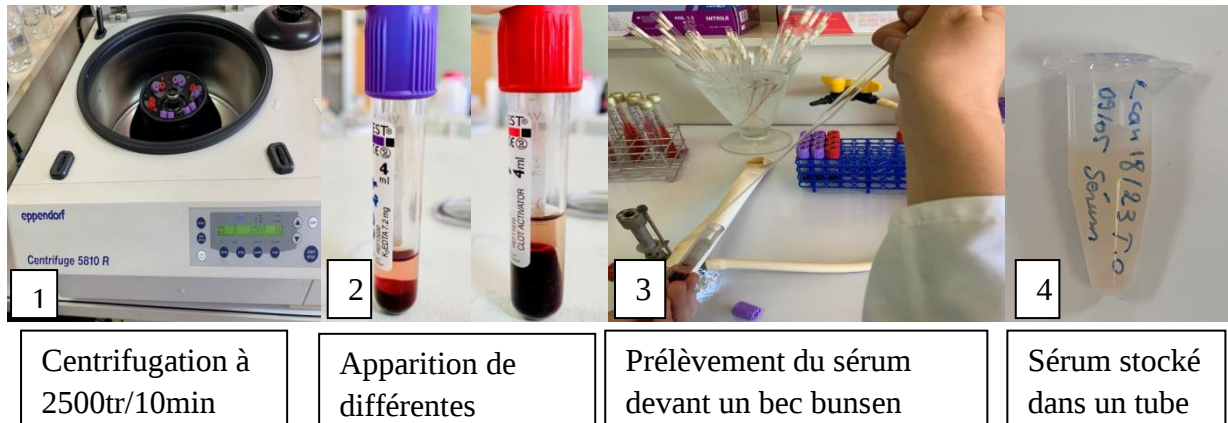


Figure 19 - Traitement des échantillons de sang à différentes étapes (Originale, 2023)

II.4.3. - Examen direct

Après avoir récupéré les lames, la coloration est effectuée de la manière suivante : Premièrement, les frottis sont fixés avec du méthanol, puis laissés sécher à l'air libre. Une fois secs, on procède à la coloration en utilisant le May-Grünwald-Giemsa MGG dilué (1ml de solution de MGG+9ml de l'eau du robinet, agité et filtré avec du papier filtre, récupéré dans un bêcher), et laisser agir pendant 30min (Fig. 20). Ensuite, on rince les lames délicatement à l'eau du robinet à l'aide d'une pissette et on les laisse sécher. Une fois sèches, on dépose une goutte d'huile d'immersion et on observe au microscope avec un grossissement 100 afin de rechercher des formes amastigotes.

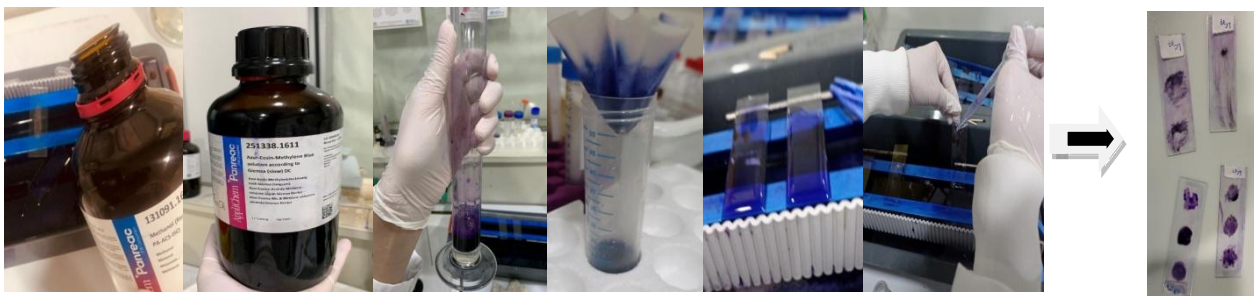


Figure 20 - les différentes étapes de la coloration au MGG (Originale, 2023).

II.4.4. - Hémoculture

La couche leucocytaire située à l'interface plasma-culot, prélevée précédemment soigneusement devant un bec bunsen à l'aide d'une pipette Pasteur (Fig. 21, 2) et introduite dans un milieu NNN (le plus utilisé dans cette technique), il s'agit d'un milieu d'isolement composé de deux phases, une phase solide constituée de gélose avec 10% du sang de lapin défibrée et une phase liquide constituée de l'exsudat produit à partir de la gélose du sang, et souventensemencé dans des milieux SLC qui jouent le même rôle que NNN (selon la disponibilité) (Fig. 21, 1), pour lesquelles on rajoute un CC de la solution d'antibiotiques pour éviter les contaminations (Fig. 21, 3) et on incube à 25°C, après une semaine on réalise un repiquage qui s'agit d'ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution d'eau physiologique + antibiotiques (milieu nutritif), et on réalise une observation entre lame et lamelle en vue d'observation des formes promastigotes sous le microscope au G *40, A J7,14,21,28 on réalise d'autres repiquages sur de nouveaux milieux et on refait la lecture pour prononcer le résultat final qui pourra être positif ou négatif.



Figure 21 - Ensemencement de la couche leucocytaire sur milieu NNN et SLC devant un bec bunsen (Originale, 2023).

II.4.5. - Technique d'immunofluorescence indirect IFI

Le principe de l'immunofluorescence indirecte IFI, repose sur la révélation d'un complexe antigènes-anticorps par une anti-immunoglobuline couplée à une substance fluorescente en lumière ultra-violette, il s'agit d'une technique quantitative, dont le résultat est exprimé par la dernière dilution de sérum donnant encore une fluorescence (**Pierre, 2001**).

II.4.5.1. - Mode opératoire d'IFI

Cette technique se déroule en plusieurs étapes :

On commence par retirer du congélateur les lames sensibilisés d'Ag préparé précédemment et conservé à -20°C, on les dépose dans une étuve à 37°C pendant 30 min, suivi d'une fixation dans un bac d'acétone pendant 10min pour une meilleure fixation, puis les laisser sécher à l'étuve, les lames utilisées étaient celles de 12 puits et d'autres de 18 puits selon la disponibilité. Ensuite on passe à la préparation du PBS indispensable pour chaque étape qui suit, en mélangeant dans un bêcher 1L d'eau distillé avec un sachet PBS à l'aide d'un agitateur jusqu'à l'homogénéité.

Sur une microplaque on procède aux dilutions des sérums déjà conservés dans des épandoirs à -20°C en présence de deux témoins (l'un positif et l'autre négatif) déposés dans les premiers puits pour lesquelles on réalise des dilutions à 1/20. Pour les sérums on réalise des dilutions de 1/20, 1/40 et 1/80 qu'on considère comme seuil de positivité, et concernant les sujets symptomatique on peut aller jusqu'à 1/640. A ces dernières on rajoute des quantités de PBS à pH 7,2 : 190µl pour les 1/20 et 50µl pour 1/40 et 1/80. 10 ml de chaque dilution aspiré à l'aide d'une micropipette est déposé sur un spot de la lame. Les lames sont ensuite déposées dans une chambre humide et incubées dans une étuve à 37°C pendant 30min, on récupère et on effectue un lavage au tampon PBS afin d'éliminer les anticorps non fixés, puis introduites dans un bac contenant du PBS pour 10min, et on procède au séchage à l'aide d'une sèche main. Après séchage on dépose une goutte de conjugué dilué (1µl conjugué+99µl PBS canin, 10µl conjugué+300µl PBS humain) sur chaque spot de la lame et on incube dans une chambre humide à l'étuve pendant 30min (le conjugué canin diffère du conjugué humain), pour chaque sérum on utilise le conjugué qui lui convient. Après récupération on effectue un autre lavage au PBS et on incube au bac pour 10min. Après séchage, à l'aide d'une micropipette de 10µl on dépose 1 goutte de la solution de bleu de Evans préparé sur chaque puits de la lame, ensuite incubées pour 20min, puis lavées et séchées une dernière fois. Après avoir ajouté deux à trois gouttes de glycérine sur la lame et recouvrir avec une lamelle, on réalise une lecture au Microscope à fluorescence au Grossissement $\times 40$. Les sérums positifs donnent une fluorescence verte du corps et du flagelle du parasite et le négatif apparaît en rouge (Fig. 22).

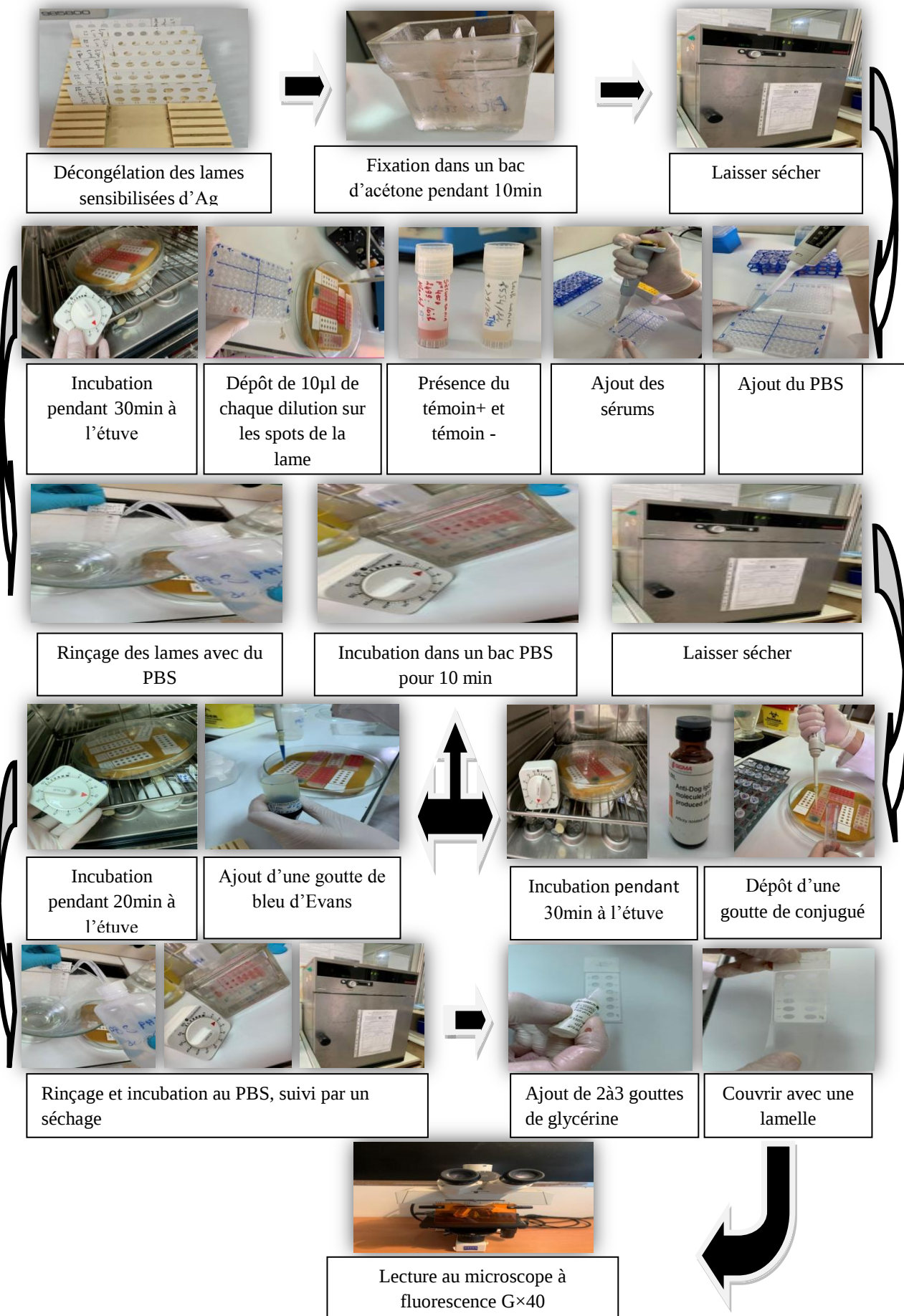


Figure 22 - Protocole suivi pour la technique d'immunofluorescence indirecte (Originale, 2023)

II.4.6. - Extraction d'ADN

Étant donné que l'ADN est le matériel génétique situé dans la cellule, il est nécessaire de séparer et d'éliminer les différents organites inutiles telle que la membrane cellulaire afin de l'analyser et de garantir une extraction optimale (obtention d'un ADN pure), il existe plusieurs méthodes à suivre pour cela. Dans notre cas, nous avons testé deux méthodes d'extractions

II.4.6.1. - Extraction d'ADN par la méthode de phénol chloroforme

Cette technique est subdivisée en trois étapes :

II.4.6.1.1. - La lyse cellulaire

Dans la salle d'extraction et sous une hôte chimie, on ajoute au culot : 200 µl de tampon de lyse, 12,5 µl de SDS 10% afin de rompre les ponts disulfures ainsi que la bicouche lipidique de la cellule, et 20µl de la protéinase K pour dissoudre les protéines existantes liées à l'ADN dans la cellule , on vortex et on incube pendant toute une nuit dans un bain marie réglé à 55°.

II.4.6.1.2. - La déprotéinisation

Dans cette étape on procède à l'ajout d'un volume égal de mélange phénol chloroforme/alcool iso amylique (25v/24v/1v) pour nos échantillons préparés, on mélange pendant 2 à 3 min les deux phases jusqu'à obtention d'un mélange laiteux et on laisse agir pour 5 min sur la paillasse. On centrifuge à 13000g pendant 10min, après centrifugation on récupère la phase supérieure contenant l'ADN soigneusement sans aspirer l'interphase, et on la transfère dans un nouveau tube de 2ml.

II.4.6.1.3. - La précipitation

On rajoute un volume de 1/10 de nos échantillons d'acétate de sodium aux tubes et deux fois le volume de l'éthanol absolu (500µl). Après centrifugation à 12000g à 4°C pendant 15 min, on jette le surnageant et on ajoute 500µl de l'éthanol à 70% au culot récupéré, ensuite centrifuger à nouveau à 12000g pendant 15min. on récupère les tubes et on laisse sécher à T° ambiante toute une nuit. Après une nuit de séchage on rajoute 50µl du TE afin d'hydrater l'ADN puis on les conserve au frigo à -20°C pour les prochaines étapes à suivre le temps d'accumuler les autres échantillons (Fig. 23).

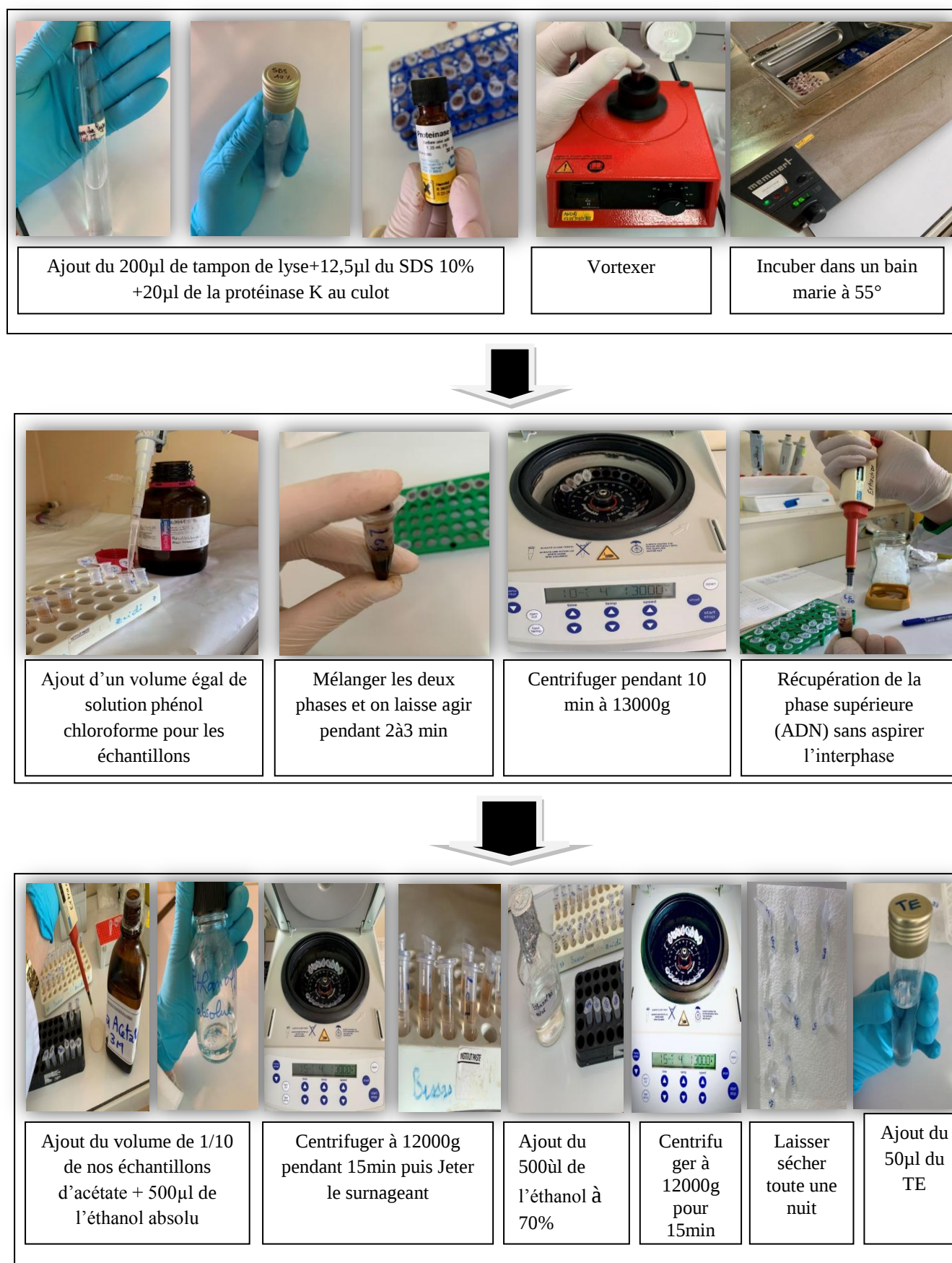


Figure 23 - Protocole d'extraction d'ADN par la méthode phénol chloroforme (Originale, 2023).

II.4.6.2. - Extraction d'ADN à l'aide du kit Omega

L'extraction d'ADN est réalisée à l'aide d'un kit spécial Omega (Fig.24) selon le protocole ci-dessous

II.4.6.2.1. - La lyse

- Ajout de 200 µl de la **protéinase K** à chaque échantillon
- Ajout du 240 µl du **Lysis Master mix** préparé ainsi (0,275µl du TNA Lysis Buffer + 1,24µl du Carrier RNA pour 1 échantillon).
- Vortexer

II.4.6.2.2. - La précipitation

- Ajout du 280µl du **Binding master mix** préparé ainsi (312,5 µl de l'isopropanol + 5,5 µl Mag-Bind particules RQ pour 1 échantillon)
- On mélange et on vortex pendant 10 min

II.4.6.2.3. - Lavage

- On place la plaque sur un séparateur magnétique et on laisse jusqu'à ce que les particules du Mag Bind soient complètement éliminées
- On aspire et on jette le surnageant sans toucher les particules du Mag Bind
- On retire la plaque du dispositif magnétique et on rajoute 350µl de Tampon RMP dilué avec 100% d'isopropanol
- Vortex pendant 5 min
- On place la plaque sur le dispositif de séparation magnétique afin d'éliminer les particules Mag Bind
- On aspire et on jette le surnageant
- On retire la plaque du dispositif magnétique et on rajoute 350 µl d'éthanol à 80%
- On vortex pour mélanger
- On place la plaque sur le dispositif magnétique pour éliminer toutes les particules Mag Bind
- On aspire et on jette le surnageant sans toucher ces particules
- On retire la plaque du dispositif et on rajoute encore de l'éthanol à 80% puis vortexer
- On remet la plaque sur le dispositif de séparation et on aspire le surnageant et le jeter

II.4.6.2.4. - Éluion

- Retirer la plaque du dispositif magnétique et on ajoute 100µl d'**eau RNA ase free**
- Vortexer pendant 10 min
- On place la plaque sur le dispositif pour magnétiser les particules Mag Bind afin de les éliminer de la solution

- On transfère le surnageant clarifié contenant de l'ADN purifié dans de nouveaux tubes et les garder à -20°C.

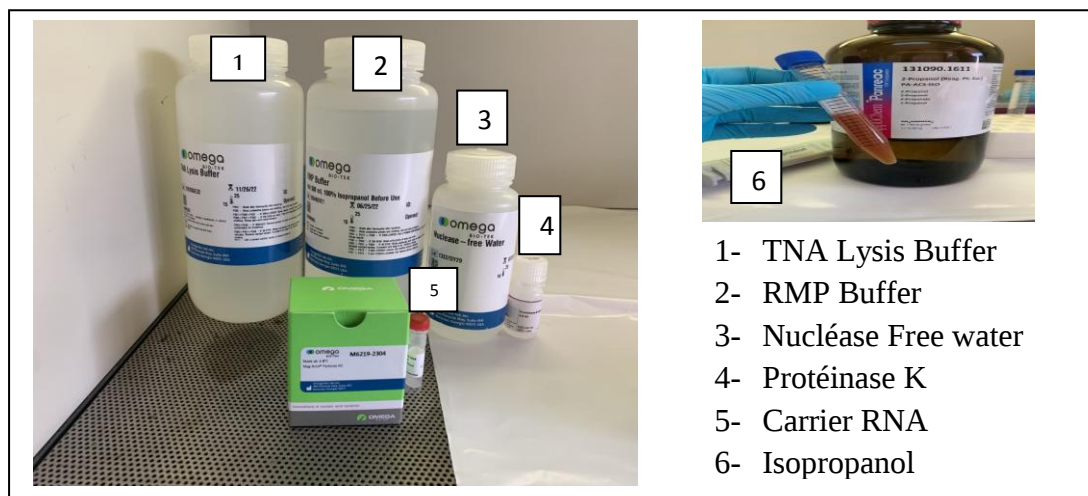


Figure 24 - Kit d'extraction d'ADN, type Omega (Originale, 2023)

II.4.7. - PCR (Polymerasechainreaction)

La Polymérase Chain Réaction (PCR) est une technique d'amplification *in vitro* de séquence nucléique. Elle permet d'obtenir en quelques heures plusieurs millions de copies d'une séquence donnée à partir d'une très faible quantité d'ADN présente dans les échantillons biologiques (**Tahir, 2014**).

Chaque amplification en chaîne par polymérase (PCR) nécessite un protocole spécifique qui dépend de l'amorce utilisée et des réactifs employés. Pour notre recherche, nous avons choisi de cibler la région ITS1 en utilisant une paire d'amorces **Reverse & Forward** décrite par Schonian et *al.* en 2003.

Deux méthodes distinctes de la PCR ont été expérimentés, où certains échantillons ont été analysés à l'aide de la PCR classique tandis que d'autres ont été testés avec la PCR en temps réel.

II.4.7.1. - La PCR classique

II.4.7.1.1. - Préparation du Mix

La préparation du Mix est réalisée sous conditions aseptiques (sous une hotte bio cap), pour éviter toute contamination (Tab. 2). Le protocole ITS1 de la préparation du mélange avec tous les réactifs et les volumes requis est spécifié dans le tableau 2.

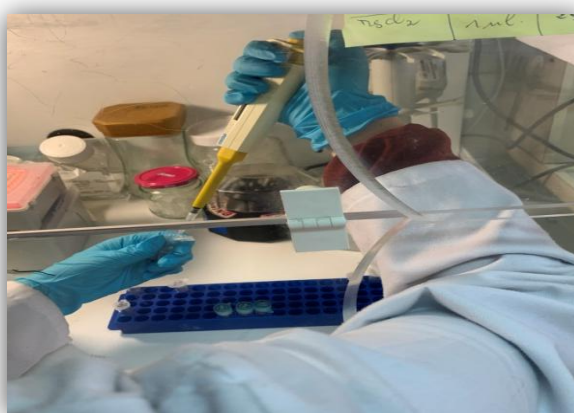
Tableau 2 - Protocole de la préparation du Mix pour la PCR-ITS1

Produit	Rôle	Volume (µl) pour un échantillon
Master mix	Remplace le Kit	12,5µl
Primer1	Le reverse et le foward	0,5µl
Primer 2	-	0,5µl
Eau distillé stérile	Pour l'équilibre	6,5µl
Total mix	-	20µl

Nous signalons que le Master mix utilisé est un réactif qui contient différents constituants : Buffer×10, Taq polymérase, dnTP et du Mgcl2.

Les volumes du mix varient selon la quantité des échantillons à tester, chaque constituant est multiplié par le nombre d'échantillons étudiés. Ensuite 20 µl de cette combinaison sont répartis dans chaque tube de barrettes de 0,5 spécifique à la PCR (thermocycleur), en ajoutant 5 µl de l'échantillon d'ADN à tester prélevé lors de l'extraction, alors que :

- Témoin négatif : 5µl d'eau distillé stérile +20 µl du Mix
- Témoin positif : 5µl d'ADN positif avec 20 µl du Mix

**Figure 25 - préparation du mix sous une hotte bio-cap (Originale, 2023)**

II.4.7.1.2. - Programmation du thermocycleur

L'appareil contient un bloc chauffant où l'on insère les tubes contenant notre mélange, il est alors programmé pour effectuer les différents cycles de la PCR, selon le gène. Ainsi chaque cycle est composé d'une succession de paliers de température prédéterminé, et d'une durée bien définie.

Chaque cycle est donc constitué de trois périodes différentes :

- La dénaturation : la température dans le tube est réglé à 95°, à ce moment là l'ADN se dénature en ADN simple brin en perdant sa structure en double hélice en rompons les liaisons hydrogènes reliant les bases de chaque brin.
- L'hybridation : la température est descendue à une température dite d'hybridation™. Cette dernière est généralement comprise entre 40° et 60° en fonction de la composition en desoxyribonucleotides des amorces.
- Élongation : la température est réglée à 72°, température idéale pour l'activité de la Taq-polymérase. Cette étape permet à la Taq polymérase de synthétiser le brin complémentaire d'ADN matrice, grâce aux dnTPs libres présents dans le milieu réactionnel.

A la fin de chaque cycle la quantité d'ADN est doublée.

48 échantillons de PCR ont été soumis au thermocycleur (Fig. 26). Certains de ces derniers sont des ADN humain tandis que d'autres sont des échantillons d'ADN canin.



Figure 26 - Thermocycleur IPA (Originale, 2023)

II.4.7.1.3. - Révélation des produits PCR par électrophorèse sur gel d'agarose

Les échantillons amplifiés par PCR-ITS1 sont analysés par électrophorèse sur un gel d'agarose. Ce gel permet la migration des acides nucléiques à travers ses pores, en présence de Bromure d'Ethidium (BET) qui émet une fluorescence sous l'exposition aux rayons UV.

II.4.7.1.3.1. - Préparation du gel

Mesurer 1 g d'agarose et l'ajouter à un mélange de 100 ml (10ml du TBE 10%+ 90ml d'eau distillé). Chauffer le mélange jusqu'à ce qu'il devienne liquide et limpide en utilisant un four à micro-ondes. Refroidir le mélange sous l'eau courante et ajouter 7µl du BET. Une fois cela fait, verser le gel dans la cuve après avoir placé les peignes. Après

polymérisation du gel, retirer soigneusement les peignes, et on remplit avec du TAE. On mélange un volume de 2,5µl du tampon de charge (Bromophenol) avec 5µl du produit PCR(ADN). Déposer ces mélanges dans les puits du gel formés après agrégation en conservant les trois derniers puits pour le témoin positif(+), le témoin négatif(-) et le marqueur de PM respectivement. Connecter les électrodes de la cuve à l'alimentation pour que les dépôts soient du côté cathode et appliquer une tension de 85 V pendant environ une heure de migration. Arrêter l'alimentation lorsque le colorant de charge arrive atteint le front de migration. Enfin, utiliser une table UV du transilluminateur dans une chambre noire pour visualiser les bandes d'ADN fluorescentes (Fig. 27).

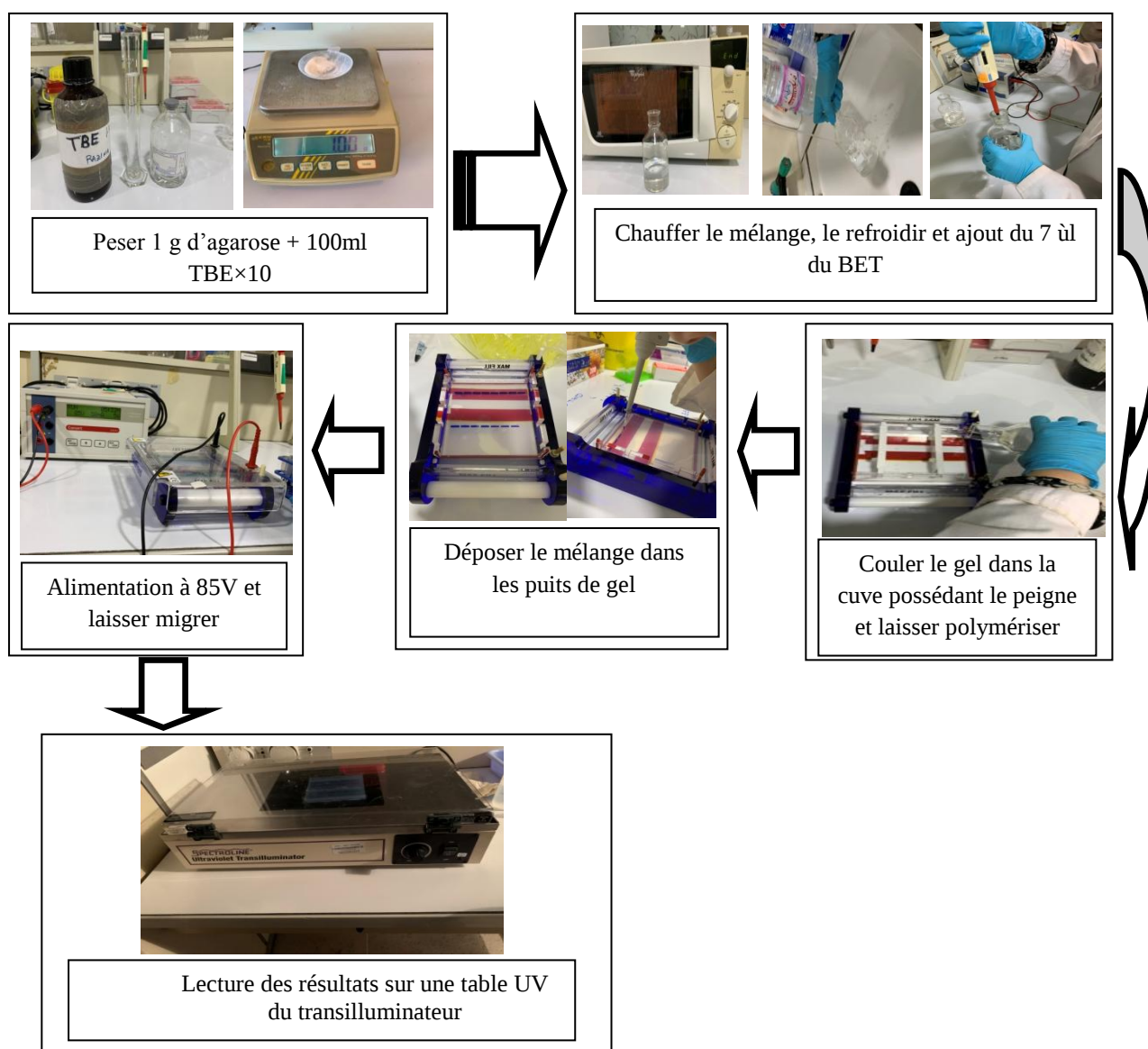


Figure 27 - Protocole d'électrophorèse sur gel d'agarose (Originale, 2023)

II.4.7.2. - La PCR en temps réel

La réaction de polymérisation en chaîne en temps réel, ou quantitative, représente une méthode rapide, sensible et spécifique pour la mise en évidence d'agents pathogènes. Elle est basée sur la détection et la quantification d'un reporter fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés pendant la réaction de PCR.

Le protocole suivi est comme suit :

II.4.7.2.1. - Préparation du mix

Tableau 3 – Protocole de la préparation du Mix

Ingrédients	Volume pour un échantillon
Master Mix	10 µl
Amorce F	0,5 µl
Amorce R	0,5 µl
Sonde	2 µl
Eau distillée	2 µl
Total	15 µl

Chaque constituant du mix est multiplié par le nombre d'échantillons étudiés, ensuite 15 µl de ce mélange est distribué dans chaque tubes spécifiques de type smart cycler professionnel, en ajoutant 5 µl de l'ADN, en présence d'un témoin positif et d'un autre négatif.

II.4.7.2.2. - Vortexage

À l'aide des minis centrifugeuses adaptées au format de tubes de type smart cycler professionnel, on met tout les tubes pour mélanger tout les constituants.

II.4.7.2.3. - Lecture des résultats

On dépose tout les tubes dans le smart cycler adapté à un ordinateur, et on règle le programme pour ce dernier selon le gène à étudier (*Leishmania*), et on laisse pour une heure pour avoir tout les résultats (Fig. 28).

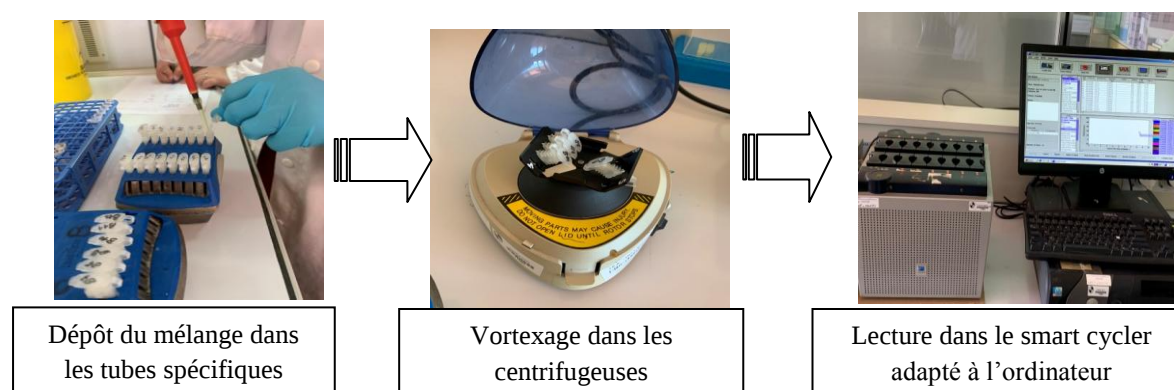
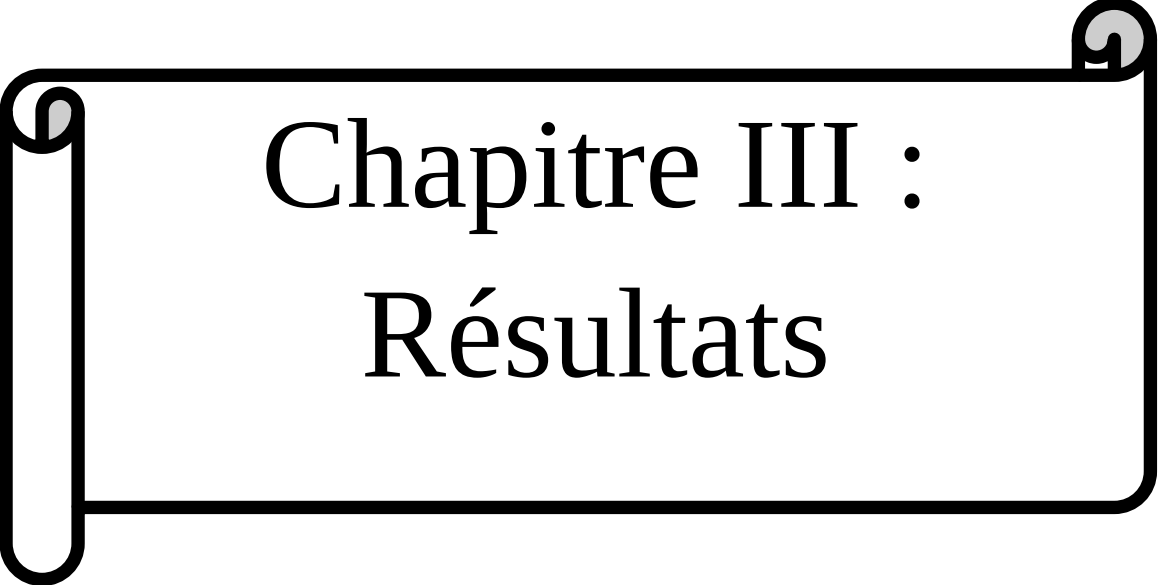


Figure 28 - Protocole de la PCR à temps réel (Originale, 2023)



Chapitre III : Résultats

Ce chapitre, englobe les différents résultats de l'évolution temporelle de deux types LC et LV recensées par la DSP de Tizi-Ouzou durant les dix dernières années 2013 - 2023, ainsi de la récolte des phlébotomes sur le terrain, et ceux des technique d'analyses (Hémoculture, les résultats des examens direct ainsi que les résultats des ponctions ganglionnaires effectués, examen sérologique «IFI», et moléculaire «PCR») , testés sur les différents prélèvements sanguins humains et canins adoptés au laboratoire d'Eco-épidémiologie parasitaire de l'institut Pasteur d'Algérie (IPA).

III.1. - Évolution temporelle des cas de LC et LV enregistrées entre 2013 et 2023 dans la Région de Tizi-Ouzou selon la DSP

III.1.1 - Évolution temporelle des cas de LC et LV au fil du temps

L'Évolution temporelle des cas de LC et LV enregistrés et notifiés par la direction de santé de Tizi-Ouzou au cours de la dernière décennie (2013 - 2023), est présentée dans le tableau 4.

Tableau 4 - Répartition des cas de LC et LV du 2013 au 2023

Années	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
LC	5	0	0	1	3	0	0	6	0	0	0
LV	0	1	1	0	0	2	2	1	0	0	1

Selon les résultats du tableau 4, l'année 2020 a connu le plus grand nombre de cas de LC avec 6 cas, suivi par l'année 2013 avec 5 cas ainsi que l'année 2017 avec 3 cas. 1 cas était enregistré en 2016, et aucun cas n'était enregistré pendant les autres années. Le nombre le plus élevé de cas de leishmaniose viscérale était enregistré en 2018 et 2019 avec 2 cas pour chaque année, suivi d'un seul cas pendant les années 2014, 2015, 2020 et 2023, et aucun cas n'était enregistré durant les autres années. De ce graphique (Fig. 29), le nombre de cas des deux maladies n'a pas évolué de la même façon, et nous en déduisons que la région de Tizi-Ouzou aura plus de cas de leishmaniose cutanées que viscérale entre 2013 et 2023.

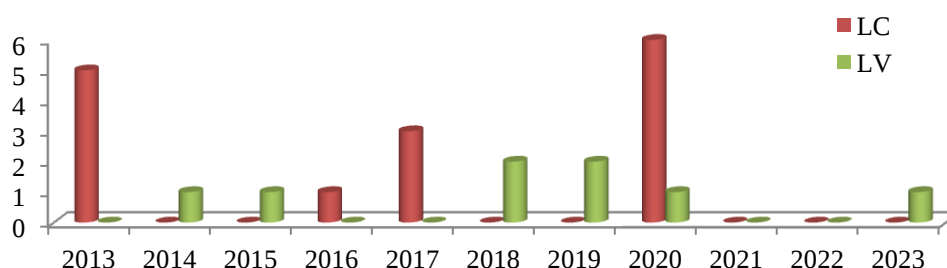


Figure 29 - Évolution temporelle de LC et LV au fil du temps (2013-2023)

III.1.2. - Évolution temporelle des cas de LC et LV selon les tranches d'âge

Le tableau suivant (Tab. 5) représente les résultats temporels des cas de la leishmaniose cutanée et viscérale recensée par la direction publique de la santé par tranches d'âge.

Tableau 5 - Répartition de cas de LC et LV en fonction d'âge.

Âges (ans)	[0-5[	[5-15[	[15-20[	[20-30[	[30-40[	> 40
LC	2	4	0	2	2	5
LV	1	3	0	3	0	1

La tranche d'âge qui a enregistré le plus grand nombre de cas de LC est celle de plus de 40 ans avec 5 cas, suivie par l'intervalle [5-15[avec 4 cas, ainsi que les intervalles [0-5[, [20-30[et [30-40[avec 2 cas chacune. La tranche d'âge qui varie de 15 à 20 ans n'a connu aucun cas. 3 cas de LV ont été enregistré pour les intervalles [5-15[et [20-30[, suivis par 1 cas pour la tranche d'âge de [0-5[et ceux supérieur à 40 ans, aucun cas n'était enregistré pour la tranche d'âge qui varie de 15 à 20 ans (Fig. 30).

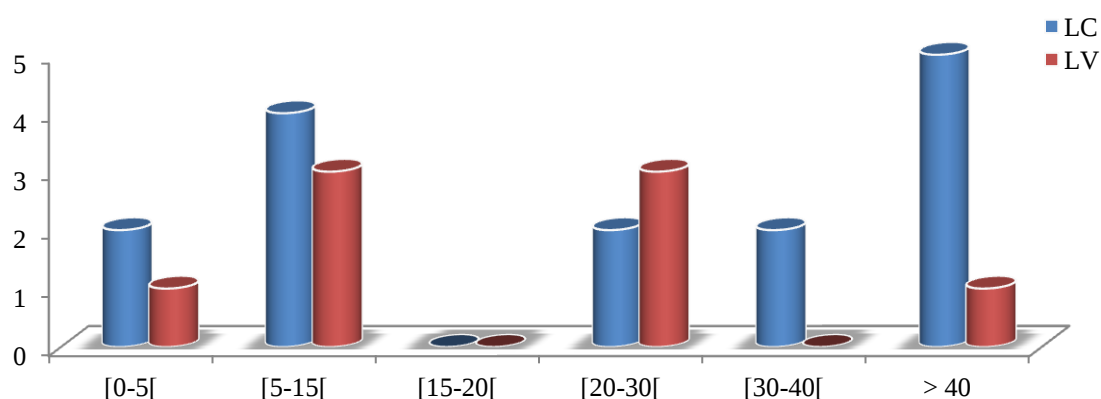


Figure 30 - Évolution des cas de LC et LV par tranches d'âge.

III.1.3. - Évolution temporelle de cas de LC et LV selon le sexe

Les variations temporelles des cas de la leishmaniose cutanée et viscérale en fonction du sexe lors de l'enquête sont figurées dans le tableau ci-dessus.

Tableau 6 - Répartition des cas de LC et LV selon le sexe

Sexe	LC		LV	
	Nombre	pourcentage	Nombre	Pourcentage
Femelle	1	7%	3	37%
Mâle	14	93%	5	63%

La répartition des cas de leishmaniose cutanée ventilés par sexe enregistrés par la DSP était de 1 cas pour les femelles et 14 pour les mâles soit un pourcentage de 7% et 93% respectivement (Fig. 31). Cependant, 3 cas de LV étaient enregistrés pour les femelles, ainsi que 5 cas pour les mâles soit un pourcentage de 37% et 63% respectivement.

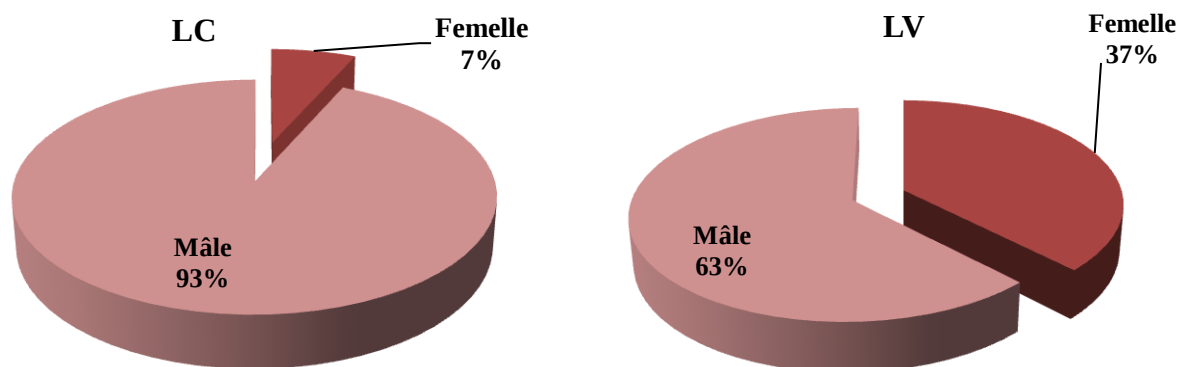


Figure 31 - Évolution temporelle de cas de LC et LV selon le sexe.

III.1.4. - Évolution temporelle des cas de LC et LV en fonction des communes

Le tableau 7 présente l'évolution temporelle des cas de LC et LV selon l'origine géographique durant la dernière décennie de 2013 à 2023.

Tableau 7 – Répartition des cas de LV et LC en fonction des communes

Communes	LC	LV	Total
Draa El Mizan	4	1	5
Boghni	1	0	1
Tizi Gheniff	0	1	1
Aïn El Hammam	1	0	1
Ain Zaouia	1	0	1
Tirmitine	0	1	1
Mechtras	0	1	1
Freha	1	0	1
Azeffoun	2	0	2
Draâ Ben Khedda	1	1	1
Bounouh	0	1	1
Tizi-Ouzou	2	0	2
Iferhounène	1	0	1
Ait Bouadou	1	0	1
Yakouren	0	1	1
Mizrana	0	1	1
Ait Oumalou	0	1	1

D'après les résultats du tableau 7, la répartition de la LC et LV était très variable sur le plan administratif d'une commune à l'autre. Le nombre le plus élevé de cas de la leishmaniose cutanée et viscérale était enregistré dans la commune de Draa El Mizan avec 5 cas, ensuite dans la commune d'Azeffoun et Tizi-Ouzou avec 2 cas pour chacune, tandis qu'un seul cas était signalé pour les autres communes rapportées par la DSP au cours de la dernière décennie de 2013 à 2023 (Fig. 32).

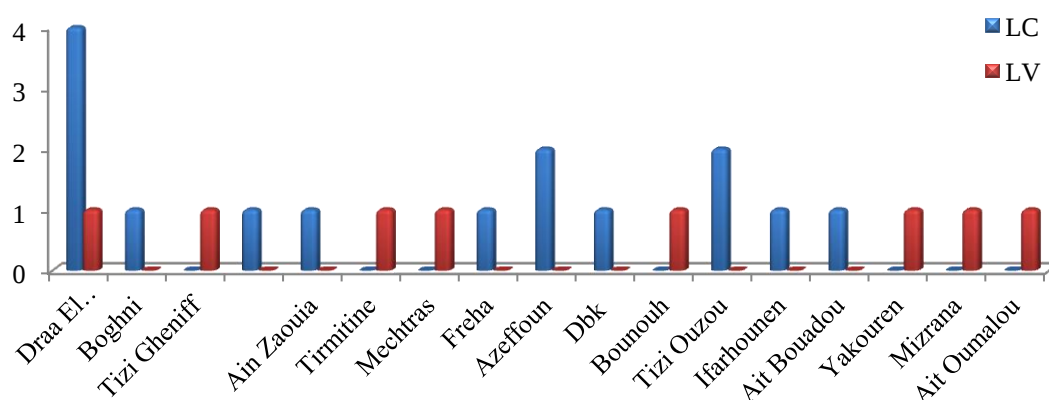


Figure 32 - Répartition des cas de LC et LV en fonction des communes.

III.2. - Résultats de capture des phlébotomes

Les résultats de la récolte des phlébotomes par la technique de pièges adhésifs dans les différents sites (Taboukirt, Mekla, Ain El Hammam, Timizart Loghbar, Tamda, Tizi Rached), au cours de l'étude effectuée pendant 4 mois (Novembre, Décembre, Février, Mars), englobant 478 spécimens, sont organisés dans le tableau 8.

Tableau 8 - Résultats des captures par pièges adhésifs sur une période de 4 mois au niveau des sites d'études.

Localités échantillonnées	Stations	Nombre de pièges		Nombre de spécimens récupérés		
		Déposés	Récupérés	Mâles	Femelles	Total
Tizi Rached	Station 1	9	9	26	23	49
Mekla	Station 1	25	22	26	114	140
Taboukirt	Station 1	30	25	92	140	232
Aïn El Hammam	Station 1	6	1	10	20	30
	Station 2	6	1			
	Station 3	6	5			
	Station 4	6	5			
Timizart Loghbar	Station 1	6	5	9	3	12
Tamda	Station 1	6	6	13	2	15
	Station 2	6	1			
Total	10	106	80	176	302	478

D'après les résultats du tableau.8 présentant la quantité totale de phlébotomes capturés par des pièges adhésifs, 478 phlébotomes ont été recensés sur 80 feuilles enduites d'huile de ricin. Les deux localités Taboukirt et Mekla ont recueilli un nombre élevé, avec respectivement 140 et 232 individus, ce pic est suivi d'une chute considérable qui atteint le nombre de 49 et 30 individus dans les localités de Tizi Rached et Aïn El Hammam, ainsi qu'un très faible nombre dans la région de Timizart Loghbar et Tamda avec 12 et 15 individus respectivement.

III.3. - Les résultats des prélèvements effectués sur le terrain

57 canidés et 8 individus ont subi des prélèvements sanguins, auxquelles nous avons employé plusieurs méthodes. Les conclusions de ces examens sont synthétisées dans la section suivante.

III.3.1. - Résultats d'hémoculture

III.3.1.1. - Sur milieu NNN

Concernant les 57 prélèvements de chiens, seuls 51 échantillons ont été cultivés sur les milieux NNN. Le tableau 9 résume le résultat final de la culture.

Tableau 9 - Résultats d'hémoculture après 4 semaines de contrôle

Écha.	Nbr. de prélèvements	1 ^{ère} Contrôle et repiquage	2 ^{ème} contrôle et repiquage	3 ^{ème} Contrôle ; repiquage	4 ^{ème} contrôle et repiquage	Contamination s	Résultats
Écha. 1	12	03/05/2023	11/05/2023	17/05/2023	23/05/2023	1	Négatifs
Écha. 2	1	10/05/2023	23/05/2023	28/05/2023	04/06/2023	0	Négatifs
Écha. 3	9	17/05/2023	24/05/2023	28/05/2023	04/06/2023	1	Négatifs
Écha. 4	16	20/05/2023	28/05/2023	04/06/2023	12/06/2023	2	Négatifs
Écha. 5	13	28/05/2023	04/06/2023	12/06/2023	18/06/2023	1	Négatifs

Écha. : Échantillon

Les résultats de culture en milieu NNN sur l'ensemble de 5 échantillons sont défavorables pour les 51 chiens analysés après quatre semaines de surveillance et repiquages, certains sont contaminés par des moisissures (Fig. 33), 2 prélèvement contaminé de l'échantillon 4, 1 seul pour les échantillons 1, 3 et 5, et aucun pour l'échantillon 2.

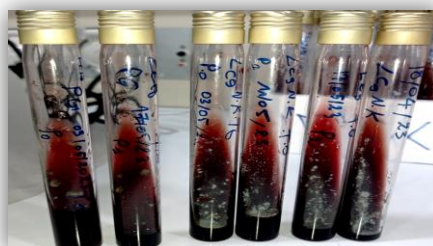


Figure 33 – Cultures en milieu NNN contaminé par des moisissures (Originale, 2023)

III.3.1.2. - Sur milieu SLC

Parmi ces 57 prélèvements effectués sur ces chiens, seuls les 9 canidés de l'échantillonnage 3 ont été cultivés sur le milieu SLC en raison d'une insuffisance de disponibilité. Les résultats correspondants sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 10 - Résultats de culture sur milieu SLC après 3 contrôles

Écha.	Nombre de prélèvements	1 ^{ère} contrôle et repiquage	2 ^{ème} contrôle et repiquage	3 ^{ème} contrôle	Contamination	résultat
Écha. 3	9	17/05/2023	24/05/2023	28/05/2023	1	Négatif

Écha. : Échantillon

L'inoculation sur milieu SLC était négative après 3 lectures et repiquages, 1 seul prélèvement était contaminé par des moisissures.

III.3.2. - Résultats des ponctions ganglionnaires

Le prélèvement de ganglions a été effectué sur des chiens présentant des symptômes et testés positifs à l'IFI, et ensuite cultivé sur deux milieux, SLC et NNN. Les résultats de la culture sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11 - Résultat d'ensemencement des ponctions ganglionnaire sur les milieux de culture NNN et SLC

Code	Sur Milieu NNN				Sur Milieu SLC				Résultats
	1er Contrôle et repiquage	2eme Contrôle et repiquage	3 eme Contrôle et repiquage	4 eme Contrôle	1er Contrôle et repiquage	2eme Contrôle et repiquage	3 eme Contrôle et repiquage	4 eme Contrôle	
LC 18	04/06/2023	12/06/2023	18/06/2023	25/06/2023	04/06/2023	12/06/2023	18/06/2023	25/06/2023	/
	Plus/ Moins	Positif	Positif +++++	Positif.	Négatifs	Négatif	contaminé	/	Positif
LC 57	12/06/2023	18/06/2023	25/06/2023	/	12/06/2023	18/06/2023	25/06/2023/	/	/
	Négatif	Négatif	Négatif	/	Négatif	Négatif	Négatif	/	Négatif

Les conclusions des deux prélèvements de ganglions cultivés sur milieu NNN étaient affirmatives pour l'un, avec une quantité importante de parasites lors de la deuxième lecture (Fig. 34), et négatives pour l'autre. En revanche, les deux cultures sur milieu SLC étaient négatives, bien qu'un tube ait été contaminé après le repiquage.

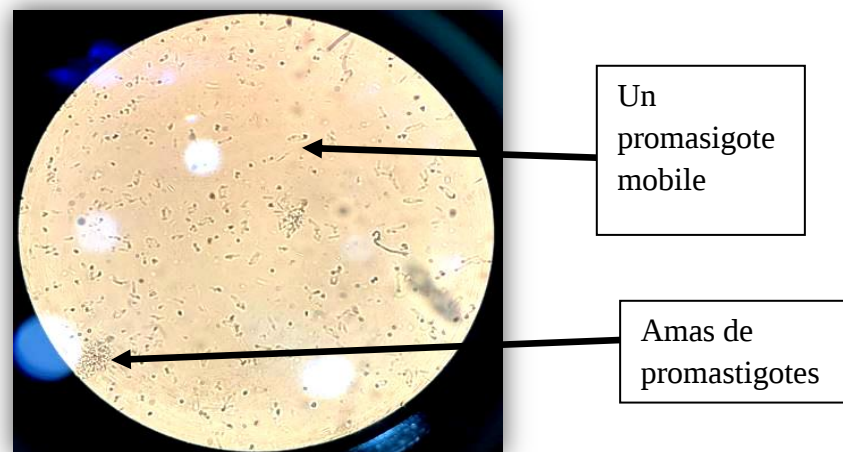


Figure 34 - Les formes promastigotes observé sous un microscope (Originale, 2023)

III.3.3. - Résultat d'examen direct

Au cours de notre série d'études, des grattages cutanés étaient appliquées sur deux chiens symptomatiques présentant des lésions cutanées, ensuite colorés au MGG. Les résultats sont récapitulés dans la section suivante :

Uniquement le test du chien 1 a donné un résultat positif suite à la coloration permettant de distinguer les amastigotes lors de l'observation sous la loupe binoculaire (Fig. 35), une forme amastigote était bien distincte. En revanche, l'autre test s'est avéré négatif, aucune forme d'amastigote n'ayant été détectée.

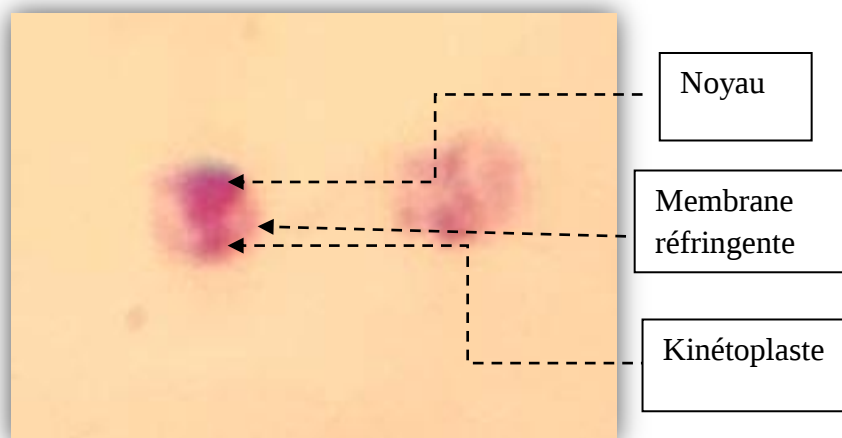


Figure 35 - Une forme amastigote observé sous une loupe binoculaire après coloration au MGG (Originale, 2023)

III.3.4. - Résultats d'immunofluorescence indirecte (IFI)

III.3.4.1. - Sérums des chiens

Dans le but de détecter des anticorps spécifiques, on a réalisé la méthode d'immunofluorescence indirecte sur 57 échantillons de sérum canin préalablement isolés avec des dilutions allant de 1/20 à 1/80. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 12.

Tableau 12 - Résultat d'immunofluorescence indirecte sur les chiens.

Nombre de sérums	+	Seuil de positivité		Pourcentage	Douteux	Seuil d'anticorps		Pourcentage
57	9	1/80	1/320	15,78%	14	1/20	1/40	24,56%
		8	1			13	1	

Parmi les 57 prélèvements analysées à l'aide de cette méthode, seuls 9 chiens ont été testés positifs et ont atteint le seuil de positivité à 1/80 (Fig. 36) (selon institut pasteur d'Alger IPA), ils ont révélés une fluorescence verte du corps et du flagelle du parasite (Fig. 37). Cependant l'un d'entre eux était diagnostiqué positif à un seuil de 1/320, ce qui équivaut un taux de 15,78 %, tandis que les 48 autres sérums étaient sérologiquement négatifs (Fig. 38), mais il y avait toutefois 13 sérums suspects au seuil de 1/20 et un autre au seuil de 1/40, ce qui représente un pourcentage de 24,56%. Tous les autres chiens étaient séronégatifs.

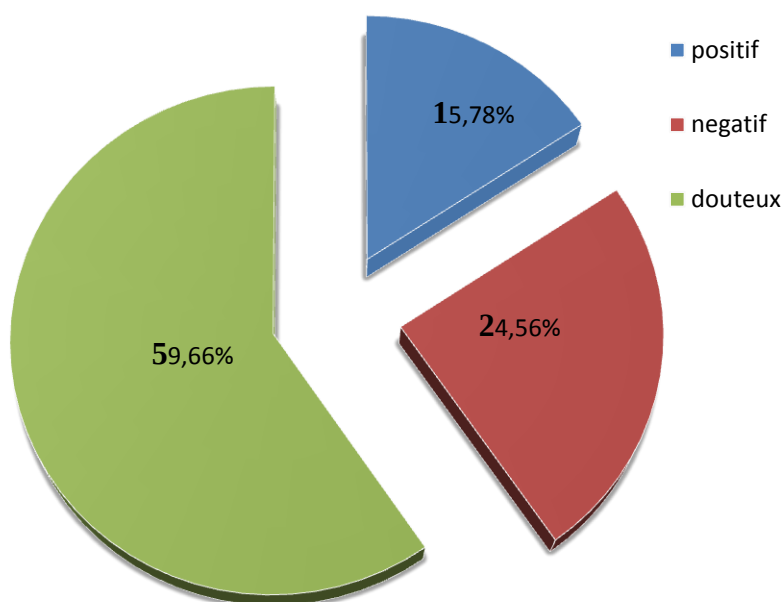


Figure 36 - Taux des résultats obtenus par la technique d'immunofluorescence indirecte

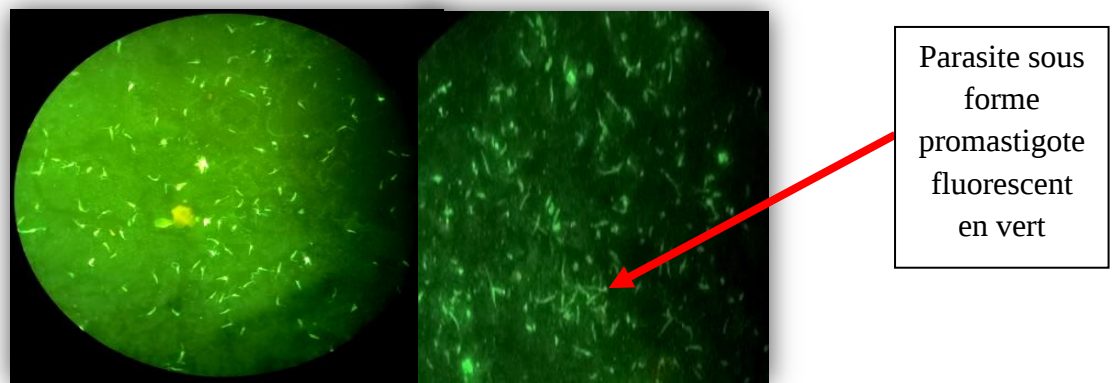


Figure 37 – Formes promastigotes observés sous microscope à UV après examen de sérologie (champ positif) (Originale, 2023)

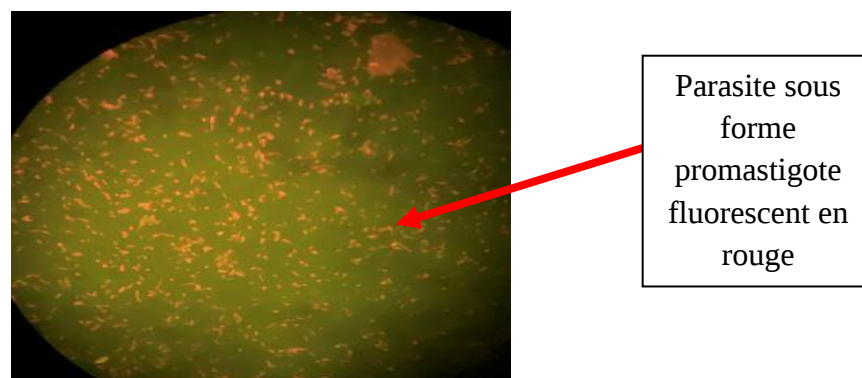


Figure 38 – Formes promastigotes observés sous microscope à UV après examen de sérologie (champ négatif) (Originale, 2023)

III.3.4.2. - Sérums des humains

Les conclusions relatives aux 8 échantillons de sérums humains soumis à l'analyse par la méthode d'immunofluorescence indirecte IFI sont exposées dans le tableau 13.

Tableau 13 - Résultat d'immunofluorescence indirecte sur les humains.

Nombre de sérums	Positifs	Négatifs	Douteux	%
8	0	6	2	25

Les 8 sérums humains testés par IFI se sont avérés négatifs, mais deux ont montré la présence d'anticorps au seuil de 1/20 et 1/40 soit un pourcentage de 25%. Les 6 autres étaient négatifs (Fig. 39).

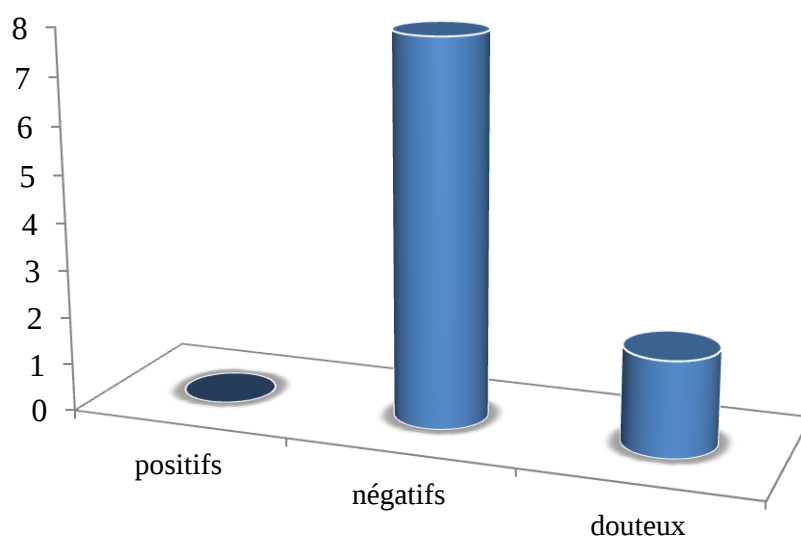


Figure 39 - Nombres de sérums humains positifs, négatifs ou douteux par IFI

III.3.5. - Résultat de la PCR classique et la Rt-PCR

Sur 65 ADN humains et canins, seulement 56 ADN ont été évalués par une PCR classique pour certains et une PCR en temps réel pour d'autres en raison de quelques erreurs pendant la manipulation.

III.3.5.1. - Résultat de la PCR sur l'ADN des chiens

Les résultats obtenus par PCR effectué sur 48 ADN de chiens sont regroupés dans le tableau 14.

Tableau 14 – Résultats de la PCR selon la race, l'âge, le sexe et la région des chiens

Code	Race	Âge	Sexe	Régions	Résultat	
LC1	Berger Allemand	7 ans	♀	Taboukirt	Négatif	
LC2	Askal	3 ans			Négatif	
LC3		10 ans			Négatif	
LC4		1 an			Négatif	
LC5	Berger Australien	8 mois			♂	Mekla
LC6	Askal	2 ans	Négatif			
LC7	Beagle	7 ans	Négatif			
LC8	Paria	3 ans	♀	Négatif		
LC9	Rotonero	3 ans				
LC10	Paria	5 ans				
LC11		6 mois	♂	Taboukirt	Négatif	
LC12	Bhagyari kutta	5 ans			Négatif	

LC13	Berger Allemand	3 mois			Négatif
LC14	Askal	1 an	♀	Mekla	Négatif
LC15	Paria	4 ans			Négatif
LC16		7 mois			Négatif
LC17	Berger			Taboukirt	Négatif
LC18	Pointer Anglais	4 ans	♂	Aïn El Hammam	Négatif
LC19	Chien loup	3 ans			Négatif
LC20	Beagle	7 ans			Négatif
LC21	Griffon bleu	18 mois			Négatif
LC22	Berger Suisse	3 mois			Négatif
LC23	Liverni Griffon	6 ans			Négatif
LC24	Malinois	2 ans		Négatif	
LC25	Chien de chasse	4 ans		Aïn El Hammam	Négatif
LC26	Batard				Négatif
LC27	Épagneul Breton	5 ans			Négatif
LC28	Berger	1 an		♀	Timizart Loghbar
LC29	Malinois		Aïn El Hammam		Négatif
LC30	Big croisé	3 ans			Négatif
LC31	Berger blanc Suisse	2 ans	Timizart Loghbar		Négatif
LC32	Paria				Négatif
LC33	Griffon bleu	8 mois	♂	Aïn El Hammam	Négatif
LC34	Malinois	3 ans	♀	Timizart Loghbar	Négatif
LC35	Berger Allemand	1 an	♂		Négatif
LC36		4 mois	♀		Négatif
LC40	Beagle	2 ans	♂	Aïn El Hammam	Négatif
LC45	Pointer Anglais	3 ans	♀	Tizi Rached	Négatif
LC46	Malinois	2 ans	♂		Négatif
LC47	Pointer	18 mois			Négatif
LC48	Griffon	5 ans	♀		Négatif
LC49	Pointer		♂		Négatif
LC50			♀		Négatif
LC51			♂		Négatif
LC53	Berger	2 ans	♂	Draa El Mizan	Négatif
LC54		1 an	♀		Négatif
LC55		8 ans	♂		Négatif
LC57	Griffon bleu	2 ans		Hammam	Négatif

♂: mâle ; ♀: femelle

Les résultats de la PCR classique ou en temps réel se sont avérés négatifs pour tous les chiens de différents sexes, âges, races et régions, aucun ADN parasite n'a été détecté (Fig. 40), (Fig. 41).

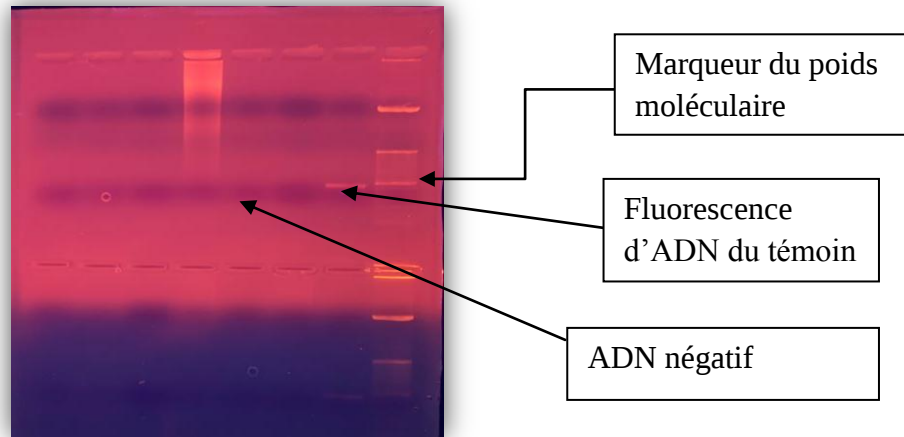


Figure 40 – Résultat d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose (Originale, 2023)

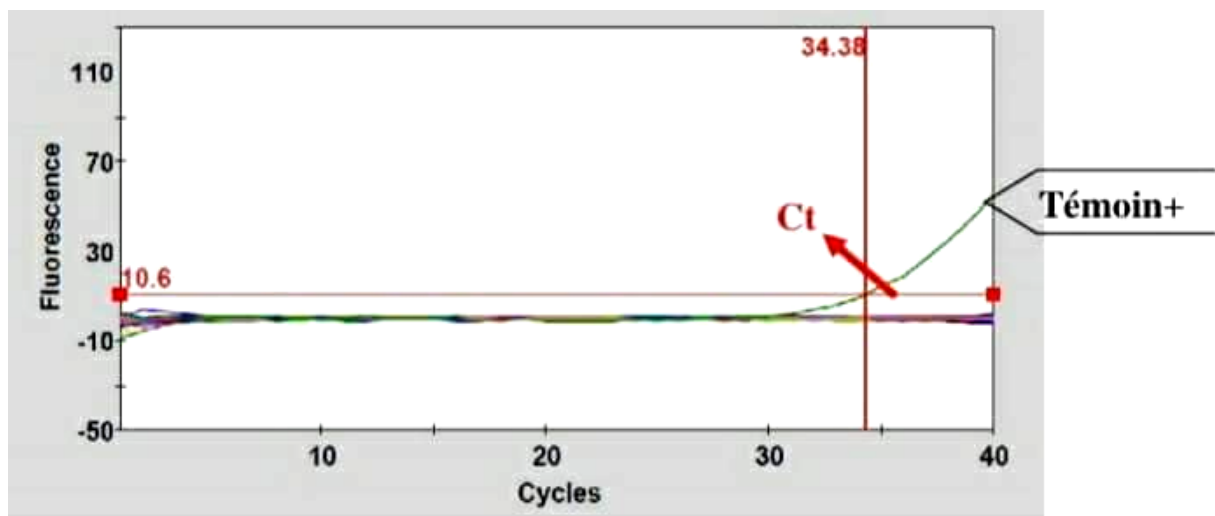


Figure 41 – Résultat de la PCR en temps réel (Originale, 2023)

Parmi ces 48 chiens testés négatif à la PCR, certains possèdent des signes cliniques de leishmanioses telles que l'amaigrissement, allongement des griffes et des lésions cutanées, il s'agit des chiens LC18, LC45, LC47 et LC 57.

LC18 : s'agit d'un chien originaire de Aïn El Hammam, âgé de 4 ans possédant des symptômes suivant (Amaigrissement, des lésions cutanées, dépilation du visage et un allongement de griffes) (Fig. 42)



Figure 42 – Signes clinique du chien LC 18(Originale, 2023)

LC45 :s'agit d'un chien originaire de Tizi Rached, âgé de 3 ans et possédant des signes clinique (Amaigrissement avec un aspect d'un vieux chien et allongement de griffes) (Fig. 43)



Figure 43 – Signes cliniques du chien LC45 (Originale, 2023)

LC 47 : s'agit d'un chien de 18 mois originaire de Tizi Rached, il présente des signes cliniques (Amaigrissement et lésion cutanéomuqueuse) (Fig. 44)

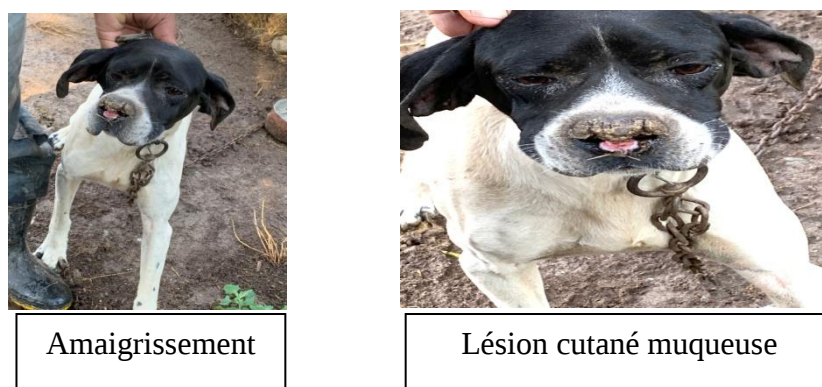


Figure 44 – Signes clinique de chien LC47 (Originale, 2023)

LC57 : s'agit d'un chien originaire de Aïn El Hammam, âgé de 2 ans présentant des symptômes cliniques (Amaigrissement, allongement de griffes, et une perte de poils) (Fig. 45).



Figure 45 – Signes cliniques de chien LC57 (Originale, 2023)

III.3.5.2. - Résultat de la PCR sur l'ADN des humains

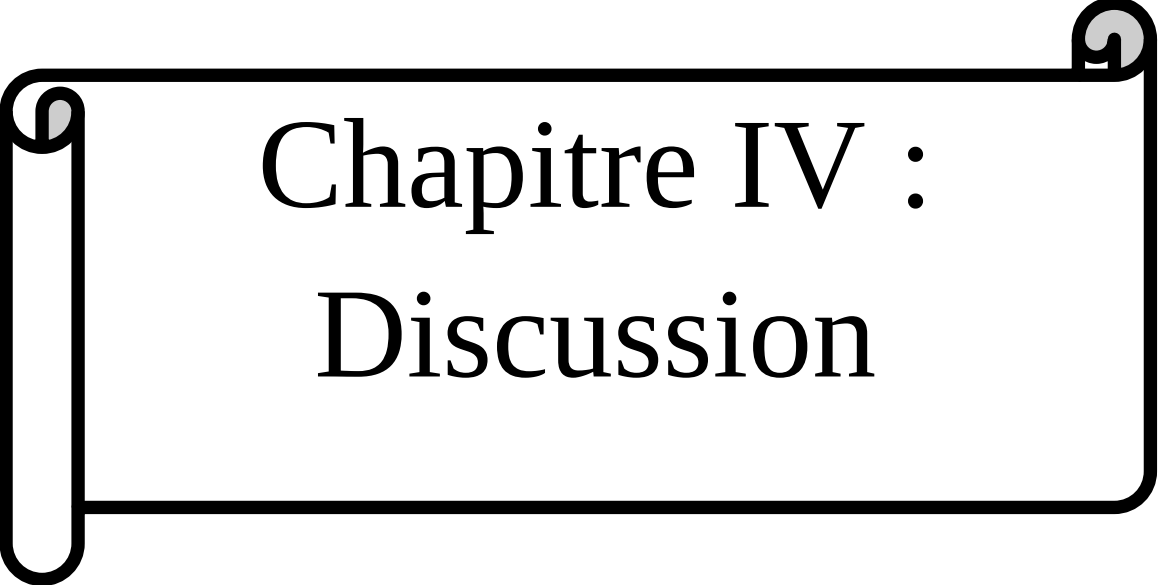
8 ADN des humains ont été procédés à une PCR standard, les résultats de ces derniers sont organisés dans le tableau 15

Tableau 15 – Résultats de la PCR standard des ADN des humains

Code	Origine	Sexe	Résultat
LH1	Taboukirt	♀	Négatif
LH2	Taboukirt	♀	Négatif
LH3	Taboukirt	♂	Négatif
LH4	Mekla	♀	Négatif
LH5	Makla	♂	Négatif
LH6	Aïn El Hammam	♂	Négatif
LH7	Aïn El Hammam	♂	Négatif
LH8	Tizi-Ouzou	♀	Négatif

♂ : mâle ; ♀ : femelle

Les conclusions de la PCR classique sur l'ADN de 8 humains de sexes différents sont avérés négatifs aucun ADN du parasite a été détecté.



Chapitre IV : Discussion

Ce chapitre analyse les résultats de l'enquête menés sur le nombre de cas de LC et LV enregistrés par l'autorité de santé publique (DSP) au cours de la période 2013-2023, en examinant leur évolution annuelle, leur répartition selon l'âge, le sexe et l'origine géographique, ainsi que la discussion des résultats des différentes techniques (hémoculture, examen direct, IFI, PCR) utilisées pour tester les prélèvements sanguins humains et canins.

IV.1. - Discussion des résultats des fluctuations temporelles des LC et LV

IV.1.1. - Évolution des cas des deux types de leishmaniose humaine (LC et LV) dans la région de Tizi-Ouzou

Selon notre étude, nous avons remarqué qu'entre 2013 et 2023, le nombre de cas de leishmaniose cutanée enregistrés dans la région de Tizi-Ouzou est de 16 cas. Si nous comparons ce chiffre avec le nombre de cas enregistrés au cours de la dernière décennie (de 2007 à 2017), qui s'élève à 69 cas selon les résultats obtenus par **Sahraoui & Abed, (2017)**, ainsi que les 104 cas enregistrés par les services de santé du département de Tizi-Ouzou entre 2005 et 2010 (**Mouloua, 2014**), dans la présente étude, on constate une importante diminution par rapport aux années précédentes. Deux sommets ont été observés 5 et 6 pour les années 2013 et 2020 respectivement, seulement 3 incidents ont été notifiés en 2017 et aucun incident à partir de 2020. Cette diminution est notable avec variation du nombre d'incidents d'année en année. Cette réduction serait liée aux mesures prophylactiques appliquées par la DSP de la région.

La région de Tizi-Ouzou, localisée en Kabylie, dans la partie nord de l'Algérie est réputée depuis longtemps comme étant le foyer le plus dynamique de la leishmaniose viscérale dans ce pays. Le nombre de cas de LV rapporté durant la période de 2013-2023 est de 8 cas. En revanche, des résultats plus élevés ont été observés par d'autres auteurs dans la même région, un nombre de 128 cas rapporté par **Kahil & Ait Idir** du 2005 à 2015, 26 cas enregistrés par **Mouloua & Harrat (2017)**, et 21 cas observés par **Sahraoui & Abed, (2017)**. Une nette diminution durant ces dix dernières années est remarquable, et cela pourrait être lié aux mesures rigoureuses (pulvérisation d'insecticides, capture des chiens errants) que les autorités locales ont mises en place afin d'éradiquer cette zoonose.

IV.1.2. – Évolution des cas de LC et LV en fonction de l'âge

Dans notre étude, la catégorie d'âge la plus touchée par ces deux types de leishmaniose était les jeunes de 0 à 14 ans, avec un taux de 43% sur l'ensemble des cas. Ceci a également été observé dans la région de Hodna en Algérie entre 1995 et 2005 concernant

cette catégorie d'âge avec un pourcentage de 70% de cas de LC (**Cherif, 2014**). Ces résultats sont également similaires à ceux trouvés par **Barchiche et al., (2009)** qui confirment que les enfants paient le plus lourd tribut, car ils ne sont pas immunisés et sont plus exposée au risque de la piquûre des insectes, contrairement aux adultes ayant développé une résistance à la maladie, en raison de leur exposition antérieure au parasite.

IV.1.3. – Évolution des cas de LC et LV en fonction du sexe

La maladie affecte indifféremment les deux sexes, mais nous avons observé au cours de notre enquête à la DSP de Tizi-Ouzou au cours de la dernière décennie de 2013 à 2023, une nette prédominance de l'atteinte masculine avec 14 cas pour les affections cutanées et 5 cas pour les affections viscérales, ce qui correspond aux résultats obtenus par **Barchiche et al., (2009)** pendant la période de 1999 à 2007. En revanche, nos résultats sont en désaccord avec l'étude menée par **Sahraoui & Abed, (2017)**, pendant la période de 2007-2017 où le nombre de cas de leishmaniose enregistrées est le même chez les deux sexes. plusieurs études montrent une prédominance masculine qui peut être expliquée par l'exposition plus fréquente des hommes aux piquûres de phlébotomes due au fait que l'homme portent souvent des vêtements très peu couvrants et est actif dans les foyers de LC, principalement dans les zones urbaines et périurbaines qui forme une habitation insalubre favorable à la transmission de la maladie.

IV.1.4. – Répartition des cas de LC et LV par communes

La distribution des cas de la LC et LV est clairsemée dans toutes les régions de la Kabylie où la leishmaniose sévit de façon endémique. Par ailleurs, un écart important est observé au niveau de la prévalence de l'infection entre des zones géographiquement très proches. La localité de Draa El Mizan apparait la plus touchée avec 5 cas au cours de 2013 à 2023, qui pourrait être considérée comme foyer classique des leishmanioses humaines. Cela pourrait s'expliquer par le fait que c'est une localité située dans des régions où le terrain est propice au déroulement du cycle parasitaire de LC et LV conjoignant la présence de réservoir naturel et de vecteur transmetteur de la maladie. Ceci est similaire aux 80 cas de leishmaniose humaine évalués pour la seule dépression de Draa El Mizan, rapporté par **Mouloua et al., (2017)**, entre 2005 et 2010. Un maximum de cas de LC a été également déclaré dans la région de Draa El Mizan entre 2007 et 2014 d'après **Bourdache & Toumi (2015)**.

IV.2. - Discussion des résultats d'ensemencement sur milieux NNN et SLC

Parmi les résultats d'inoculation sur les milieux NNN et SLC testés sur les 53 échantillons canins (prélèvement sanguins et prélèvement ganglionnaires), après une surveillance de 4 semaine, une seule culture sur milieu NNN du suc ganglionnaire a révélé un résultat positif lors des 4 contrôles. Cette culture a révélé la présence des formes promastigotes mobiles qui sont regroupées en amas avec une forte charge parasitaire, malgré la sensibilité des milieux NNN et les conditions de réalisation de l'examen. En effet, la ponction ganglionnaire garde un certain nombre d'avantages, comme la rapidité du diagnostic et son caractère moins invasif. Il s'agit d'une souche provenant d'un chien male de race pointer anglais âgé de 3 ans, de la région de Ain El Hammam. L'animal présentait une IFI positive au taux de 1/320, l'examen direct était également positif et cliniquement, il présentait des signes de perte de poils, des lésions cutanées et un allongement de griffes(Fig.40). Ses résultats sont similaires à ceux trouvés par **Mouloua et al., (2020)** et ceux trouvés par **Bessad en 2007**, ainsi que le rapport fait par **Mezai en 2011** à l'institut Pasteur d'Alger qui a révélé deux cultures positives de suc ganglionnaire prélevé chez des chiens. Les autres cultures étaient négatives, ceci peut être expliqué par les conditions non optimales des prélèvements faits sur le terrain, la quantité du sang prélevé ainsi que d'éventuelles difficultés de croissance de certaines souches de leishmanies. Ces résultats sont en désaccord avec les résultats obtenus par **Chargui et al., en 2009**, 3 souches ont été testés positifs en Tunisie.

Cependant, certains ensemencements étaient infectés car comme toutes les cultures, celles de leishmanies font face aux problèmes de contamination(Fig.33). En effet, le milieu NNN, riche en nutriments et propice à la prolifération des bactéries et des moisissures, l'utilisation systématique d'antibiotiques et d'antifongiques au besoin n'ont pas toujours suffi pour éviter ou enrayer ces contaminations (**Chouihi et al., 2008**).

IV.3. - Discussion des résultats des frottis dermiques

Parmi les deux frottis réalisé à partir des lésions cutanées des chiens symptomatique, un seul était positif et a confirmé le diagnostic en révélant la présence du parasite sous forme d'amastigote en extra macrophagique après coloration au MGG, cette positivité est renforcé par d'autres examens (sérologie et ponction ganglionnaire). L'autre n'a manifesté aucune apparence, il était défavorable et cela peut être attribué à la manière dont le frottis a été réalisé et ceci est lié à la mobilité du chien lors du raclage. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par **Dantas-Torres et al., en 2010** en Brésil, 1 examen positif pour les amastigotes de *Leishmania* était identifié parmi 3 grattages.

IV.4. - Discussion des résultats de l'immunofluorescence indirecte

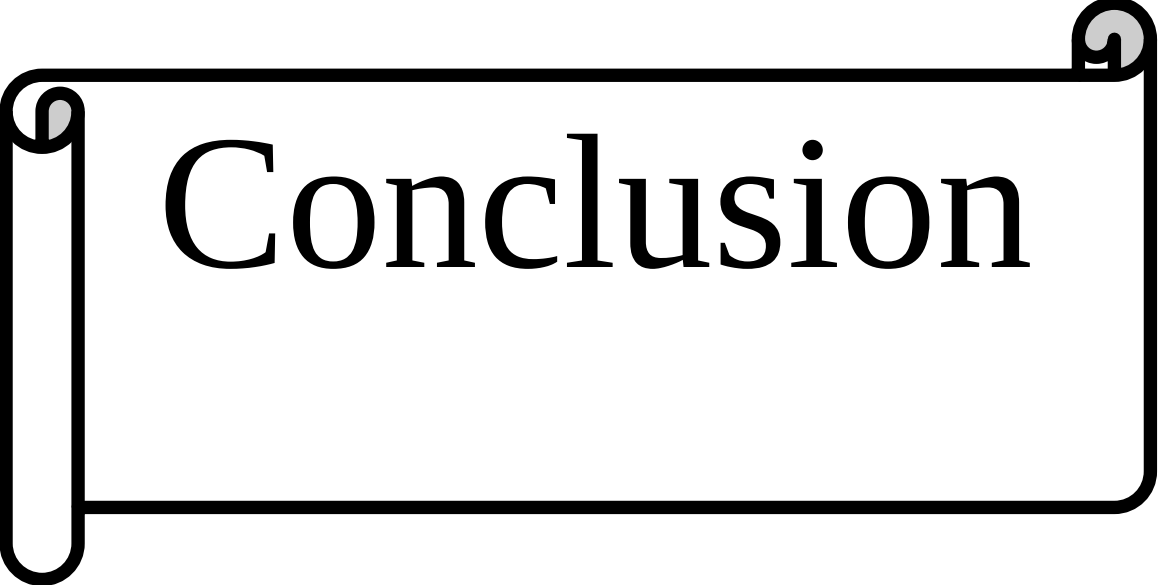
Sur l'ensemble de 57 échantillons de sérums canins, 9 chiens ont été testés positifs à des dilutions égales ou supérieures à 1/80 (Seuil établie par l'IP d'Alger pour l'examen d'IFI), en observant des formes promastigotes fluorescentes de couleur vertes (résultats de formation du complexe AG-AC). Cela indique la présence d'anti *Leishmania* dans les sérums testés, ce qui représente un taux de séropositivité de 15,78%. Ce taux est plus élevé aux résultats diagnostiqués par **Mouloua et al., en 2020** avec un pourcentage de 10,13%, encore plus élevé que ceux trouvés par **Bessad en 2007** (9,17%), et ceux trouvés par **Mezai en 2011** à l'IPA (10%), ainsi qu'au 11,9% trouvés en Tunisie par **Chargui et al., en 2009**. un taux très faible (4,2%) a été signalé en 2010 par **Dias et al., en Brésil**. Il faut signaler que parmi ces 57 sérums canins, 24,56% ont révélés des taux d'anticorps anti *Leishmania* à des dilutions de 1/20 ou 1/40, et sont considéré comme douteux. Ces résultats demeure assez loin de ceux diagnostiquées par **Mouloua en 2014** (13%) et ceux trouvés par **Mouloua et al., (2020)** (18,1%). Parmi ces chiens séropositifs, certains présentent des signes cliniques telles que l'amaigrissement, la perte de poiles et des lésions cutanées et d'autres n'ont exprimé aucun signe clinique de leishmaniose. Ce résultat confirme que le portage asymptomatique est très important au sein des foyers endémiques. Il est de 60% d'après l'étude faite par **Mouloua en 2014**.

Concernant les 8 sérums humains, 2 ont été issu de deux individus hospitalisé au niveau du service infectieux au CHU de Tizi-Ouzou, l'un a révélé des anticorps anti *Leishmania* à une dilution de 1/40, il s'agit d'un homme originaire de Ain EL Hammam, âgé de 48 ans diagnostiqué positif à la leishmaniose viscérale et suivant un traitement pendant son hospitalisation, cette faible quantité d'anticorps est causée par l'infection de ce patient par le VIH, ce qui l'empêche de produire une quantité importante d'anticorps anti *Leishmania*, et l'autre a été testé négatif en IFI, ce qui confirme son rétablissement après son hospitalisation. Les 6 autres sont les propriétaires de refuges canins, une femme a révélé des anticorps anti *Leishmania* à 1/20 car elle était déjà atteinte de la leishmaniose cutanée il y a 2 ans, ce qui explique la présence du complexe AG-AC à 1/20. Tous les autres individus ont été testés négatifs. Aucun travail similaire n'a été trouvé.

Après un échantillonnage de 3 mois, on constate une séroprévalence moyenne, soit de 25%. Elle est faible par rapport aux travaux précédents dans la région, ceci pourrait être dû à la courte durée d'échantillonnage, ainsi qu'aux résultats de la stratégie de lutte intégré ciblant les différents maillons du cycle épidémiologique adopté par la wilaya de Tizi-Ouzou.

IV.5. - Discussion des résultats de la Rt PCR et la PCR classique

En addition aux épreuves pratiqués sur les 57 canidés, une étude de l'ADN *Leishmania* via la technique PCR (Rt PCR et PCR classique) a été effectuée sur 48 chiens et 8 humains choisies aléatoirement, sans tenir compte de leurs provenances, leurs apparences cliniques ou de leur diagnostic sérologique. Les résultats de ces derniers se sont tous avérés négatifs, et cela peut être expliquer par le fait que cette technique est très sensible et spécifique, ainsi que par d'éventuelles erreurs de manipulation lors de l'extraction de la couche leucocytaire des échantillons sanguins contenant l'ADN, ainsi qu'un excès du sang qui joue un rôle d'inhibiteur de la PCR. Ces résultats sont très loin de ceux trouvés par **Mouloua et al., (2020)**, sur 106 chiens prélevés 67 ont été positifs avec un taux de 63,2%, un taux de 20,9% de cas positifs signalés par **Chargui et al., (2009)** en Tunisie, et ceux trouvés par **Mihoubi et al., en 2012**, sur 108 prélèvements humains 38 ont été positifs, ainsi que le pourcentage de 80,5% de cas humains positifs signalés par **Djezzar en 2006**.



Conclusion

La leishmaniose représente un enjeu de santé publique de grande ampleur, car elle est plus répandue que l'on pensait et est connue depuis longtemps en Algérie. La grande Kabylie est depuis longtemps identifiée comme une région très touchée par cette maladie zoonotique à l'échelle régionale. Notre travail nous a permis d'évaluer la situation selon la DSP de Tizi-Ouzou pour cette maladie transmise de l'animal à l'homme. Nos résultats indiquent nettement que le nombre de cas de leishmaniose humaine enregistrée dans la région de Tizi-Ouzou entre 2013 et 2023 ont diminué par rapport aux études épidémiologiques précédentes. Cette baisse s'explique par l'impact du programme national de la lutte contre les leishmanioses, que ce soit en ciblant les vecteurs ou les réservoirs.

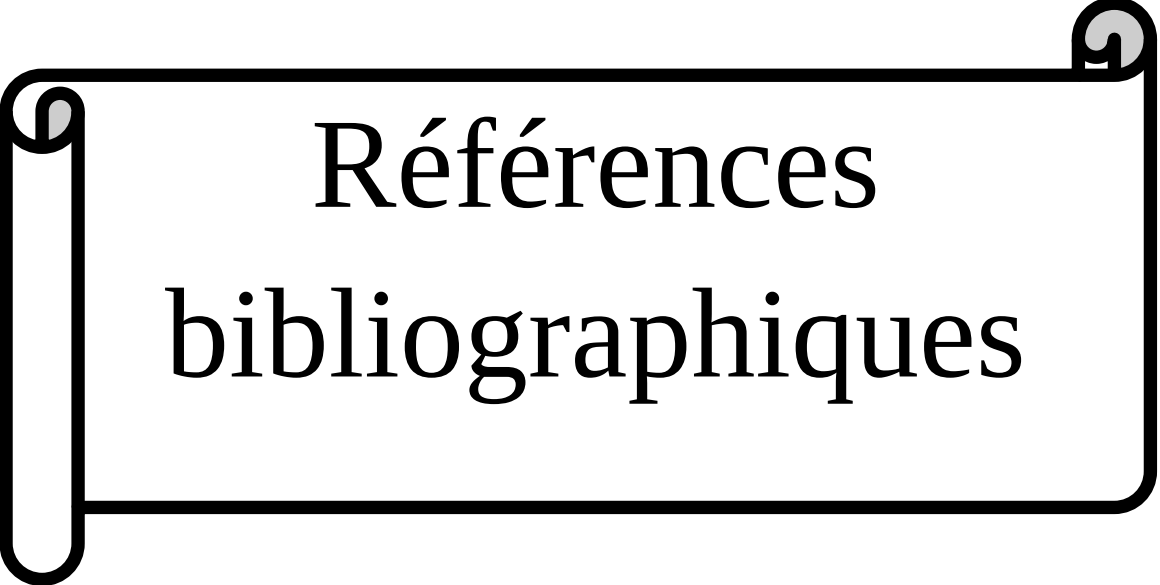
En ce qui concerne la distribution selon les groupes d'âge, la variante cutanée de la leishmaniose affecte principalement les individus âgés de plus de 40 ans, tandis que les enfants de moins de 14 ans sont plus enclins à développer les deux formes viscérales et cutanées. En ce qui concerne la distribution selon le genre, les deux sexes sont touchés, mais on observe une prédominance chez les hommes. Pour la répartition géographique de la LC, un grand nombre de cas ont été recensés dans la municipalité de Draa El Mizan. En revanche, pour la LV, le nombre enregistré est faible, il ne dépasse pas 1 cas par an au cours de cette dernière décennie de 2013 à 2023 dans les diverses régions de la préfecture de Tizi-Ouzou.

Notre recherche s'est concentrée sur le profil épidémiologique de la leishmaniose et ses caractéristiques dans l'un des foyers les plus dynamiques de cette maladie. Elle a été réalisée sur 57 chiens et 8 individus à l'aide de diverses analyses et méthodes de diagnostic biologique les plus couramment utilisés au laboratoire. Il s'agit de l'examen direct à la recherche d'amastigotes de *Leishmania* dans les frottis réalisés, l'hémoculture à la recherche des promastigotes de *Leishmania* à partir des ensemencements de couches leucocytaires et des ponctions ganglionnaires sur des milieux d'isolement, la sérologie (IFI) pour rechercher des anticorps dans les sérums analysés, suivi d'une PCR pour la recherche de l'ADN Leishmanien.

L'étude prospective nous a permis de mettre en évidence la présence des chiens atteints de la leishmaniose (9 chiens séropositifs parmi 57) avec un taux d'infection de 15,78% et de prouver la présence du réservoir canin dans le foyer de Tizi-Ouzou, tandis que les 9 humains étaient indemnes.

Les autres tests tels que l'hémoculture et l'examen direct étaient favorables avec 1 positif à l'hémoculture d'une ponction ganglionnaire et 1 pour l'examen direct. En revanche tous les résultats de la PCR étaient négatifs.

Nous recommandons que ces résultats soient confirmés par d'autres études plus approfondies dans cette région endémique en analysons d'autres localités et sur une période plus longue allant de 6 mois à un an, afin de déterminer précisément la fréquence de cette infection. Pour cela, il est vital aux autorités sanitaires de la région de Tizi-Ouzou de procéder à la surveillance et la sensibilisation de la population vis-à-vis des symptômes de la leishmaniose et l'abattage des chiens errants et infectés. Il est également essentiel de suivre régulièrement la situation épidémiologique des maladies transmises par vecteur et d'effectuer un suivi biologique des patients, en encourageant une étroite collaboration entre biologistes, épidémiologistes et cliniciens.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abonnenc E., (1972)** - Les phlébotomes de la région Ethiopienne (Diptéra, Psychodidae). Editions de l'office de la recherche scientifique et technique Outre-mer (Mémoire ORSTOM) Paris, 290 pages.
2. **Acebey C., (2007)** - Caractérisation de terpènes anti-leishmanies isolés par bioguidage d'une plante bolivienne *Hedyosmum Angustifolium* (Ruiz& Pavon) Solms. Thèse Doctorat. Université de Toulouse. Ecole Doctorale : Sciences de la Matière, 255 pages.
3. **Ait Idir M. S., Kahil S., (2016)** - Contribution à l'étude des phlébotomes (Diptera : Psychodidae) dans les régions de Illoula-Oumalou et Beni-Zmenzer (Tizi-Ouzou).Mémoire Master. Université Mouloud Mammeri. Faculté des Sciences Biologique et Sciences Agronomiques, 96 pages.
4. **Akhoundi M., Khls K., Cannet A., Votypka J., Marty P., Delaunuy P., Sereno D., (2016)** - A historical overview of the classification volution, and dispersion of leishmania parasites and sandflies. Plos Meglected Tropical Diseases, 1-40.
5. **Aronson N. E., Magill A. J., (2020)** - Leishmaniasis. Médecine Tropicale de Hunter et maladies infectieuses émergentes (dixième édition), 776-798.
6. **Bachi F., (2006)** - Aspects épidémiologiques et cliniques des leishmanioses en Algérie. la lettre de l'infectiologue. Service de biologie parasitaire, Institut Pasteur d'Algérie.
7. **Barchiche N. A., Madiou M., (2009)** - Recrudescence des leishmanioses cutanées: à propos de 213 cas dans la wilaya de Tizi-Ouzou. Pathologie Biologie 57, 65-70.
8. **Basset D., Pratlong F., Ravel C., Puchberty J., Dereure J., Dedet J.P., (2001)** - Les leishmanioses déclarées en France en 1999. Bulletin épidémiologique hebdomadaire (BEH) n° 05.
9. **Belazzoug S., (1991)** - Les phlébotomes d'Algérie. Parasitologie, 33 :85-7.
10. **Belkaid M., Harrat Z., Partlong F., Bellazzoug S., Dereure J., Deniou M., Rioux J.A., Dedet J.P., (1996)** - *Leishmania infantum* and *L. major* in Algeria. Transactions of Royal Society Tropical Medicine and Hygiene, 625-629.
11. **Belkaid M; Zenaid N; Tabet-Derraz O., Hamrioui B., (1992)** - Cours de parasitologie (tome 1 Protozooses). Edition des publications universitaires (Département Médecine et Pharmacie) Algérie.

12. **Benelmouffok A B., Sellami M., Boughoufalah A., (2017)** - Bilan quadriennal (2008-2011) de la leishmaniose cutanée en Algérie. *Médecine et Santé Tropical* 27 : 310-314.
13. **Bennai K., (2018)** - Surveillance et contrôle des leishmanioses dans le nord de l'Algérie. Thèse Doctorat, Université M'Hamed Bougara, Boumerdes. Faculté des sciences, 164 pages.
14. **Berdjane- brouk Z., Charrel R N., Bitam I., Hamrioui B., Izri A., (2011)** - Record of *phlebotomus* (Transphlebotomus) *Mascitti Grassi*, 1908 and *Phlebotomus* (Larroussius) *Chzdlli Rioux*, Juminer & Gibily, 1966 Female in Algeria. *Parasite*, 18, 337-339.
15. **Bessad A., (2007)** - La leishmaniose canine en Algérie : Contribution a l'étude épidémiologique du foyer de la grande Kabylie. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire, Université Saad Dahleb de Blida. Faculté des Sciences Agro-vétérinaires, 90 pages.
16. **Bessad A., Mouloua K., Kherrachi I., Benbetka S., Benikhlef R., Mezai G., Harrat Z., (2012)** - *Leishmania infantum* MON-1 isolé d'un chacal doré (*Canis aureus*) en grande Kabylie (Algérie). *Bull. Soc. Pathol. Exot* 105: 5-7.
17. **Boni M., Davoust B., Dereure J., (1999)** - Intérêt des techniques de laboratoire dans le diagnostic de la leishmaniose canine. *Revue Française des Laboratoires*, 33-38.
18. **Bouchery M., (2007)** - Soins des leishmanioses dans le sud du HONDURAS une alternative : Clematis Dioica, Université de Lille 2. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 177 pages.
19. **Boudrissa A., (2014)** - Etude éco-épidémiologique de la leishmaniose cutanée du sud de l'Algérie. Thèse Doctorat. Université Ferhat Abbas-Sétif 1. Faculté des Sciences de la Nature de la Vie, 189 pages.
20. **Bounamous A., (2010)** - Bio-systématiques et caractérisation par la biologie moléculaire des phlébotomes de l'est d'Algérie. Thèse Doctorat. Université Mentouri de Constantine. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 302 pages.
21. **Bourdache K., Toumi N., (2015)** - Etude épidémiologique des leishmanioses humaines à *Leishmania infantum* en Kabylie entre 2007 et 2014. Mémoire Master. Université Mouloud Mammeri. Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques 57 pages.
22. **Boussa 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 leur population. Université louis Pasteur Strasbourg 1. Faculté des Sciences, Marrakech, Maroc, 181 pages.
23. **Chargui N., Haous N., Gorcii M., Lahmar S., Guesmi M., Ben Abedelhafidh A., Mezhoud H., Babba H., (2009)** - Use of PCR, IFAT and in vitro culture in the dedection of *Leishmania infantum* infection in dogs and evaluation of the prevalence of canine leishmaniasis in a low endemic area in Tunisia. *Parasites* 16: 65-69.
 24. **Chatghaf B., (2017)** - Distribution spatio-temporelle de la leishmaniose en Tunisie et dans le bassin méditerranéen : apport de la géomantique. Thèse Doctorat. Université de Sherbrooke. Faculté des lettres et science humaines, 105 pages.
 25. **Chavy A., Nabet C., Normand A.C., Kocher A., Ginouves M., Ghislaine P., Dos Santos T .V., Demar M., Piarroux R., Benoit T., (2019)** - Identification of French Guiana sandflies using MALDI-TOF mass spectrometry with a new mass spectra library. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 1-19.
 26. **Cherfi K., (2014)** - Etude épidémiologique de la leishmaniose cutanée dans le bassin du Honda (M'silla). Thèse Doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Faculté des sciences de la Nature de la Vie, 197 pages.
 27. **Chouihi E., Amri F., Bouslimi N., Siala E., Selmi K., Zallagua N., Ben Abdallah R., Bouratbine A., Aoun K., (2009)** - Les cultures sur milieu NNN dans le diagnostic biologique des leishmanioses. *Pathologie Biologie* 57, 219-224.
 28. **Christian R., Francois-Xavier P., Philippe V., Franscisco Esquerdo G., (1992)** - Epidémiologie des maladies parasitaires (protozooses 1). Edition médicales internationales.
 29. **Clemence S., (2009)** - La leishmaniose canine : ce qui doit savoir le pharmacien d'officine. Thèse Doctorat. Université Henri Poincaré-NANCY1. Faculté de Pharmacie, 109 pages.
 30. **Dantas-Torres F., Paiva-Cavalcanti M., Figueredo L .A., Malo M .F., Da Silva F.J., Da Silva A. L., Almeida E. L., Brandao-Filho S.P., (2010)** - Cutaneous and visceral leishmmaniosis in dogs from a rural community in northeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 313-317.
 31. **Dedet J.P., (2002)** - Current status of epidemiology of leishmaniasis. Springer science business media New York.
 32. **Dedet J.P., Addadi K., Bellazzoug S., (1984)** - Les phlébotomes (Diptère, Psychodidae) d'Algérie. 99-127.

33. **Denis S., Harrat Z., Eddaikra N., (2019)** - Meta-analysis and discussion on challenges to translate leishmania drug resistance phenotyping into the clinic. *Acta Tropical*.
34. **Desjeux P., (2001)** - The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 95: 239-243.
35. **Dias E. S., Regina-Silva S., França-Silva J. C., Paz E S., Michalsky E. M., Araujo S. C., Valadao J. L., Lara-Silva F. O., Oliveira F. S., Pacheco R. S., Fortes-Dias C.L., (2010)** - Eco-epidemiology of visceral leishmaniasis in the urban area of paracatu, state of minas Gerais, Brazil. *Veterinary Parasitology*.
36. **Djamel T., (2014)** - Epidémiologie de la leishmaniose chez le chien et l'homme a Bejaia. Mémoire de Magister. Université Blida-1. Institut des Sciences Vétérinaires, 254 pages.
37. **Djerbouh A., Toudjine M., Djoudi M., Benikhlef R., Harrat Z., (2005)** - La leishmaniose canine en Algérie : essai de traitement par l'allopurinol. *Ann, Méd., Vêt*, 149, 132-134.
38. **Djezzar M. I., (2006)** - Etude de leishmanioses diagnostiquées au centre hospitalo-Universitaire Ben Baddis de Constantine. Thèse Doctorat. Université Mentouri Constantine. Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie, 119 pages.
39. **Dolmatova A. V., Demina N. A., (1971)** - Les phlébotomes (phlebotominae) et les maladies qu'ils transmettent. (ORSTOM) 24, rue Bayard Paris 8, 169 pages.
40. **Eddaikra N., (2016)** - Etude de la chimiorésistance aux antimoniés chez leishmania en Algérie : validation des tests in vitro et développement de marqueurs moléculaires. Thèse Doctorat. Université Mouloud Mammeri. Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques, 187 pages.
41. **Eddaikra N., Ait-Oudhia K., Oury B., Moulti-Mati F., Harrat Z., a Sereno D., (2017)** - Leishmania antimony resistance/ susceptibility in Algerian Foci. *Open Journal of Tropical Medicine*.
42. **El Alami S., (2009)** - 85 Année de leishmaniose au Maroc. Thèse Doctorat Université Mohammed V- Souissi- RABAT. Faculté de Médecine et de Pharmacie- Rabat, 184 pages.
43. **El-mouhdi K., Chahlaoui A., El-ouali lalami A., Bouzid J., El omari H., Fekhaoui M., (2019)** - Situation épidémiologique des leishmanioses au niveau de la ville d'El Hajeb (centre du Maroc) Durant la période de 2013 à 2017. *European Scientific Journal*.

44. **Faucher D., Piarroux R., (2011)** - Actualités sur la leishmaniose viscérale. La Revue de Médecine Interne 32, 544-551.
45. **Frahtia-benotmane K., (2015)** - Détection moléculaire des leishmanies a partir du genre *Phlébotomus* (Diptera : Psychodidae) : tendance vers la régression de la leishmaniose a Constantine. Thèse Doctorat. Université des Frères Mentouri-Constantine. Faculté des Sciences de la Nature de la Vie, 141pages.
46. **Gérard D., Didier F., Vincent R., (2017)** - Entomologie médicale et vétérinaire. Editions Institut de Recherche pour le Développement Marseille, Versailles, 192 pages.
47. **Gherbi R., (2020)** - Inventaire, biologie des phlebotominae (Diptera, Psychodidae) dans la région semi-aride (cas de la région de Sétif) avec détection et identification des espèces de leishmanies. Thèse Doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 172 pages.
48. **Gilles B., René (2015)** - La leishmaniose canine à *Leishmania infantum* : données actuelles sur une zoonose négligée. Revue Francophone des Laboratoires 477 : 25-34.
49. **Guillaume O., (2010)** - Approche entnopharmacologique comparative des traitements phytothérapeutique de la leishmaniose en Amazonie, Thèse Doctorat. Université des Antilles et de la Guyane, 250 pages.
50. **Hamiroune M., Selt F., Senni Z., Saidani K., Djemal M., (2019)** - Situation épidémiologique de la leishmaniose cutanée humaine dans la région steppique de Djelfa en Algérie : incidence et facteurs de variation. ISSN2028-9324Vol26NO.1Apr, 253-261.
51. **Hammani K., El Rhaffari L., Benlyas M., Zaid A., (2002)** - Traitement de la leishmaniose cutanée par la phytothérapie au Tafilelt. Biologie et Santé vol 1, 4: 45-54.
52. **Hamrouni S., (2019)** - Peptides multi-épitopique d'intérêt vaccinal, appliqués aux leishmanioses humaines. Thèse Doctorat. Université de Montpellier. Ecole Doctorale Sciences Chimiques et Biologique pour la Santé, 213 pages.
53. **Harrat Z., Hamrioui B., Belkaid M., Tabet-Derraz O., (1995)** - Point actuel sur l'épidémiologie des leishmanioses en Algérie. Bull. Soc. Path. Ex 88, 180-184.
54. **Harrat Z., Belkaid M., (2003)** - Les leishmanioses dans l'algéroise donnée épidémiologique. Bull. Soc. Pthol. Exot 96, 3 : 212-214.

55. **Hocar O; ,Aboudourib M., Akhdari N., Hamdaoui A., Mouttaki T., Soussi M., Chiheb S., Amal S., RiyadS., (2020)** - Leishmaniose Sublinguale pseudotumoral à *Leishmania infantum*. Annales de Dermatologie et Vénéréologie 147:383-386.
56. **Issof K., Ibrahim S., Jacques Z., Ziemlé C .M., Christophe K., Yacouba S., Rock D., Niicolas M., Boukary D., Jean-Baptiste A., Fatou B.T., Pascal N., Adama M., (2019)** - Description d'un nouveau foyer épidémique de leishmaniose cutanée à *Leishmania major* à l'ouest du Burkina Faso. Pan African Medical Journal 35:65.
57. **Izri A., Bellazzoug S., (2007)** - Diagnostic de laboratoire des leishmanioses rencontrées en Algérie. Revue Francophone des Laboratoires.
58. **Izri A., Depaquit J., Parola P., (2006)** - Phlébotomes et transmission d'agent pathogenes autour des bassins méditerranés. Med Trop 66 :429-435.
59. **Izri M.A., Bellazzoug S., Pratlong F., Rioux J.A., (1992)** - Isolement de *Leishmania major* chez *phlébotomus papatasi* à Biskra (Algérie) fin d'une épopée éco épidémiologique. Ann. Parasitol. Hum. Comp 67 : 31-32.
60. **Jebbouri Y., (2013)** - Profil épidémiologique, thérapeutique et évolutif de la leishmaniose cutanée (a propos de 52 cas). Thèse Doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Faculté de Médecine et de Pharmacie, 157 pages.
61. **Kabbout N., (2017)** - Contribution à l'étude bioécologique des insectes d'intérêt médical dans le nord-est Algérien. Thèse Doctorat. Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi. Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie, 224 pages.
62. **Khamesipour A., Mohammadi A., Jaafri M., Eskandri S., Tasbihi M., Javadi A., Afshari F., Mortazavi H., Firooz A., (2022)** - Pilot of safety and efficacy of tropical liposomal amphotericin B for cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in Islamic Republic of Iran. EMHJ-Vol.28 NO 9.
63. **Khiati M., (1992)** - La leishmaniose viscérale. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, 451-454.
64. **Killick-kendrick R., Léger N., Marchais R., Madulo-lebloonu G., Pesson B., Kristensen A., Ferté H., Killick- Kendrick M., (1991)** - Les phlébotomes impliquent dans la transmission des leishmanioses dans l'Ile de Gozo (malte). Ann. Parasitol. Hum. Comp 66 :33-41.
65. **Léger N., Depaquit J., (2001)** - Les phlébotomes et leur rôle dans la transmission des leishmanioses. Revue Français des Laboratoires, 338.

66. **Léger N., Depaquit J., (2002)** - Systématiques et biogéographique des phlébotomes (Diptera, Psychodidae). Ann.Soc.entomol.fr (n.s) 38(1-2) :163-175.
67. **Léger N., Depaquit J., Eunice A., Galati B., Galvis- Ovallos F., Lawyer P., (2017)** - An illustrated guide for characters and terminology used in description of phlebotominae (Diptera, Psychodidae). Parasites, 24-26.
68. **Léger N., Depaquit J., Ferté H., (1999)** - *Phlebotomus* (Paraphlebotomus) marismortui Theodor, 1947, synonym of *P. (Pa) Alexandri* Sinton, 1928. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 93: 560.
69. **Léger N., Depaquit J., Robert V., (2002)** - Première mention de *Phlebotomus* à madagascar (Diptera : Psychodidae), distribution de *Phlebotomus* (Anaphlebotomus) FERTEI N. SP, et de *Phlebotomus* (Anaphlebotomus) HUBERTI N.SP. Parasite 9 : 325-331.
70. **Meddour-Sahar O., Derridj A., (2010)** - Le risque d'incendie de forêt : évaluation et cartographie. Le cas de la wilaya de Tizi Ouzou, Algérie (période 1986-2005). sécheresse 21 :187-195.
71. **Mehoubi I., De Moubrison F., Farhtia K., Picot S., Gassem N., (2012)** - Contribution de la PCR en temps réel au diagnostic de la leishmaniose viscérale infantile en Algérie. Médecine et Santé Tropicale 00 :1-4.
72. **Mellano S., (2016)** - La leishmaniose canine et humaine à *Leishmania infantum* en France. Thèses Doctorat. Université Toulouse III Paul Sabatier. Faculté des Sciences Pharmaceutiques, 112 pages.
73. **Messai N., Berchi S., Boulknafed F., Louadi K., (2011)** - Diversité biologique de phlébotomes (Diptera : Psychodidae) de la région de Mila. Acte de Séminaire International sur la Biodiversité Faunistique en Zones Arides et Semi-Arides182-184.
74. **Mezai G., (2011)** - Rapport d'activité Institut Pasteur d'Algérie, Services et Laboratoire de Recherche / Diagnostic, 99.
75. **Minodier P., Robert S., Retornaz K., Garnier J., (2003)** - Leishmaniose viscérale infantile : nouvelles thérapeutiques. Archives de Pédiatrie 10 Suppl.5, 550s-556s.
76. **Mokni M., (2019)** - Leishmanioses cutanées. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 146: 232-246.
77. **Mouloua A., (2014)** - Etude éco-épidémiologique de la leishmaniose canine en Kabylie. Thèse Doctorat. Université Mouloud Mammeri. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, 267 pages.

78. **Mouloua A., Boubidi S.C., Bouiba L., Mezai G., Madiou M., Harrat Z., (2017)** - Impact environnemental sur la répartition des leishmanioses dans le foyer de Tizi Ouzou (Algérie). *Revue Med. Vét* 168, 10-12 : 252-261.
79. **Mouloua A., Seklaoui., Mezai G., Kerrachi., Bouiba., Eddaikra N., Benikhlef R., Harrat Z., (2020)** - Situation épidémiologique de la leishmaniose canine en Kabylie. *EC Velerinary Science* 5.10: 116-131.
80. **Organisation mondiale de la santé (1984)** - Les leishmanioses. Série de rapports techniques, 701,151 pages.
81. **Organisation mondiale de la santé (1999)** - Système d'Information Géographique : cartographie et surveillance épidémiologique. *Weekly Epidemiological Record*, 281-285.
82. **Organisation mondiale de la santé (2014)** - Manuel pour la prise en charge de la leishmaniose cutanée dans la région OMS de la méditerranée orientale. 52pages.
83. **Ouellette M., Drummelsmith J., Brochu V., Girard I., Messier N., (2003)** - Proteom mapping of the protozoan parasite *Leishmania* and appellation to the study of drug targets and resistance mechanisms, 146-155.
84. **Partlong F., Dedet J.P., Dereure J., Bucheton B., El-Safi S., Dessein A., Lanotte G., (2001)** - Soudan: The possible originals focus of visceral leishmaniasis, *parasitology* 122: 599-605.
85. **Patrice B., Francine B., Alireza E., (2014)** - Les leishmanioses : une zoonose aux multiples aspects 502.
86. **Pierre M., (2001)** - Etude éco- epidédimiologique d'un foyer de leishmaniose a Tarascon sur Ariège. Thèse Doctorat. Université Claudes-Bernard. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 121 pages.
87. **Ramdane E., Berchi S., Louadi K., (2018)** - Les phlébotomes (Déptera, Pshycodidae), vecteurs d'agents pathogène responsables de la leishmaniose humaine dans la région de Constantine (Algérie). *Entomofauna* 39/2 : 537-555.
88. **Randrianambinintsoa F.J., (2013)** - Contribution à l'inventaire des phlébotomes (Psychodidae-Phlébotominae) de Madagascar et des Iles voisines. Thèse Doctorat. Université de Reims Champagne- Ardenne- France. Faculté des Sciences, 270 pages.
89. **Sahraoui M., Abed H., (2017)** - Etude rétrospective de la leishmaniose humaine a Tizi-Ouzou durant 10 ans (2007/2017). Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire. Université Saad Dahlab-Blida1. Institut des Sciences Vétérinaires- Blida, 75 pages.

90. **Sibiry S., (2006)** - Epidémiologie de la leishmaniose cutanée à KEMEN et SOUGOULA (cercle de Broueli).Thèse Doctorat. Université de Bamako. Faculté de médecine de pharmacie et d'odonto-stomatologie (FMPOS), 120 pages.
91. **Yavar R., Saideh Y., Ali Reza Z.R., Mohammad Reza A., Mohammad Reza Y.E., Abbas A.A., Amir A.A., Masoumeh A., Azim P., (2020)** - Diversity of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in mountainous and plain areas of an endemic focus of anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Iran. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 10 (5):201-207.
92. **Zeroual A., (2022)** - La leishmaniose au Maroc: Présentation, Epidémiologie et Stratégies de lutte. Thèse Doctorat. Université de Bordeaux. Faculté des sciences pharmaceutiques.

Résumé

L'étude de la situation épidémiologique de la leishmaniose dans la région de Tizi-Ouzou du mois de novembre au mois de mars 2023 repose sur les données recueillies par la DSP de la région de Tizi-Ouzou concernant l'évolution de la leishmaniose humaine au cours des dix dernières années 2013-2023. 15 cas de LC et 8 cas de LV ont été signalés. De plus, les tranches d'âge les plus touchées sont celles de moins de 15 ans et des plus de 40 ans. La maladie affecte également les deux sexes avec une prédominance masculine, la dépression de Draa El Mizan est la zone la plus touchée par la LC. Les résultats de l'échantillonnage des phlébotomes, réalisé par la méthode des pièges adhésifs ont révélé la présence de 478 phlébotomes, dont 302 femelles et 176 mâles. Ensuite, 57 prélèvements canins ont été effectués, dont 51 ont été ensemencés sur des milieux NNN, ainsi que deux ponctions ganglionnaires. Les résultats ont montré que 51 ensemencements étaient négatifs et qu'une ponction a révélé un résultat positif. Parmi les 2 frottis cutanés réalisés, l'un a révélé un résultat positif. Sur les 57 chiens testés par l'immunofluorescence indirecte, 9 chiens étaient séropositifs avec un pourcentage de 15,8%, et 14 cas étaient douteux avec un pourcentage de 24,6%. Ces sujets ont également été testés par PCR (classique et Rt PCR) et tous les résultats ont été négatifs. Ainsi, pour les 8 prélèvements humains testés par les deux méthodes IFI et PCR, deux cas suspects à des dilutions de 1/20 et 1/40 respectivement par IFI. En revanche, tous les résultats ont été négatifs en PCR,

Mots clés : Phlébotomes ; Leishmaniose cutanée ; Leishmaniose viscérale ; prélèvement humain ; Prélèvement canin ; Milieu NNN ; Immunofluorescence indirecte ; PCR classique ; Rt PCR ; Région de Tizi-Ouzou.

Abstract

The study of the epidemiological situation of leishmaniasis in the Tizi-Ouzou region from November to March 2023 is based on data collected by the Tizi-Ouzou DSP concerning the evolution of human leishmaniasis over the last ten years 2013-2023. 15 cases of LC and 8 cases of LV were reported. Moreover, the age groups most affected are those under 15 and over 40. The disease also affects both sexes, with a male predominance. The Draa El Mizan depression is the area most affected by LC. The results of sandfly sampling, carried out using the adhesive trap method, revealed the presence of 478 sandflies, including 302 females and 176 males. Next, 57 canine samples were taken, 51 of which were inoculated on NNN media, as well as two lymph node punctures. The results showed that 51 samples were negative and one positive. Of the 2 skin smears taken, one was positive. Of the 57 dogs tested by indirect immunofluorescence, 9 were seropositive with a percentage of 15.8%, and 14 cases were doubtful with a percentage of 24.6%. These cases were also tested by PCR (classical and Rt PCR), with all results being negative. For the 8 human samples tested by both IFI and PCR methods, two cases were suspected at dilutions of 1/20 and 1/40 respectively by IFI. On the other hand, all PCR results were negative,

Key words: Phlebotomine; Cutaneous leishmaniasis; Visceral leishmaniasis; Human sample; Canine sample; NNN medium; Indirect immunofluorescence; Classic PCR; PCR a Tr; Tizi-Ouzou region.

ملخص

تستند دراسة الوضع الوبائي لداء الليشمانيات في منطقة تيزي وزو من نوفمبر إلى مارس 2023 إلى البيانات التي تم جمعها قبل DSP في تيزي وزو بشأن تطور داء الليشمانيات البشري خلال السنوات العشر الماضية 2013-2023. تم الإبلاغ عن 15 حالة من CL و 8 حالات من VL. بالإضافة إلى ذلك، فإن الفئات العمرية الأكثر تضرراً هي الأشخاص الذين تقل أعمارهم عن 15 عاماً وأكثر من 40 عاماً. يصيب المرض كلا الجنسين بالتساوي مع غلبة الذكور، ويعتبر اكتئاب ذراع الميزان المنطقة الأكثر تضرراً من داء الكيس الليفي. أظهرت نتائج أخذ عينات ذبابة الرمل التي أجريت باستخدام طريقة المصيدة اللاصقة وجود 478 ذبابة رمل منهم 302 إناث و 176 ذكور. بعد ذلك، تم أخذ 57 عينة من الكلاب، تم زرع 51 منها على وسائط NNN، بالإضافة إلى تثقيب في العقدة الليمفاوية. وأظهرت النتائج أن 51 لقاحاً كانت سلبية وأن ثقباً واحداً أظهر نتيجة إيجابية. من بين مسحتين جلديتين تم إجراؤهما، أظهرت إحداها نتيجة إيجابية. من بين 57 كلباً تم اختبارها عن طريق التآلق المناعي غير المباشر، كانت 9 كلاب إيجابية المصل بنسبة 15.8% من، و 14 حالة مشكوك فيها بنسبة 24.6%. تم اختبار هذه الموضوعات أيضاً بواسطة PCR (التقليدي و Rt PCR) وكانت جميع النتائج سلبية. وبالتالي، بالنسبة للعينات البشرية الثمانية التي تم اختبارها بواسطة طريقتين IFI و PCR، هناك حالتان مشتبهيهما عند تخفيف 20/1 و 40/1 على التوالي بواسطة IFI. من ناحية أخرى، كانت جميع النتائج سلبية في تفاعل البوليميراز المتسلسل،

الكلمات المفتاحية: ذبابة الرمل؛ داء الليشمانيات الجلدي؛ داء الليشمانيات الحشو؛ عينة بشرية؛ عينة كلاب؛ وسط NNN؛ التآلق المناعي غير المباشر؛ PCR كلاسيكي؛ PCR Rt؛ منطقة تيزي وزو.