

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**

**Facultés Des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques**

**Département de Biologie**



*Mémoire de Fin D'étude*



En vue de l'Obtention du Diplôme de Master en sciences biologiques

**Spécialité : Biologie des populations et des organismes**

## **Thème**

Situation Epidémiologique et distribution spatial de la  
leishmaniose en Kabylie

**Présenté par :**

**YACINE Souhila**

**ET**

**HADDAR Arezki**

**Soutenu le : Octobre 2022, devant le jury composé de :**

**Présidente :** Mme TALEB TOUDERT. K      M.C.A      UMMTO

**Examinatrice :** Mme LEKMACHE Y      M.A.A      UMMTO

**Co-Promotrice :** Mme BRAHMI. K      Professeur      UMMTO

**Promotrice :** Mme EDDAIKRA.N      Maitre de Recherche      I.P.A

**Année universitaire : 2021 /2022**

# *Remerciements*



Au terme de notre travail nous tenons à remercier « **Allah** » le miséricordieux de nous avoir donné la force, la volonté et le courage d'achever ce travail.

Nous tenons à remercier notre promotrice Mme **EDDAIKRA.N.** Maitre de Recherche et chef de laboratoire d'Eco-épidémiologie parasitaire et génétique des populations de l'institut Pasteur d'Alger qui a proposé ce thème et qui a bien voulu diriger ce travail. Ces nombreux conseils pour son orientation judicieuse Nous sommes heureux de lui exprimer ici notre respectueuse reconnaissance.

C'est avec un grand plaisir que nous exprimons notre gratitude et nos sincères remerciements à notre Co-promotrice Mme **BRAHMI.K.**, professeur à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour son encadrement, sa disponibilité, son professionnalisme, ses compétences et ses conseils qui nous ont guidés dans l'élaboration de ce mémoire de fin d'étude.

Nous exprimons toute notre reconnaissance à Mme **TALEB.K.** M.C.A à l'Université mouloud Mammeri pour avoir bien voulu accepter de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions également Mme **LEKMACHE.Y.** M.C.A à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions vivement Mme **BENIKHLEF.R.** Chargée de recherches au sein du laboratoire d'éco-épidémiologie de l'Institut Pasteur d'Algérie pour l'aide qu'elle nous a apporté, ses conseils intéressants, ses encouragements continus, ainsi que pour le temps qu'il nous a réservé malgré ses grandes occupations durant notre période de stage.

On teints a remercier Mlle **Djouaher.T.** Pour son aide pour avancer notre mémoire, pour ses encouragements et ses conseilles en or.

Afin de n'oublier personne, mes vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui nous ont aidée et soutenues de près ou de loin à la réalisation de ce modeste mémoire.

# DEDICASSES



*Je rends grâce à dieu de m'avoir donné la santé, le courage et la volonté ainsi que la conscience d'avoir pu terminer mes études.*

*Je dédie Ce Travail à:*

## ***A mes chers parents :***

*Pour votre amour et votre confiance à chaque moment de ma vie, pour votre soutien dans les moments difficiles, pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez inculquées, Ces quelques lignes ne peuvent résumer les liens qui nous unissent mais vous savez à quel point ils sont forts. « Que dieu vous garde ».*

## ***A ma chère sœur siham***

*Qui n'a pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études, que dieu la protège et lui offre La chance et le bonheur.*

***A ma petite sœur Ayelina et mon frère Karim***

***A la mémoire de mon grand père et ma grand-mère paternelle.***

***A mon grand-père et ma grand-mère maternelle : Que dieu les gardes et les protèges.***

## ***A ma tante Karima et son mari Samir***

*Mes deuxièmes parents ; Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez et les encouragements durant mes années d'études.*

## ***A mon bras droit***

*Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur.*

## ***A ma chère copine Sarah***

*Un ange est tombé du ciel pour m'aider avec tous les moyens pour avancer mon mémoire.  
Merci beaucoup*

*A mes chers cousines radia et Liza et sonia*

*A mes oncles et tantes, cousins et cousines, chacun son nom A toute ma famille.*

*A toutes les personnes qui me portent dans leurs cœurs et qui m'ont soutenu durant mes années d'études.*

**SOUHILA**

# DEDICASSES



*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail*

## *A mes chers parents :*

*A ma famille, elle ma doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*Particulièrement à mon père, pour le goût à l'effort qu'il a suscité en moi, de par sa rigueur.*

*A ma source d'amour et de confiance, à ma mère qui me bénit chaque jour par ses prières.*

## *A mes deux petites sœurs que j'aime énormément.*

*A toutes les personnes qui m'ont encouragé, supporté et aidé à achever cet ouvrage.*

*AREZKI*

## Liste des abréviations

---

- ADN:** Acide Désoxyribonucléique.
- AG-AC:** Complexe anticorps – antigène.
- DAT:** Direct agglutination test.
- DBK:** Draa Ben khedda.
- DEM :** Draa El mizane.
- DSP :** Direction de la Santé Publique.
- ELISA:** Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.
- ES :** Electro synérèse.
- HAI :** Hémagglutination indirecte.
- IFI:** Immuno Fluorescence Indirecte.
- IgG:** Immunoglobuline G.
- IPA:** Institut Pasteur d'Algérie.
- ITS1:** Internal transcribed spacer 1.
- J3 :** Jour 3.
- L. : Leishmania.*
- LAT :** Test d'agglutination au latex.
- LBA :** Liquide bronchiolo alvéolaire.
- LC :** Leishmaniose cutanée.
- LCD:** Leishmaniose Cutanée Diffuse.
- LCL:** Leishmaniose Cutanée Localisée.
- LCM :** Leishmaniose Cutanéomuqueuse.
- LCN :** Leishmaniose cutanée du Nord.
- LCS :** Leishmaniose cutanée sporadique.
- LCZ:** Leishmaniose Cutanée Zoonotique.
- LNI :** Larbaa Nath Irathen.
- LV :** Leishmaniose viscéral.
- MGG:** May-Grünwald-Giemsa.
- MON:** Désignation du laboratoire de l'université 1 de Montpellier.
- Nbr. :** Nombre.
- NNN:** Novy-Mac Neal- Nicolle.
- OMS:** Organisation Mondial de la Santé.
- PBS :** Phosphate Buffer Solution.
- PCR:** Polymerase Chain Reaction.
- pH :** Potentiel Hydrogène.

## Liste des abréviations

---

**SDS:** Dodécylsulfate de Sodium ou laurylsulfate de Sodium.

**TAE :** Tris Acide EDTA (une solution tampon de migration utilisée en électrophorèse sur gel d'agarose des acides nucléiques).

**UV :** Ultra-Violet.

**VP :** Vacuole parasitaire.

**W.B:** Western Blot.

## Glossaire

---

**Anticorps** : un anticorps est une molécule biologique impliquée dans l'immunité. Substance défensive engendrée par l'organisme en présence d'un corps étranger (antigène) dont elle neutralise l'effet toxique.

**ELISA** : procédé (immuno absorption enzymatique) qui permet de doser les antigènes et les anticorps grâce à l'utilisation de marqueurs génétiques

**Endémie** : une endémie désigne la présence habituelle d'une maladie dans une région ou une population déterminée.

**Frottis** : préparation en couche mince d'une substance organique (pour examen au microscope)

**Hématophage** : qualifie un organisme qui se nourrit de sang de vertébré.

**Hépatosplénomégalie** : augmentation de la taille du foie et de la rate

**Hôte** : organisme vivant qui héberge un agent pathogène, il peut être définitif : forme sexuée ou adulte du parasite (HD), intermédiaire : forme asexuée ou larvaire du parasite (HI).

**Immunité** : ensemble de mécanismes de défense d'un organisme contre les éléments étrangers à l'organisme, en particulier les agents infectieux (virus, bactéries, parasites).

**Immunoempreinte (Western Blot)** : technique qui permet de rechercher dans le sérum sanguin des protéines antigéniques et tout particulièrement des protéines issus d'un virus ou des anticorps dirigés contre les protéines du virus.

**Lésion** : désigne toute anomalie d'un tissu biologique se trouvant dans un état anormal. Ces altérations peuvent être à l'origine d'un dysfonctionnement de l'organe touché.

**Liquide broncho-alvéolaire** : une solution contenant du chlorure de sodium à neuf 0/00 (9 pour 1000). Il s'agit d'eau salée à la même concentration que les liquides de l'organisme (liquide physiologique), utilisée lors du lavage des bronches et des alvéoles pulmonaire

**Macrophage** : grosse cellule issue d'un monocyte du sang, douée du pouvoir de phagocyter des particules étrangères

**Moelle osseuse** : substance de consistance molle située à l'intérieur des os plats et longs et qui produit les cellules sanguines.

## Glossaire

---

**Mononuclées** : ce sont toutes les cellules du sang périphérique ayant un seul noyau.

**Muqueuse** : membrane qui tapisse les cavités de l'organisme (tube digestif, fosses nasales, bronches, anus...) qui se raccorde avec la peau au niveau des orifices naturels, et qui est lubrifiée par la sécrétion de mucus.

**Parasite** : le Parasite est défini comme un être vivant animal ou champignon (règne des Fungi) qui pendant une partie ou la totalité de son existence vit aux dépens d'autres êtres organisés (hôtes).

**Protozoaire** : organismes unicellulaire, Protiste dépourvu de chlorophylle, qui se multiplie par mitose ou reproduction sexuée (ex. amibes, infusoires...)

**Ulcération** : processus caractérisé par une perte de substance de la peau ou d'une muqueuse, qui correspond à une altération moléculaire d'un tissu par suite d'un processus morbide avec tendance à la nécrose

**Zymodème** : ensemble de souches présentant le même profil enzymatique.

## Liste des figures

N°	Titre des figures	Page
<b>1</b>	Processus de différenciation au niveau du tube digestif chez le vecteur. Tête et pharynx (A), intestin médian thoracique (B), intestin médian abdominal (C), Intestin postérieur (D). Le sang (zone grise en C) est entouré par la membrane péritrophique. (Schlein, 1993).	<b>04</b>
<b>2</b>	Schéma représentant le cycle parasitaire des leishmanioses (Belaz, 2017)	<b>05</b>
<b>3</b>	Amastigotes de <i>Leishmania</i> phagocytés par les macrophages. Les flèches noires montrent des amastigotes (coloration de May-Grünewald ; (A) grossissement : 400× ; (B) grossissement : 1000×) (Thiago, 2018).	<b>07</b>
<b>4</b>	Forme promastigote de leishmania (MOIZ, 2010).	<b>07</b>
<b>5</b>	Morphologie générale de phlébotome adulte (Niang et al., 2000).	<b>08</b>
<b>6</b>	Cycle de vie d'un phlébotome (Élevage de <i>P. duboscqui</i> ) (Pesson et al, 2004).	<b>09</b>
<b>7</b>	Réservoir de LCZ à <i>Leishmania major</i> ( <a href="http://www.mammalogy.org">http://www.mammalogy.org</a> )	<b>10</b>
<b>8</b>	Principaux foyers des leishmanioses (Anofel, 2014).	<b>11</b>
<b>9</b>	Distribution de la leishmaniose viscérale et cutanée en Algérie (Eddaikra, 2016)	<b>12</b>
<b>10</b>	La leishmaniose cutanée zoonotique ulcération au niveau de la peau (Bachi, 2006)	<b>13</b>
<b>11</b>	Aspect clinique de la LCN (Aoun et al., 2014)	<b>14</b>
<b>12</b>	Enfant atteint de leishmaniose viscérale (hépatosplénomégalie apparente) (Bachi, 2006).	<b>14</b>
<b>13</b>	Carte géographique de la wilaya de Tizi-Ouzou	<b>19</b>
<b>14</b>	les étapes appliquées dans laboratoire pour les prélèvements sanguins (Originale, 2022).	<b>22</b>
<b>15</b>	Protocole de teste immunofluorescence indirecte (Original, 2022)	<b>24</b>
<b>16</b>	Protocole d'extraction d'ADN parasite (Originale, 2022)	<b>26</b>
<b>17</b>	Thermocycleur IPA (Originale, 2022)	<b>28</b>
<b>18</b>	Protocole d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5%(Originale, 2022)	<b>29</b>
<b>19</b>	variation temporelle des cas de LC et LV de la région de Tizi Ouzou entre 2010 et 2021	<b>31</b>
<b>20</b>	Distribution des cas de leishmaniose cutanée et viscérale par tranche d'âge	<b>32</b>
<b>21</b>	variation temporelle des cas de LC et LV selon les années (2010-2021)	<b>33</b>

## Liste des figures

---

<b>22</b>	Répartition de la LC et LV par communes	<b>34</b>
<b>23</b>	Nombre de chiens séropositifs, négatifs et douteux trouve par l'IFI	<b>36</b>
<b>24</b>	Nombre des humains positifs, négatifs et douteux par l'IFI	<b>37</b>
<b>25</b>	les signes clinique de cas positifs d'origine de Yakourene (Original, 2022).	<b>38</b>
<b>26</b>	Une fluorescence qui montre la présence d'ADN (Originale, 2022).	<b>39</b>

## Liste des tableaux

---

<b>N°</b>	<b>Titre des Tableaux</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Zones d'échantillonnages avec le nombre de chiens et d'humains prélevés.	<b>18</b>
<b>2</b>	Distribution des cas de LC et LV de 2010 jusqu'à 2021	<b>19</b>
<b>3</b>	Distribution des cas de LC et LV selon les tranches d'âge.	<b>31</b>
<b>4</b>	Les cas de LC et LV selon le sexe.	<b>31</b>
<b>5</b>	Les cas de leishmaniose cutanée et viscérale selon l'origine géographique.	<b>32</b>
<b>6</b>	Résultats des cultures sur milieux NNN.	<b>34</b>
<b>7</b>	Résultats d'ensemencement sur milieux NNN.	<b>35</b>
<b>8</b>	Résultats d'immunofluorescence indirecte.	<b>35</b>
<b>9</b>	Résultats d'IFI sur les sérums des Humains.	<b>36</b>
<b>10</b>	Résultats de PCR sur les ADN des chiens en fonction d'âge, sexe, Race et communes.	<b>37</b>
<b>11</b>	Résultat de la PCR standard sur les ADN des humains.	<b>38</b>

# Sommaire

---

## Glossaire

## Liste des abréviations

## Liste des tableaux

## Introduction ..... 01

### CHAPITRE I : Synthèse biographique

1.1. - Les leishmanioses .....	03
1.1.1 - Cycle évolutif des <i>Leishmania</i> .....	03
1.1.1.1. - Evolution du parasite chez l'hôte invertébré (Phase extracellulaire).....	03
1.1.1.2 - Évolution du parasite chez l'hôte vertébré (Phase intracellulaire) .....	04
1.1.2. - Parasite .....	05
1.1.2.1. - Taxonomie .....	05
1.1.2.2. - Morphologie.....	06
1.1.2.2.1. - les amastigotes .....	06
1.1.2.2.2. - les promastigotes.....	07
1.1.2.3. - La multiplication et la reproduction.....	08
1.1.3. - Le vecteur.....	08
1.1.3.1. - Morphologie et biologie du vecteur .....	08
1.1.4. - Réservoir .....	09
1.1.5. Répartition géographique des leishmanioses .....	10
1.1.5.1. –Dans le monde .....	10
1.1.5.2. - En Algérie .....	11
1.1.5.3. - En Kabylie .....	12
1.1.6.- Les manifestations cliniques des leishmanioses humaines et canines <i>L.infantum</i> .....	12
1.1.6.1. - La forme cutanée.....	13
1.1.6.1.1. - La leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) .....	13
1.1.6.1.2. - Leishmaniose cutanée du nord à <i>L. infantum</i> (LCN).....	13
1.1.6.2. - La leishmanioseviscérale (LV) .....	14

## Sommaire

---

1.1.6.2.1. - La leishmaniose viscérale infantile .....	14
1.1.6.2.2. - Leishmaniose viscérale de l'adulte .....	15
1.1.6.3. - Leishmaniose canine .....	15
1.1.7. - Diagnostic biologique des leishmanioses .....	15
1.1.7.1. - Diagnostic parasitologique et moléculaire .....	15
1.1.7.1.1. - Prélèvement.....	15
1.1.7.1.2. - Examen microscopique .....	16
1.1.7.1.3. - Culture.....	16
1.1.7.2. - Diagnostic immunologique .....	16
1.1.7.2.1. - Réaction d'immunofluorescence indirecte (IFI) .....	16
1.1.7.2.2. - Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) .....	16
1.1.7.2.3. - Fixés d'électro synérèse (ES).....	17
1.1.7.2.4. - Test d'Agglutination directe (DAT) .....	17
1.1.7.2.5. - HémAgglutination indirecte (HAI).....	17
1.1.7.2.6. - le western blot .....	17
1.1.7.3.1. - PCR .....	17
1.1.8. - Moyens de lutte.....	18
1.1.8.2. - Lutte contre le réservoir animal .....	18
1.1.8.3. - Lutte anti-vectorielle .....	18
1.1.9. - Traitement .....	18
1.1.9.1. - Le traitement de la leishmaniose humaine.....	18
1.1.9.2. - Traitement de la leishmaniose canine .....	18

### CHAPITRE II : Matériels et méthodes

2.1. - Description de la région d'étude .....	19
2.1.1. - Description et choix des stations.....	19
2.2. - Méthodes utilisées sur le terrain.....	21
2.2.1. - Méthode de prélèvements sanguins .....	21

## Sommaire

---

2.2.1.1. - Sur chiens.....	21
2.2.1.2. -Sur humains .....	21
2.3. - Méthodes utilisés au laboratoire .....	21
2.3.1. - préparation des prélèvements sanguins pour les différentes analyses .....	22
2.3.2. - Hémoduculture.....	22
2.3.3. - Technique d'Immunofluorescence Indirect .....	23
2.3.3.1. - Mode opératoire d'IFI.....	23
2.3.4. - Extraction d'ADN.....	25
2.3.4.1. - Lyse cellulaire.....	25
2.3.4.2. - Déprotéinisation (sous hotte chimique) .....	25
2.3.4.3. - Précipitation .....	25
2.3.5. - PCR (polymerase chain reaction) .....	27
2.3.5.1. - Préparation du mix .....	27
2.3.5.2. - Programmation du Thermocycleur .....	28
2.3.5.3. - Révélation des produits PCR par Electrophorèse horizontale sur gel d'agarose.....	29
2.3.5.4. - Préparation du gel d'agarose.....	29

### CHAPITRE 3 : Résultats

3.1. - Variations temporelles des cas de LC et LV enregistré dans la région de Tizi-Ouzou Par la direction de la santé publique durant la période de 11ans (2010-2021).....	30
3.1.1. - Variations temporelles des cas de LC et LV dans le temps.....	30
3.1.2. - Variation temporelles des cas de LC et LV en fonction d'âge .....	31
3.1.3 - Variation temporelles des cas de LC et LV en fonction de sexe .....	32
3.1.4 - Variation temporelles des cas de leishmaniose cutanée et viscérale en fonction des communes.....	33
3.3 - Résultats de prélèvement sanguin .....	34
3.3.1. - Résultats d'hémoculture.....	34
3.3.1.1- Chez les chiens.....	35
3.3.1.2 – chez les humains.....	35

## Sommaire

---

3.3.2 - Résultats de l'immunofluorescence indirect (IFI) .....	35
3.3.2.1 – Sérum des chiens .....	35
3.3.2.2 – Sérum des humains.....	36
3.3.3 - Résultats de la PCR standard .....	37
3.3.3.1 - Résultat de la PCR standard sur l'ADN des chiens .....	37
3.3.3.2. – ADN des Humains .....	39

### CHAPITRE IV : Discussion

4.1 - Discussion des résultats des variations temporelle des LC et LV.....	40
4.1.1 - Evolution des cas des deux formes de leishmaniose chez l'homme dans la région de Tizi-Ouzou .....	40
4.1.2 - Répartition des cas de Leishmaniose cutanée et viscérale selon l'âge .....	41
4.1.3 - Répartition des cas de leishmaniose cutanée et viscérale selon le sexe.....	41
4.1.4 - Répartition Leishmaniose cutanée et viscérale par commune .....	41
4.2. - Discussion des Résultats d'ensemencement sur milieux NNN .....	42
4.3. - Discussion des résultats d'Immunofluorescence indirect(IFI).....	42
4.4. - discussion des résultats de la PCR ITS1 .....	43
<b>Conclusion.....</b>	<b>44</b>

### Référence bibliographique

Annexe

Résumé

# Introduction

## Introduction

---

Les leishmanioses sont largement répandues sur la surface du globe. Elles constituent un problème mondial du fait de l'importance de la population exposée et du nombre de cas qui apparaissent chaque année (**Eugenie et al., 2015**).

Ce sont des parasitoses causés par un protozoaire flagellé sanguicole et tissulaire du genre *Leishmania*, transmis par la piqûre infestante d'un phlébotome (**Anophel, 2014**). Elles affectent de très nombreuses espèces de mammifères qui constituent le réservoir. Cette maladie infectieuse se décline en trois formes principales : viscérale (la plus sévère), cutanée (la plus fréquente) et cutanéomuqueuse (**OMS, 2019**).

En médecine humaine, les leishmanioses font partie des maladies émergentes négligées dont l'importance est majeure en raison d'une forte incidence mondiale concentrée principalement dans les pays en voie de développement où la sous déclaration est flagrante. Seulement 32 pays déclarent régulièrement des cas de leishmaniose (**Who, 2010**).

Malgré les avancées de la recherche, les leishmanioses restent encore un véritable problème de santé publique. D'après les données de l'organisation mondiale de la santé, 350 millions de personnes sont exposées à ce risque infectieux sur un total de 98 pays (**Eugenie et al., 2015**), avec une incidence de 1,3 million de nouveaux cas par an, et une mortalité annuelle de 20000 à 30000 personnes. Mais ces chiffres officiels semblent largement sous-évalués car il existe un portage asymptomatique important (**OMS, 2015**).

La Leishmaniose canine est doublement préoccupante : c'est d'abord une maladie grave, souvent mortelle pour le chien lui-même, de plus, elle est encore plus préoccupante d'un point de vue de santé publique puisque de nombreuses études épidémiologiques démontrent une relation étroite entre l'incidence des cas de Leishmaniose viscérale humaine et la prévalence (clinique et sérologique) observée chez le chien (**Mouloua, 2014**).

L'Algérie représente le pays le plus touché dans le bassin méditerranéen (**Eddaikra et al., 2013 ; INSP, 2014**) où les leishmanioses occupent la première place dans les maladies parasitaires et représentent 35 % des maladies à déclaration obligatoire (**Achour Barchiche et Madiou, 2008**). Elles sont considérées comme les maladies parasitaires les plus importantes à impact sanitaire et socio-économique redoutable. Avec une incidence annuelle de leishmaniose cutanée (L.C.) plus importante que viscérale (L.V.) (**Eddaikra et al., 2013 ; INSP, 2014**).

La région de la grande Kabylie au Nord de l'Algérie est connue depuis longtemps comme étant le foyer le plus actif de la leishmaniose viscérale et de la leishmaniose cutanée sporadique (**Dedet et al., 1977**). Mais la situation épidémiologique de ces parasitoses dans cette région demeure inconnue, très peu de données ont été rapportées sur ce sujet dans cette

## Introduction

---

région. Nous citons quelques travaux réalisés à cet effet : Mouloua (2014) ; Kahil et ait Idir (2016) ; Belmiloude et Ouameur (2019) ; Mouisi et Ourahmoun (2021)...etc

Afin d'évaluer la situation épidémiologique et la distribution spatiale des cas de la leishmaniose dans la grande Kabylie, nous allons dans un premier temps : effectuer une enquête sur les cas de LC et LV recensés au niveau de service de la prévention de la direction de la santé publique de Tizi-Ouzou (DSP). Par la suite, on va réaliser une étude prospective qui consiste à des prélèvements sanguins veineux sur des chiens et des humains dans trois régions : Mechtras, Mekla, et Tizi Rached. Ces derniers seront analysés par un test sérologique (l'immunofluorescence indirecte) et par un test moléculaire (PCR).

Le travail que nous rapportons ici comporte quatre chapitres : le premier chapitre sera consacré à la synthèse bibliographique sur notre sujet de recherche. Le deuxième chapitre sera dédié à l'étude expérimentale : matériel et méthodes utilisés sur le terrain et au laboratoire. Ensuite, dans le troisième et le quatrième chapitre on va présenter les différents résultats obtenus ainsi que les discussions des résultats respectivement. Enfin, on va conclure avec une conclusion générale.

# Chapitre 1: Synthèse bibliographique

Cette partie comprend des généralités sur les leishmanioses, le cycle évolutif des *Leishmania*, l'étude de parasite, l'étude de vecteur et l'étude de réservoir, suivi par la Répartition géographique des leishmanioses, ainsi que des généralités sur les formes cliniques de la maladie, le diagnostic biologique, les moyens de lutte et en fin le traitement.

## **1.1.- Les leishmanioses**

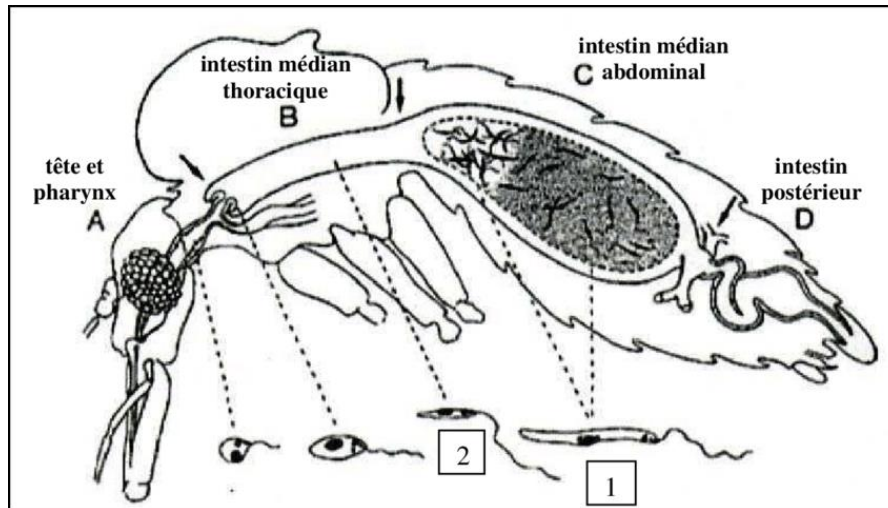
Les leishmanioses constituent un groupe de maladies infectieuses dues au parasitisme de l'homme et de divers mammifères par un protozoaire flagellé appartenant au genre *Leishmania*, transmis par un insecte vecteur le phlébotome (Moumni, 2015). Les manifestations cliniques varient en fonction de l'espèce parasitaire responsable et peuvent évoluer vers trois formes de leishmaniose : la leishmaniose cutanée (LC), la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM) et la leishmaniose viscérale (LV) (Petitdidier, 2015).

### **1.1.1. - Cycle évolutif des *Leishmania***

Les *leishmanias* ont un cycle de vie dimorphique, ils se présentent sous la forme promastigote extracellulaire chez leur vecteur et sous la forme amastigote intracellulaire dans les vacuoles phagolysosomales des phagocytes mononuclés de l'hôte mammifère (Alcolea et al., 2010).

#### **1.1.1.1. - Evolution du parasite chez l'hôte invertébré (Phase extracellulaire)**

Les leishmanies sont ingérées au moment d'un repas sanguin sous la forme amastigote. Le phlébotome ingère des phagocytes infestés par les formes amastigotes lors d'un repas sanguin sur l'hôte vertébré, ces cellules sont lysées, libérant les parasites et au bout de 24 heures une membrane péritrophique, est synthétisée par les cellules épithéliales du tube digestif (Bourdache, 2015). C'est dans ce bol alimentaire que les formes amastigotes se différencient en forme promastigotes (Figure 1).



**Figure 1** - Processus de différenciation au niveau du tube digestif chez le vecteur. Tête et pharynx (A), intestin médian thoracique (B), intestin médian abdominal (C), Intestin postérieur (D). Le sang (zone grise en C) est entouré par la membrane péritrophique.

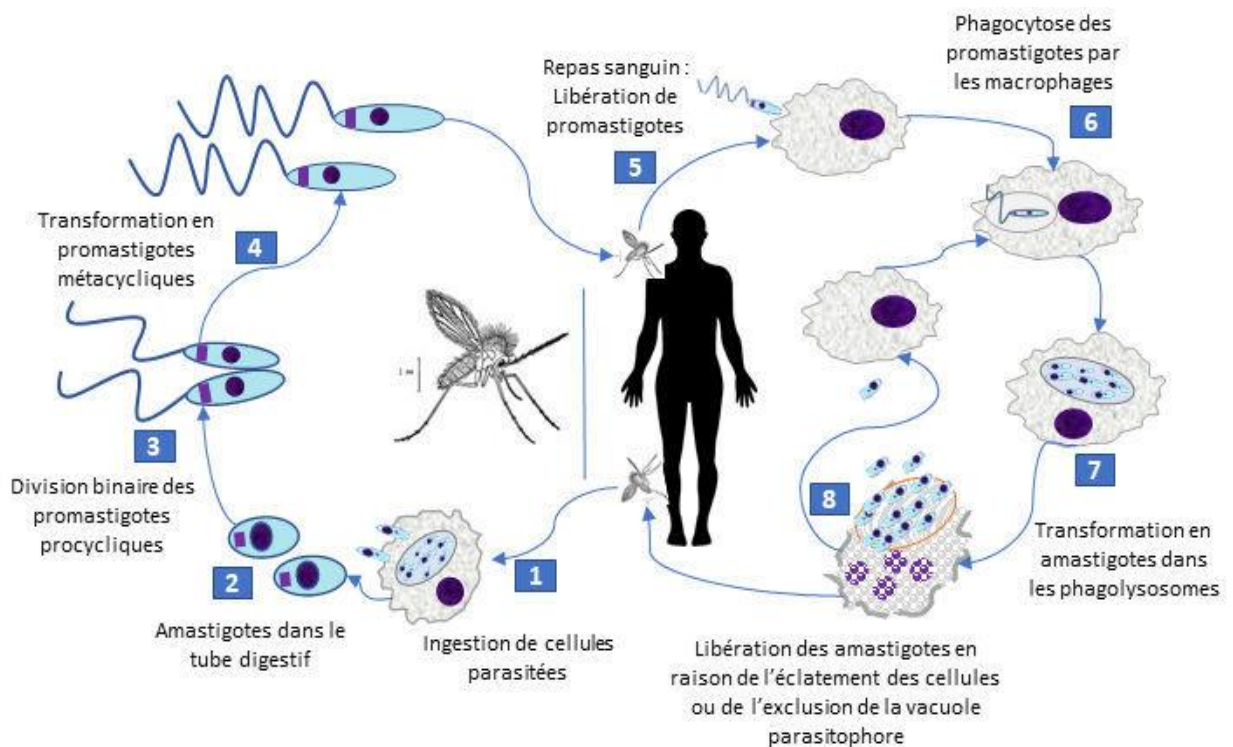
(Schlein, 1993).

Le développement des leishmanies chez le vecteur comporte ensuite la séparation des promastigotes en deux lignées fonctionnelles (Euzéby et *al.*, 1986). Les Promastigotes procycliques, de forme trapue qui se transforment ensuite en formes fuselées, appelés nectomonades. Vers le 3<sup>ème</sup> jour, la membrane péritrophique commence à se fragmenter, les formes nectomonades s'échappent et se fixent par leur flagelle aux microvillosités de l'intestin médian. A partir de 4<sup>ème</sup> ou 5<sup>ème</sup> jour, elles migrent vers l'intestin antérieur. Les Promastigotes métacycliques, plus minces avec un long flagelle qui leur confère une grande mobilité. Il s'agit de formes nectomonades qui sont arrivées à maturité et devenues infestantes. Ces formes ne se divisent plus et s'accumulent au niveau de la valve stomodéale qui sépare les parties médiane et antérieure du tube digestif. Elles constituent alors un bouchon au niveau de cette valve et facilitent ainsi leur reflux lors d'un repas sanguin et leur transmission à l'hôte vertébré (Dedet, 1999). Il faut une période d'environ 15 jours entre le premier repas infestant et la première pique infestante (Euzéby, 2003).

#### 1.1.1.2 - Évolution du parasite chez l'hôte vertébré (Phase intracellulaire)

Lorsqu'un phlébotome femelle infecté prend un repas sanguin chez un hôte mammifère, il salive au site de piqûre et régurgite par la même occasion le parasite sous sa forme promastigote (Samake, 2006). Dans un premier temps, un signal émis par les promastigotes métacycliques permet aux macrophages dermiques de phagocyter les parasites.

Le compartiment abritant, ces derniers va subir des modifications jusqu'à aboutir à la formation d'organites connus comme vacuoles parasitophores (VP) ou phagolysosome. A ce stade, les promastigotes vont se différencier en amastigotes adaptés à la vie intracellulaire. L'achèvement de ce processus requiert entre 3 à 7 jours (Acebey, 2007). D'après Garlapati et *al.* (1999), le changement de température (de 25°C à 37°C) et du pH (d'un pH physiologique à un pH aux environs de 5.0), induisent la différenciation en amastigotes. Les parasites, après différenciation, se divisent par fission binaire. Le cycle est complété lorsque l'insecte prend un repas sanguin au site d'infection et aspire des phagocytes contenant la leishmanie (Figure 2).



**Figure 2** - Schéma représentant le cycle parasitaire des leishmanioses (Belaz, 2017)

## 1.1.2 - Parasite

### 1.1.2.1. - Taxonomie

La place des leishmanies dans la classification de Levine *et al.*, (1980) est la suivante :

- Règne.....Protista (Haeckel, 1866)
- Sous-règne..... Protozoa(Goldfuss,1817 et emend,1848)
- Embranchement.....Sarcomastigophora(Honigberg et Balamuth,1963)
- Sous-embranchement.....Mastigophora(Diesing,1866)
- Classe.....Zoomastigophorea(Calkins,1909)

- Ordre.....Kinetoplastida(Honigberg emend 1963 et Vickerman,1976)
- Sous-ordre.....Trypanosomatida (Kent, 1880)
- Famille.....Trypanosomatidae(Doflein emend,Grobben, 1905)
- Genre.....Leishmania (Ross, 1903)

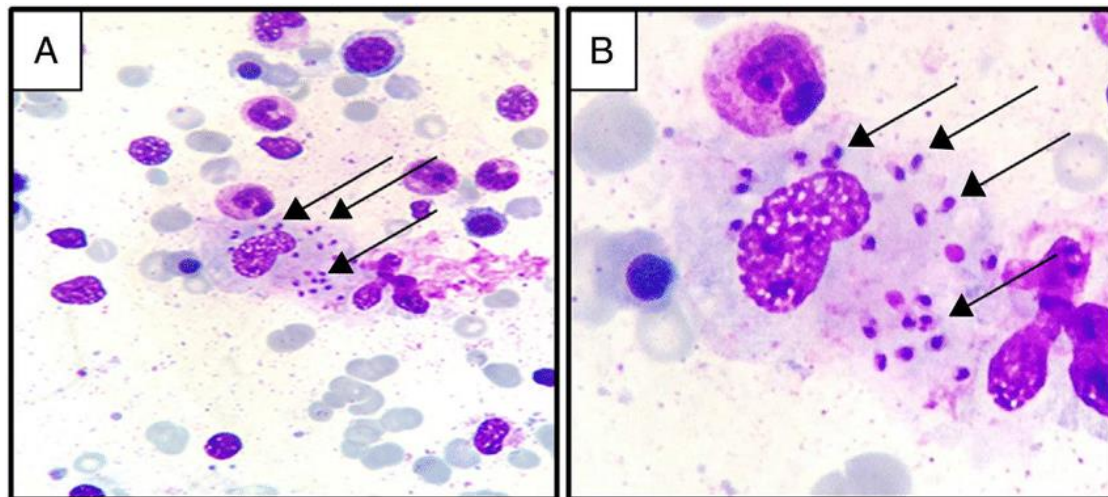
Une nouvelle classification est élaborée par Adler et al (2005) en se basant sur l'étude de l'ultra structure de Levine et al. (1980) ainsi que des études moléculaires phylogénétiques :

- Ordre.....Euglenozoa (Cavalier-Smith 1981 et emend.Simpson, 1997)
- Sous-ordre.....Kinetoplastea (Honigberg, 1963)
- Famille.....Metakinetoplastina(Lopez-Garcia,and Vickerman,(2004)
- Genre.....*Leishmania*(Ross,1903)

### 1.1.2.2 - Morphologie

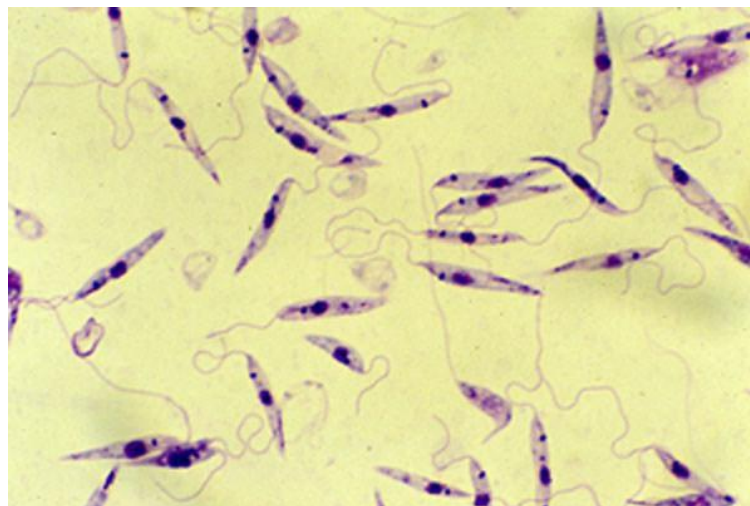
Les leishmanies s'adaptent très vite avec le milieu environnant au cours du cycle biologique. Selon l'environnement dans lequel elles se trouvent les leishmanies se présentent sous deux aspects morphologiques différents ; stade amastigote et le stade promastigote (Mouloua, 2014).

**1.1.2.2.1. - Les amastigotes :** (étymologiquement = sans flagelle), se nichent à l'intérieur des macrophages de mammifères, au sein de vacuoles dites parasitophores. A ce stade, les leishmanies deviennent ovoïdes ou sphériques et mesurent 2 à 3µm de diamètre (**Samake, 2006**). Contrairement à ce que leur nom pourrait conduire à penser, les amastigotes sont également munis d'un flagelle intra cytoplasmique (non visible en microscopie optique), après coloration au MGG un noyau volumineux, arrondi et un kinétoplaste en bâtonnet plus sombre (**Figure 3**), et se multiplient par scissiparité. Après éclatement du macrophage, elles parasitent d'autres macrophages sains (**Sacks, 2001**).



**Figure 3** - Amastigotes de *Leishmania* phagocytés par les macrophages. Les flèches noires montrent des amastigotes (coloration de May-Grünwald ; (A) grossissement : 400× ; (B) grossissement : 1000×) (Thiago, 2018).

**1.1.2.2.2. - Les promastigotes :** sont des parasites extracellulaires mobiles vivant dans le tube digestif d'un diptères hématophages (le phlébotome) et en milieu de culture. Il est d'aspect allongé mesurant 2 à 5  $\mu\text{m}$  de long, 1 à 4  $\mu\text{m}$  de large et dispose d'un flagelle libre qui assure sa mobilité (Figure 4). Cette forme est munie d'un kinétoplaste qui est localisé entre le flagelle et le noyau (Mellano, 2016).



**Figure 4** - Forme promastigote de leishmania (MOIZ, 2010).

Un troisième type connu sous le terme de promastigote, et dont la position dans le cycle biologique des *Leishmania* n'est pas encore claire, a été identifié principalement au niveau du pharynx, l'intestin postérieur et rarement dans l'intestin médian des phlébotomes infectés. Ces

stades sont ramassés, munis d'un flagelle court et montrent un kinétoplaste juxtanucléaire (Killick, 1985).

### 1.1.2.3. - La multiplication et la reproduction

Elles se multiplient par scissiparité longitudinale. Dans une vacuole parasitophore les amastigotes se multiplient lorsque la multiplication est importante, et la cellule éclate et les amastigotes se libèrent et parasitent d'autres cellules par endocytose. La reproduction sexuée n'est pas connue, mais elle est soupçonnée (Raquin, 2010).

### 1.1.3. - Le vecteur

#### 1.1.3.1. - Morphologie et biologie du vecteur :

Les phlébotomes sont les vecteurs exclusifs dans la transmission des leishmanioses. L'adulte mesure 2 mm à 5 mm de longueur. Il est d'aspect « bossu » et à peine coloré. Le corps, les ailes et les pattes sont velues, et les yeux sont nettement visibles (Koussam et Hamadouche ;2020) (Figure 5).

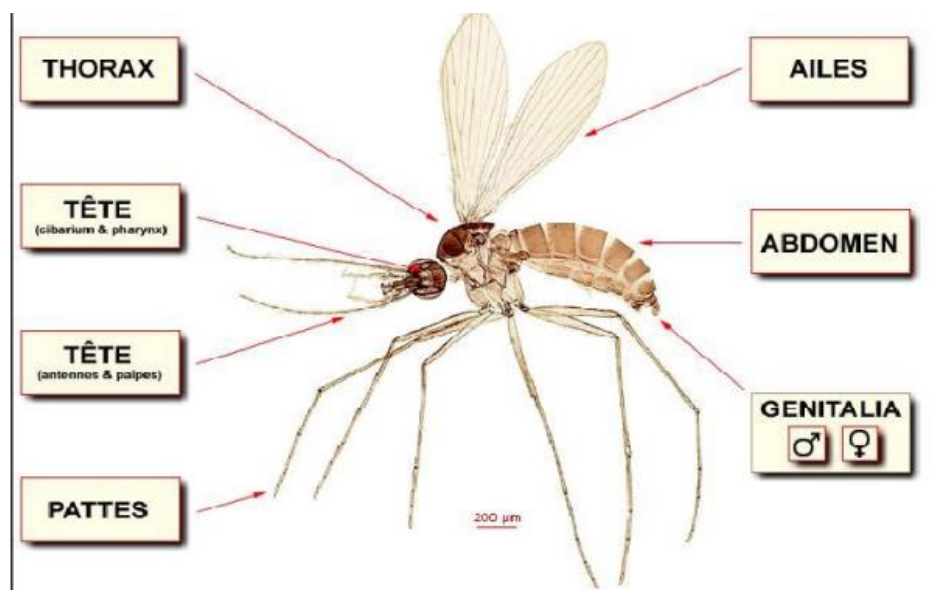
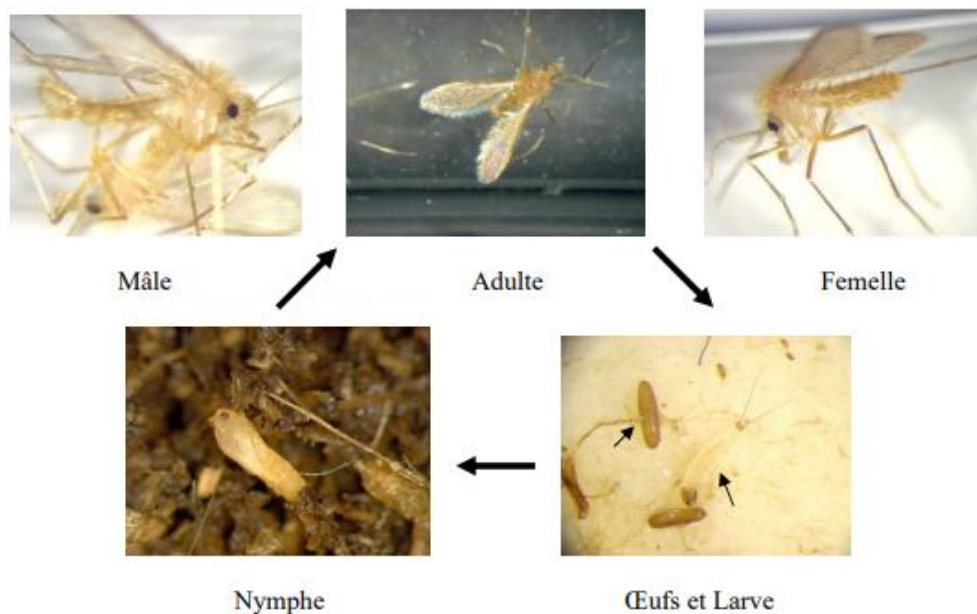


Figure 5 - Morphologie générale de phlébotome adulte (Niang et al., 2000).

Les phlébotomes vivent dans les pays tempérés et tropicaux. Les adultes ont une activité crépusculaire et nocturne. Leur vol est silencieux. Seules les femelles sont hémaphages. La piqûre est douloureuse car ces insectes dilacèrent les téguments avec leurs pièces buccales pour aspirer le sang (Ripert, 1996). Elles s'alimentent par tégumentophagie de

sang et de lymphe. Ce repas peut s'effectuer de manière interrompue, à la suite de plusieurs piqûres, sur le même individu ou sur des individus différents. Il faut noter que la salive inoculée est allergisante (érythème, douleur) et participe activement à l'installation et à la multiplication des leishmanies chez l'hôte vertébré (**Monteiro et al., 2005**). La longévité de ces insectes est de l'ordre de quelques mois. Un cycle gonotrophique complet dure environ six semaines (**Figure 6**). La femelle ne prend qu'un seul repas sanguin par cycle (**Leger et al., 1999**).



**Figure 6** - Cycle de vie d'un phlébotome (Élevage de *P. duboscqui*) (**Pesson et al., 2004**).

En Algérie, les espèces incriminées dans la transmission des leishmanioses cutanées sont, *Phlebotomus perfiliewi*, vecteur d'un variant enzymatique de *L. infantum*, responsable de la leishmaniose cutanée sporadique et *Phlebotomus papatasi*, vecteur de *L. major*, agent de la leishmaniose cutanée zoonotique (**Mouloua et al., 2017**). Alors que *P. sergenti* est le vecteur de *L. killicki* (**Boubidi et al., 2011**).

#### 1.1.4. - Réservoir

Les réservoirs naturels des leishmanies sont des mammifères domestiques ou sauvages, chez lesquels le parasite colonise les cellules du système des phagocytes mononucléés. L'Homme peut dans certains complexes jouer un rôle de réservoir de parasite, constituant alors avec le vecteur un cycle anthroponotique. En Algérie, à la suite de la

notification du premier cas de leishmaniose canine à Alger par les frères Sargent en 1910, le chien est admis comme réservoir de la leishmaniose viscérale (Moumni, 2016).

Deux formes cliniques sévissent à l'état endémique (viscérale due à *L. infantum*, qui a pour réservoir principal, le chien et les LC qui sont dues à trois espèces de leishmanies : *L. infantum*, responsable de la leishmaniose cutanée du nord encore appelée leishmaniose cutanée sporadique qui a pour réservoir le chien (Benikhlef et al., 2004), *L. major* responsable de la leishmaniose cutanée zoonotique qui a pour réservoir des rongeurs sauvages *P. obesus* et *Meriones shawi* (Belazzoug, 1983) (Figure 7) ; et *L. killicki* responsable de la leishmaniose cutanée anthroponotique (Harrat et al., 2009).



*Psammomys obesus*



*Meriones shawi*

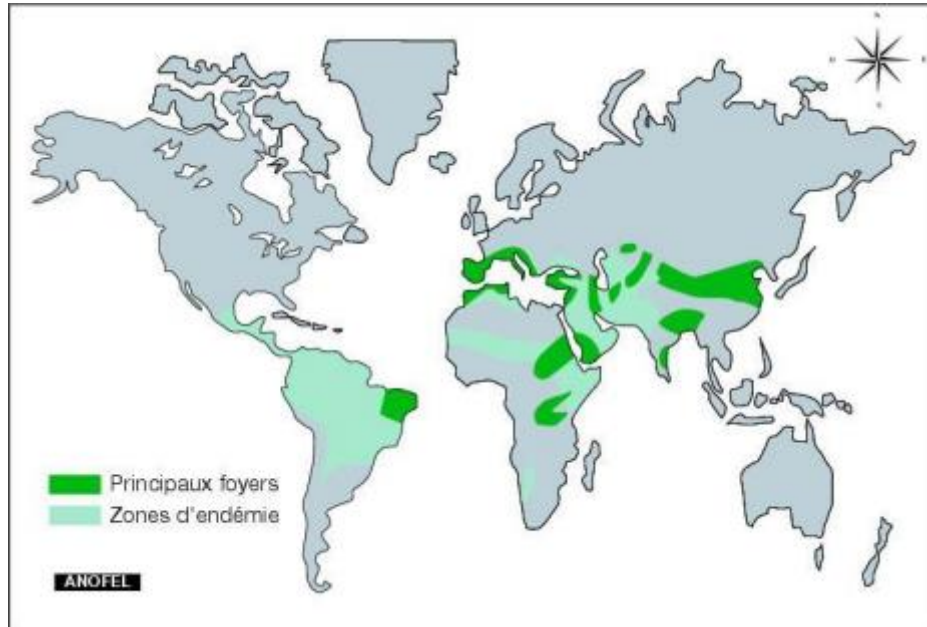
**Figure 7** - Réservoir de LCZ à *Leishmania major* (<http://www.mammalogy.org>)

### 1.1.5. - Répartition géographique des leishmanioses

#### 1.1.5.1. - Dans le monde

Les leishmanioses sont largement répandues à la surface de la terre. Elles possèdent une aire de répartition qui s'étend sur les cinq continents ; 350 millions de personnes sont à risque, 12 millions de cas d'infection (Akhoundi, 2016), et entre 700 000 et 1 million de nouveaux cas sont répertoriés chaque année, avec 20 000 à 30 000 cas de décès par an (OMS, 2019). L'OMS, déplore 50 000 à 90 000 nouveaux cas de leishmaniose viscérale, à travers 61 pays mais seuls 25 % à 45 % de ces cas sont notifiés. En 2020, plus de 90 % des nouveaux cas signalés à l'OMS provenaient de 10 pays : (Brésil, Chine, Érythrée, Éthiopie, Inde, Kenya, Somalie, Soudan, Soudan du Sud et Yémen) (OMS, 2020). Un million à 1,5 millions de cas de leishmaniose cutanée sont reportés, et 90% des cas se trouvent dans 8 pays, 6 de l'Ancien Monde. En 2020, plus de 85 % des nouveaux cas provenaient de 10 pays : Afghanistan, Algérie, Brésil, Colombie, Iraq, Libye, Pakistan, Pérou, République arabe

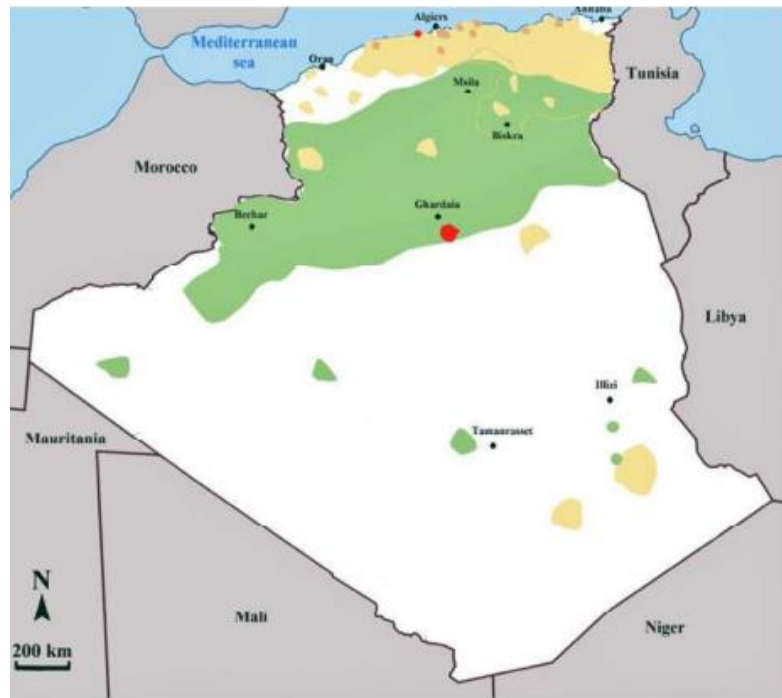
syrienne et Tunisie (**Figure 8**). La répartition de la leishmaniose mucocutanée est concentrée sur 3 pays du Nouveau Monde (Bolivie, Brésil et Pérou) qui à eux seuls présentent 90% des cas (**WHO, 2022**).



**Figure 8** - Principaux foyers des leishmanioses (**Anofel, 2014**).

#### 1.1.5.2. - En Algérie

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 par la LC. Elle est d'une part par sa situation géographique, caractérisée par plusieurs étages bioclimatiques, allant du climat méditerranéen au nord, au climat saharien au sud en passant par de vastes zones semi arides et d'autre part, sa forte population rurale présente un terrain favorable à l'émergence de plusieurs formes cliniques de la maladie (**Harrat, 1995**) (**Figure 9**). En Algérie, la leishmaniose cutanée comprend deux entités nosoépidémiologiques, la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ), due à *Leishmania major* MON-25, et la leishmaniose cutanée sporadique (LCS) du nord, due à *Leishmania infantum* avec un variant enzymatique dermatrope prédominant, le zymodème MON-24 (**Zait et al., 2009**).



(●) *L. major* LC, (●) *L. infantum* LV, (●) *L. infantum* LC, (●), *L. killicki* LC.

**Figure 9** - Distribution de la leishmaniose viscérale et cutanée en Algérie (**Eddaikra, 2016**).

### 1.1.5.3. - En Kabylie

La Kabylie est connue depuis longtemps comme étant le foyer le plus actif des leishmanioses (cutanée et viscérale), et regroupait à elle seule près de 50% des cas (**Harrat et al., 1992**). La leishmaniose viscérale humaine pose un réel problème de santé publique en Algérie, on dénombre environ 400 nouveaux cas par an. Dans le foyer de Tizi-Ouzou, la maladie est responsable de 6% de décès (**Harrat et al., 1995**). Bien que la leishmaniose canine soit présente à travers tout le pays, les proportions de chiens infectés varient selon les conditions bioclimatiques. L'infection est très rare dans le grand sud les foyers les plus actifs se trouvent au nord, dans les montagnes de Petite et Grande Kabylie. En 1987, une séroprévalence de 37% fut enregistrée sur 120 chiens de la commune d'Azazga (**Louis, 2009**).

### 1.1.6. - Les manifestations cliniques des leishmanioses humaines et canines à *L. infantum*

Parmi les leishmanioses cliniques à *L. infantum*, on distingue classiquement une forme cutanée et une forme viscérale. L'orientation de la maladie vers l'une ou l'autre des deux formes cliniques dépend principalement du terrain immunitaire de l'hôte infecté et du variant enzymatique du parasite (**Mouloua, 2014**).

### 1.1.6.1. - La forme cutanée

Les leishmanioses cutanées produisant un large spectre de manifestations allant de petits nodules, au niveau de la peau à la destruction globale des tissus muqueux, qui peut persister pendant des mois ou même des années dans certains cas, avant que les lésions ne guérissent spontanément et laisser des cicatrices plates, hypo pigmentées et atrophiques (Aoun *et al.*, 2014 ; Pearson *et al.*, 1996).

#### 1.1.6.1.1. - La leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ)

La leishmaniose cutanée zoonotique est dite leishmaniose cutanée humide des zones rurales. Après une incubation courte, apparaît la lésion caractéristique : ulcération cutanée, à bords surélevés, avec une croûte centrale adhérente (Figure 10), indolore, de taille variable (habituellement de 1 à 4 cm de diamètre), d'évolution chronique (OMS, 1990). Les lésions évoluent spontanément vers la guérison en 3 à 5 mois au prix d'importantes cicatrices disgracieuses ou invalidantes (Mihoubi, 2006).



**Figure 10** - La leishmaniose cutanée zoonotique ulcération au niveau de la peau (Bachi, 2006).

#### 1.1.6.1.2. - Leishmaniose cutanée du nord à *L. infantum* (LCN)

La leishmaniose cutanée du nord s'oppose à la leishmaniose cutanée zoonotique par de nombreux points. Sur le plan clinique, elle se présente sous forme d'une petite lésion unique, siégeant au niveau de la face, très inflammatoire, sans ulcération et sans croûte épaisse (Figure 11). Sa durée d'incubation est longue tout comme sa durée d'évolution (Belazzoug *et al.*, 1985). Cette dernière nécessite souvent un traitement, afin d'accélérer le processus de cicatrisation qui ne se fait spontanément qu'au-delà d'un an (Benotmane, 2015).



**Figure 11** - Aspect clinique de la LCN (Aoun *et al.*, 2014).

### 1.1.6.2. - La leishmaniose viscérale (LV)

#### 1.1.6.2.1. - La leishmaniose viscérale infantile

La leishmaniose viscérale infantile est la forme la plus fréquente dans le pourtour du bassin méditerranéen. Ce sont les jeunes enfants (moins de 5 ans) qui sont le plus souvent atteints (Benotmane, 2015). La période d'incubation est d'une durée variable mais prend habituellement 2 à 4 mois, la maladie débute insidieusement avec apparition progressive de fièvre, d'un malaise général, d'une perte de poids et, de toux et de diarrhée. L'un des principaux signes cliniques est l'hépatosplénomégalie (Figure 12) (hypertrophie de la rate et du foie) (OMS, 1999).



**Figure 12** - Enfant atteint de leishmaniose viscérale (hépatosplénomégalie apparente) (Bachi, 2006).

### **1.1.6.2.2. - Leishmaniose viscérale de l'adulte**

La leishmaniose viscérale est relativement rare chez l'adulte (**Safi et al., 1996**). Elle se distingue par un tableau clinique beaucoup moins typique que celui de l'enfant (**Aoun et al., 2009**). La splénomégalie peut être absente ou constituer le seul élément clinique, de même que les adénopathies. Son évolution spontanée est mortelle mais son pronostic reste bon si une thérapeutique adéquate est démarrée à temps (**Desjeux, 2004**).

### **1.1.6.3. - Leishmaniose canine**

La leishmaniose canine se caractérise par des lésions dermatologiques, une lymphadénopathie localisée ou généralisée, des lésions oculaires, une épistaxis, une anémie, une insuffisance rénale, de la diarrhée (**Sandy, 2007**). D'après **Tulasne (2009)**, toute combinaison de symptômes étant possible. Cependant, deux symptômes sont fréquents chez le chien : l'abattement et l'amaigrissement (**Louis, 2009**). Les lésions et les signes cliniques se développent sur une période variant de quelque mois à plusieurs années suivant l'infection (**Djerbouh et al., 2005**).

### **1.1.7. - Diagnostic biologique des leishmanioses**

L'hypersensibilité retardée traduisant une réaction immunitaire à médiation cellulaire contre le parasite pourrait être explorée par un test cutané : l'intradermoréaction à la leishmanie (test de Monténégro). Toutefois, ce test reste contributif surtout en zone d'endémie (intérêt pour l'enquête épidémiologique Test Dépistage) (**Tarrouche et Aouadi, 2019**).

#### **1.1.7.1. - Diagnostic parasitologique et moléculaire**

##### **1.1.7.1.1. - Prélèvement**

L'examen parasitologique est essentiel afin de mettre en évidence les leishmanies. Dans la leishmaniose cutanée, le prélèvement se fait au niveau de la bordure inflammatoire de la lésion (l'ulcération cutanée soigneusement désinfectée après enlevé les croûtes qui la recouvrent par grattage au vaccinostyle ou à la curette. Dans le cas la leishmaniose viscérale, le prélèvement s'effectue sur la moelle osseuse, de rate et peut aussi s'effectuer sur le foie, les ganglions lymphatiques, la muqueuse digestive ou le liquide bronchiolo alvéolaire (LBA) (**Djou, 2017**).

### 1.1.7.1.2. - Examen microscopique

Il permet la recherche des amastigotes intracellulaires dans les macrophages sur frottis. Les formes amastigotes sont, soit contenues dans les cellules histiocytaires, soit extracellulaires. On y reconnaîtra le noyau de couleur pourpre et le kinétoplaste juxtanucléaire plus foncé. Dans les leishmanioses cutanées, le diagnostic est basé sur la microscopie par identification des amastigotes dans les biopsies, les produits de raclages ou les appositions ganglionnaires (Murray *et al.*, 2005), alors que pour la LV, les frottis seront faits à partir de matériel prélevé par ponction de moelle osseuse, de rate. Les frottis fixés au méthanol, seront colorés au May Grünwald Giemsa (Giudice *et al.*, 1998).

### 1.1.7.1.3. - Culture

Elle a pour but de révéler la présence des parasites et augmenter leur nombre, car l'identification des amastigotes au microscope n'est pas toujours possible. Le prélèvement peut êtreensemencé en culture, sur gélose au sang (milieu Novy-MacNeal-Nicolle [NNN]), gélose au sang de lapin, dans lequel se développent les formes promastigotes (Fig.4) (Quitterie *et al.*, 2005). D'autres milieux peuvent être utilisés tels que les milieux d'Evans, de Tobie, de Schneider et le RPMI qui donne d'excellents résultats avec un minimum de CHAPITRE I Synthèse bibliographique 23 risque de contamination (Djezzar-Mihoubi, 2006).

### 1.1.7.2. - Diagnostic immunologique

Il est utile essentiellement en cas de leishmaniose viscérale.

#### 1.1.7.2.1. - Réaction d'immunofluorescence indirecte (IFI)

Elle est pratiquée sur des dilutions logarithmiques à base 10 de sérum, à l'aide d'un antigène constitué par une suspension de promastigotes de culture 1µl/ml déposée sur la lame et séchée par ventilateur à 37°C. Le conjugué antigène anti-corps est utilisé après dilution au 1/100. La lecture est effectuée au microscope à fluorescence (Kalilodiallo, 2014).

#### 1.1.7.2.2. - Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

Cette technique immunologique, largement utilisée dans le sérodiagnostic de LV est basée sur la détection chez l'hôte, soit d'antigènes de *leishmania* par l'utilisation d'anticorps anti-Leishmania, ou bien la détection des anticorps anti-Leishmania, par antigène total de promastogotes lysée conjugués a une enzyme (phosphate ou peroxydase) (Lima *et al.*, 2003).

### 1.1.7.2.3. - Fixés d'électro synérèse (ES)

C'est une technique d'immunoprécipitation, elle consiste à faire migrer conjointement l'antigène et l'anticorps sous une différence de potentielle. Au point de rencontre, il se forme un complexe Ag-Ac matérialisé par un arc de précipitation (**Bachi, 2001**).

### 1.1.7.2.4. - Test d'Agglutination directe (DAT)

Le test d'agglutination directe peut être effectué sur du sang ou du sérum, en mesurant le titre des complexes immuns. Un test d'agglutination au latex (LAT) basé sur la détection d'un antigène leishmanien dans l'urine chez les patients atteints de LV, s'est avéré aussi utile dans le suivi du traitement (**Vilaplana et al., 2004**).

### 1.1.7.2.5. - Hémagglutination indirecte (HAI)

Elle consiste à mettre en présence des dilutions croissantes de sérum et des globules rouges sensibilisés par un antigène leishmanien. Si l'échantillon sérique contient des anticorps spécifiques, ceux-ci sont agglutinés par les érythrocytes sensibilisés. Dans le cas contraire, les cellules se déposent au fond des cupules sous forme d'un bouton. C'est une technique qui est peu utilisée en raison de son défaut de sensibilité et de spécificité (**Mihoubi, 2006**).

### 1.1.7.2.6. - Le Western Blot (WB)

C'est une méthode qualitative, mais elle est très sensible et très spécifique pour cette raison elle est considérée comme la méthode de confirmation en sérologie. Elle permet de détecter les anticorps spécifiques d'antigènes de *Leishmania infantum* préalablement séparés par l'électrophorèse (**Papiero, 2002**).

### 1.1.7.3.1. - PCR

C'est une technique d'amplification de séquence nucléique, elle permet d'obtenir en quelques heures plusieurs millions de copies d'une séquence donnée d'ADN. Cette technique est de très grande sensibilité, et leur spécificité théoriquement quasi absolue (**Mouloua, 2014**).

### **1.1.8. - Moyens de lutte**

#### **1.1.8.2. - Lutte contre le réservoir animal**

Dans les cas où le réservoir est constitué par des rongeurs, les méthodes de lutte doivent être adaptées à la biologie de chaque espèce. La destruction des terriers et l'élimination des chéropodiées pour *Psammomys obesus* qui se nourrit exclusivement de ces plantes et le traitement des terriers avec des graines empoisonnées de phosphore de zinc pour *Meriones shawi* (OMS, 1999).

#### **1.1.8.3. - Lutte anti-vectorielle**

Les insecticides de référence pour la lutte contre les phlébotomes sont les Pyréthrinoides. L'utilisation de moustiquaires imprégnées de produits insecticides est une bonne protection. Cependant, les phlébotomes étant de petites tailles, les mailles de la moustiquaire doivent être étroites pour être efficace (>25 trous/ cm<sup>2</sup>) Le contrôle vectoriel est surtout adapté à la lutte contre les leishmanioses anthroponotique. Dans les leishmanioses zoonotiques, la pulvérisation d'insecticides à effet rémanent dans les maisons et gites d'animaux, ne s'applique que si la dispersion du vecteur se limite aux zones domestique et péri domestique (Belkasmî et Ouazzi, 2016).

### **1.1.9. - Traitement**

#### **1.1.9.1. - Le traitement de la leishmaniose humaine**

Sur le plan thérapeutique, les antileishmaniens classiques qui sont les antimoniés pentavalents, l'amphotéricine B et la pentamidine demeurent d'utilisation courante. Les espoirs sont mis aujourd'hui dans des molécules telles l'atovaquone ou la miltéfosine, qui pourrait améliorer dans les années à venir la thérapeutique des leishmanioses (Jabbour, 2013).

#### **1.1.9.2. - Traitement de la leishmaniose canine**

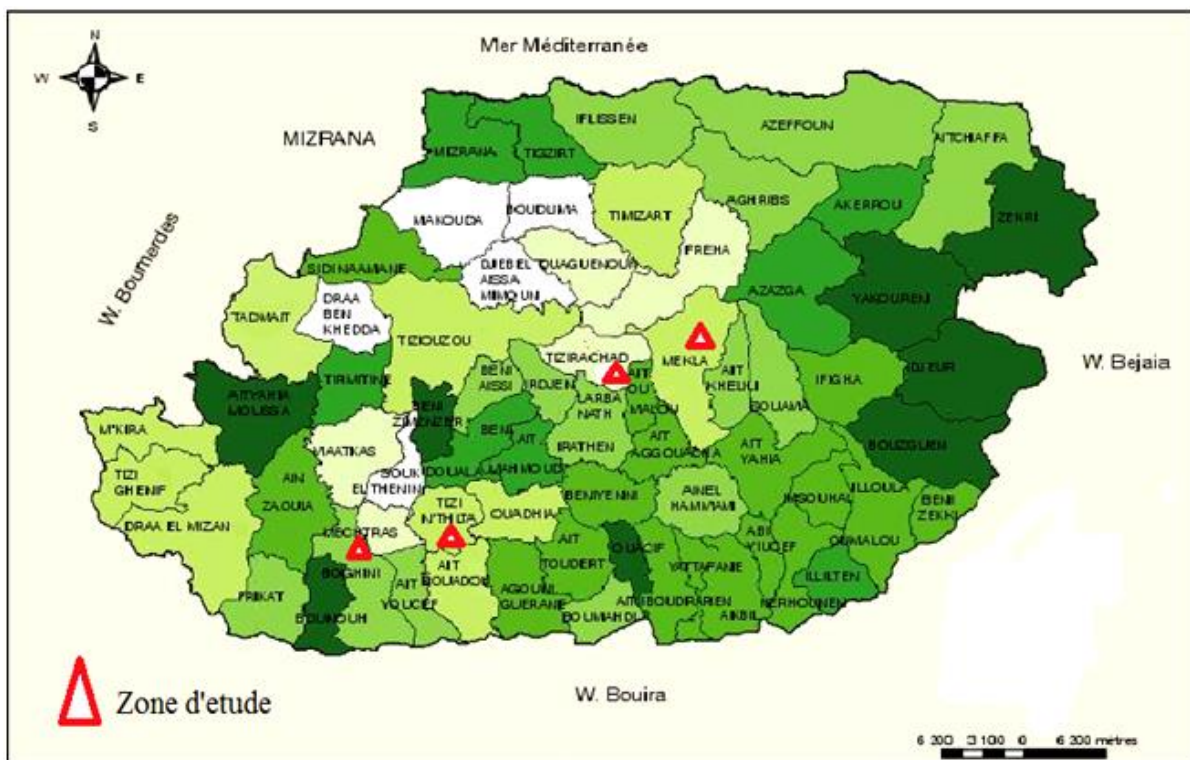
En Algérie il n'existe pas un traitement spécifique pour les leishmanioses canines. En Algérie le chien est considéré comme le réservoir de la maladie, et les chiens malades sont euthanasiés.

# chapitre 2: Matériel et méthodes

Ce chapitre comprend en premier temps la description de la région d'étude, suivie par les méthodes utilisées sur le terrain ainsi que les méthodes utilisés au laboratoire.

## 2.1. - Description de la région d'étude

Tizi-Ouzou est une wilaya côtière. Elle se situe dans la partie nord centre de l'Algérie. Elle est délimitée au nord par la mer méditerranée, à l'est par la wilaya de Bejaia, à l'ouest par la wilaya de Boumerdès et au sud par la wilaya de Bouira (**Figure. 13**). Elle est divisée administrativement en 67 communes et 21 daïras. La wilaya de Tizi-Ouzou compte actuellement le plus grand nombre de communes à l'échelle nationale (**Mouaci et Ourahmoun, 2021**).



**Figure 13** - Carte géographique des communes de la wilaya de Tizi-Ouzou avec les zones d'échantillonnage de notre étude (**Ouahiba et al., 2010**).

### 2.1.1. - Description et choix des stations

Afin d'enrichir notre étude et de mieux connaître la situation de la maladie des leishmanioses dans la Région de Tizi-Ouzou, nous avons choisi 4 localités, selon l'accessibilité et la disponibilité des foyers d'échantillonnage. De plus, nous nous sommes basés sur la présence des cas de LC et LV enregistrés par la direction de la santé publique (DSP) de Tizi-Ouzou. Les quatre régions choisies sont : le village de Taboukert, Thala N'Zaouech, Ait Abdelmoumen et Mechtras.

Le choix de la région Taboukert et Tala N'zaouche est basé sur le fait que ces deux régions, possèdent un véritable foyer potentiel de leishmaniose canine. C'est un refuge pour chiens qui sont les principaux réservoirs de la maladie, sur lesquels nous avons effectué des prélèvements sanguins. Concernant les régions de Mechtras et Ait Abdelmoumene, elles ont été choisies sur la base de la présence d'un nombre important d'étables et de fermes, ainsi que des éleveurs de chiens. Les zones d'échantillonnages sont représentées dans le **tableau 1**.

**Tableau 1** - Zones d'échantillonnages avec le nombre de chiens et d'humains prélevés

Zones d'échantillonnages	Origine des individus prélevés	Localisation	Type d'échantillonnage	Nbr. de prélèvements	
				Chiens	Humains
<b>Zone 1 :</b> <b>Refuge 1</b> Tala N'Zaouche	Ouaguenoun	36°46'12"N ; 4°10'29"E	Prélèvement sanguin veineux	16	1
	Tizi Rached	36°40'18" N ; 4°11'30"E	Prélèvement sanguin veineux	2	0
	Timizart	36°48'00"N ; 4°16'00" E	Prélèvement sanguin veineux	2	0
	LNI	36°38'12"N ; 4°12'24" E	Prélèvement sanguin veineux	1	0
	Tizi-Ouzou	36°43'00"N ; 4°03'00"E	Prélèvement sanguin veineux	4	0
	Freha	36°45'43"N ; 4°18'59" E		4	0
	Mekla	36°41'16"N ; 4°16'05"E	Prélèvement sanguin veineux	7	0
	Alger	36°46'22"N ; 3°03'32" E	Prélèvement sanguin veineux	1	0
<b>Zone 2 :</b> <b>Refuge a</b> Taboukert	Bejaïa	36°45'43"N ; 5°04'00"E	Prélèvement sanguin veineux	1	0
	Azazga	36°44'43"N ; 4°22'16"E	Prélèvement sanguin veineux	1	0
	Alger	36°46'22"N ; 3°03'32" E		1	0
	Tizi Rached	36°40'18" N ; 4°11'30"E		2	1
<b>Zone 3 :</b> <b>Mechtras</b>	Mechtras	36°32'41"N ; 4°00'18" E	Prélèvements sanguins veineux	0	7

## **2.2. - Méthodes utilisées sur le terrain**

Dans l'objectif d'investiguer la présence de la leishmaniose dans notre région d'étude, nous avons réalisé un échantillonnage qui consiste à effectuer des prises de sang sur les réservoirs canines et humains.

### **2.2.1. - Méthode des prélèvements sanguins**

#### **2.2.1.1. – Sur chiens**

Après avoir expliqué aux propriétaires les buts et les modalités de l'opération, nous avons procédé à des prélèvements sanguins veineux. Chaque chien est muselé et tenu par son propriétaire, avec l'aide d'une autre personne. Nous avons effectué une désinfection sur la face latérale du métatarse. Un garrot a été réalisé au niveau du genou, ce qui permet de mettre en relief la veine saphène qui sera ponctionnée avec aiguille sur une seringue de 5 ml. Le sang aspiré est directement introduit à l'intérieur d'un tube EDTA afin d'éviter sa coagulation. Nous avons mentionné sur chaque tube la date et le numéro de chien, ces tubes ont été acheminés directement au laboratoire d'Eco épidémiologie parasitaire de (IPA) dans les heures qui ont suivi la collecte, dans une glacière.

Les prises de sang ont été effectuées sur 43 chiens de différentes communes de la wilaya de Tizi-Ouzou. Chaque prélèvement était accompagné d'une fiche de renseignement, sur laquelle figure : le numéro d'identification, le nom du chien, l'âge, le sexe, la race, les signes cliniques le nom et l'adresse du propriétaire (**Annexe 1**).

#### **2.2.1.2. – Sur humains**

Un prélèvement sanguin veineux est réalisé sur 9 personnes, après avoir désinfecté le site de ponction et effectuer un garrot à environ dix centimètre au-dessus de site de ponction. Le sang est prélevé à l'aide d'une seringue de 5 ml. Ce dernier est remis directement dans des tubes EDTA et acheminée au laboratoire d'analyse.

## **2.3. - Méthodes utilisés au laboratoire**

Au laboratoire, plusieurs techniques ont été utilisées telles que : l'Hémoculture, l'IFI et la PCR pour analyser les prélèvements sanguins dans le but de rechercher une présence éventuelle du parasite *Leishmania*.

### 2.3.1. – Préparation des prélèvements sanguins pour les différentes analyses

Un prélèvement de 5ml de sang veineux périphérique est mis dans un tube EDTA ou hépariné, puis centrifugé à 2500 tours pendant 15 minutes. Après centrifugation, 3 couches apparaissent dans le tube, les érythrocytes se disposent au fond, le plasma en surface et entre les deux couches on trouve une couche jaunâtre qui contient les leucocytes et les plaquettes. A l'aide d'une pipette pasteur stérile et à proximité du bec benzène, la couche leucocytaire située à l'interface plasma-culot globulaire est prélevée. La moitié seraensemencée sur milieux NNN et l'autre moitié sera conservée pour la PCR. Pour les sérums recueillis, ils servent à la réalisation de différentes dilutions pour effectuer le diagnostic sérologique par IFI (**Figure 14**).



**Figure 14** - les étapes appliquées dans laboratoire pour les prélèvements sanguins (Originale, 2022).

### 2.3.2. - Hémoculture

Elle permet la croissance des formes promastigotes à partir des ponctions ou des biopsies, dans des milieux d'isolement appropriés (Wery, 1995). Le milieu le plus utilisé est le milieu Novy-Mac Neal Nicolle (N.N.N.) (Annexe 2). C'est un milieu diphasique composé d'une phase solide faite de gélose salée avec 10% de sang de lapin défibriné, et une phase liquide constituée de l'exsudat produit à partir de la gélose au sang. Pour le diagnostic moléculaire de *Leishmania*, nous avons utilisé la couche leucocytaire aspirée précédemment après centrifugation à 2500 tr/15 min, à proximité de bec benzène et à l'aide d'une pipette pasteur. La couche leucocytaire est aspirée soigneusement, et déposée dans le milieu de culture NNN, à laquelle est ajouté 1ml de solution d'antibiotique pour éviter les contaminations bactériennes. L'incubation se fait à 25°C et après 3

jours, nous avons réalisé un repiquage. A J7, nous avons fait une observation entre lame et lamelle en vue d'observation des formes promastigotes au microscope, puis nous avons refait la lecture au j14/j21/j27 avant de prononcer un résultat négatif.

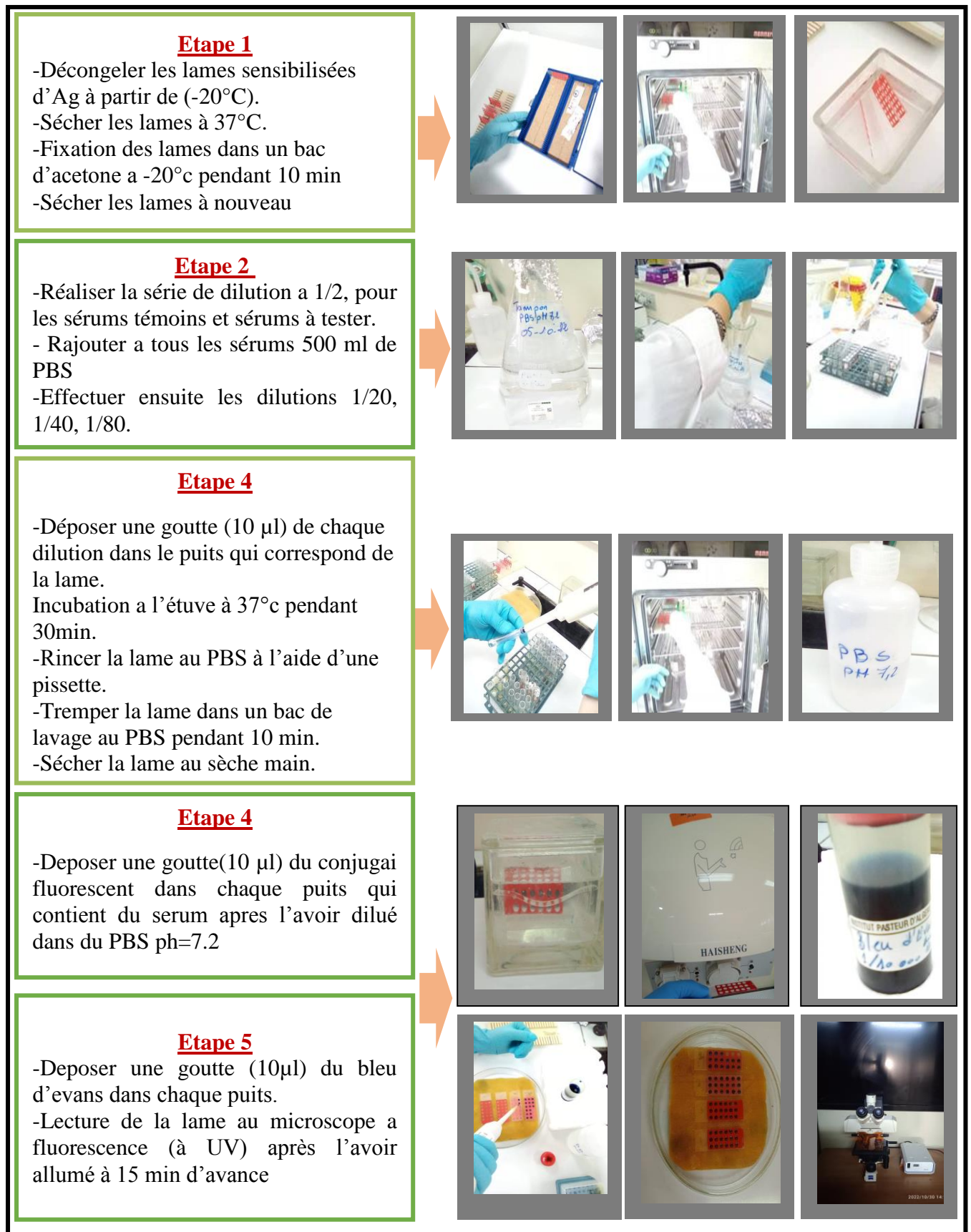
### 2.3.3. - Technique d'Immunofluorescence Indirect.

C'est une technique d'immuno-marquage, qui utilise des anticorps ainsi que des fluorescences. Elle est basée sur la réaction Ag-Ac révélée par un réactif sous la lumière UV. La fixation des anticorps spécifiques sur l'antigène figuré est révélée par l'adjonction d'anti-immunoglobuline marquée à l'iso thionate de fluorescéine (Rosset, 1999).

#### 2.3.3.1. - Mode opératoire d'IFI

Les lames sensibilisées d'Ag comportant 18 puits (3 lignes et 6 colonnes), sont préalablement mises au réfrigérateur à (-20°C), puis à l'étuve pendant 30 min à 37°C pour les décongeler ; une fixation à l'acétone à froid est ensuite réalisée pendant 10 min pour permettre une meilleure fixation de l'antigène et encore sécher à l'étuve pendant 30 min.

En deuxième étape on procède à la dilution des sérums recueillis dans des tubes Eppendorfs après centrifugation, deux témoins sont utilisés, l'un positif et l'autre négatif, dilués à 1/20. Ceux des humains sont dilués à 1/20, 1/40, 1/80 avec le PBS ; rajouter à tous les sérums 500 µl de PBS et effectuer ensuite les dilutions 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/340. 10 µl de chaque dilution est déposé sur un puits de la lame, les deux premiers puits sont réservés pour les sérums témoins, le premier positif contacte AG-AC et l'autre négatif. Les lames sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 10 min, ces dernières sont ensuite lavées soigneusement par aspersion de solution de PBS à l'aide d'une pissette, puis immergées dans un bac de lavage contenant de PBS pendant 10 min, puis sécher avec la sèche main. Une fois sécher on rajoute dans chaque puits une goutte de conjugué (IgG) diluée et les laissés à l'étuve dans une chambre humide pendant 30 min. On lave ensuite les lames au PBS pendant 5 min, puis les trempés dans un bac de lavage au PBS pendant 10 min puis sécher ; les puits sont ensuite remplis d'une solution de bleu d'Evans (sert à colorer le fond des leishmanies et marqué la coloration non spécifique) et incubées à nouveau à 37° pendant 15 min (Annexe 3) (Figure 15). Après lavage et séchage, on ajoute quelques gouttes de glycérine aux lames et on les couvre par une lamelle et on observe au microscope à UV Gx40. Le seuil de positivité des sérums est fixé par laboratoire à 1/80.



**Figure15** - Protocole de teste immunofluorescence indirecte (Originale, 2022).

### **2.3.4. - Extraction d'ADN par la méthode de phénol chloroforme**

Comme l'ADN est situé dans les cellules, il faut en séparer et en retirer les matières inutiles telle que les membranes, et les protéines pour permettre son analyse, et ceci peut être réalisé par les différentes étapes de l'extraction d'ADN qui lui rend pure.

#### **2.3.4.1. - Lyse cellulaire**

Un tampon de lyse (200µl) et de SDS (20 µl).à 10<sup>4</sup> sont ajoutés au culot parasitaire pour casser les ponts disulfures et la bicouche lipidique de la cellule, par la suite la protéinase K (20mg/ml) est ajouté pour digéré les protéines existantes dans la solution et notamment celle qui sont liées à l'ADN ( Annexe 4), vortexé puis laisser le mélange incubé à 55°C pendant toute une nuit.

#### **2.3.4.2. - Déprotéinisation (sous hotte chimique)**

La déprotéinisation de la solution se fait par l'ajout de 200µl du phénol /chloroforme/ alcool isoamylique (25v/24v/1v) à la solution préparation précédente puis mélanger les deux phases jusqu'à obtention d'un mélange laiteux et laisser agir 5 minutes sur la paillasse. Après centrifugation à 10000 tours pendant 15 min, les protéines dénaturées forment un précipité à l'interface phénol-eau, tandis que l'ADN reste en solution dans la phase aqueuse, cette dernière est récupérée délicatement dans un nouveau tube Eppendorf.

#### **2.3.4.3. - Précipitation :**

Pour précipiter l'ADN de l'acétate de sodium, (1/10 de volume de nôtres échantillon donc 20µl) et deux fois de l'éthanol absolu (500µl), sont par la suite ajouté à la solution récupérée précédemment et centrifuger à 10000 tr/15min à +4°C pendant 15 min, puis le surnageant sera jeté. Laver le culot avec de l'éthanol 70° et centrifuger à nouveau et sont séchés à température ambiante toute la nuit, après une nuit de séchage, du tampon dilution (TE) 50µl est ajouté pour hydrater l'ADN et conservé à -20°c pour une utilisation ultérieure (**Figure 16**).

- 1. -Lyse Des Parasites :** Ajouter au culot  
 -200  $\mu$ l de tampon de lyse.  
 -20  $\mu$ l de SDS 10%.  
 -20  $\mu$ l de la protéinase K  
 -Laisser incuber toute la nuit à 55°



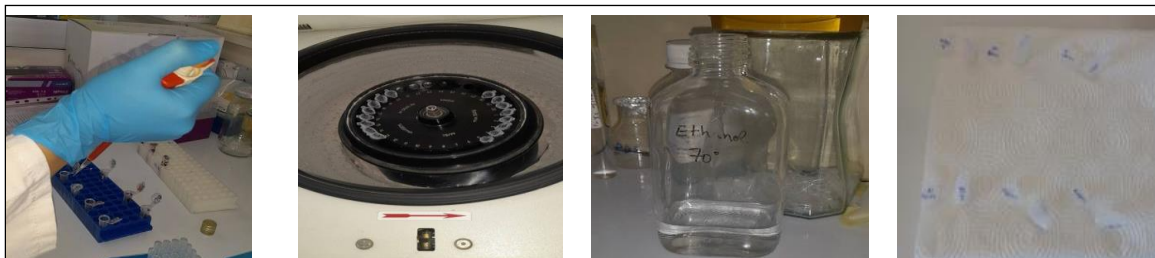
**2. -Déproteïnisation (sous la hotte chimique)**

- Ajouter un volume égale de mélange phénol chloroforme/ Alcool isoamylique (25v, 24v, 1v).  
 -Mélanger les deux phases jusqu'à obtention d'un mélange laiteux (2 ; 3min).  
 -laisser agir 5 min sur la paillasse.  
 -centrifuger a 13000 tours pendant 10 minutes.  
 -Aspirer la phase supérieure sans aspirer, l'interphase, la transférer dans un autre tube de 2 ml.



**3. -Extraction au phénol/ chloroforme :**

- Mettre de l'acétate de sodium (20 $\mu$ l).  
 -centrifugation a 12000 à 4°C pendant 15 min.  
 -ajouter 500  $\mu$ l de l'éthanol 70%.  
 -laisser sécher une nuit à température ambiante.
- Ajouter deux fois le volume de l'éthanol absolu (500 $\mu$ l)  
 -jeter le surnageant.  
 - centrifugation a 12000 à 4°C pendant 15 min.  
 -Après une nuit de séchage ajouter 100 de TE



**Figure 16 - Protocole d'extraction d'ADN parasitaire (Originale, 2022).**

### 2.3.5. - PCR (polymerasechainreaction)

La PCR (Polymérase Chain Reaction) permet d'amplifier *in vitro* une région spécifique d'un acide nucléique et répétition d'élongation en présence d'amorces nucléiques et spécifiques et d'une ADN polymérase afin d'obtenir une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier (Mullis, 1985). Dans le thermocycleur, il se produit dans un premier temps une dénaturation thermique, cette étape consiste à séparer par la chaleur les deux brins d'ADN en rompant les liaisons hydrogènes. L'ADN double brin est chauffé, à une température élevée de l'ordre de 94°C. Cette température de dénaturation est supérieure à celle de l'ADN qui passe alors sous forme simple brin dans le milieu. Ces brins serviront de matrices au cours des cycles d'amplification. En second lieu une hybridation des amorces : le milieu réactionnel contient deux amorces (Reverse et Forward), chacune complémentaire d'un des brins. Celles-ci déterminent les bornes des séquences à amplifier. La  $T_m$  est en fonction de la séquence, elle est en générale de l'ordre de 45 à 60°C. Et enfin l'Elongation des amorces : une ADN polymérase allonge les amorces en y incorporant les désoxyribo-nucléotides complémentaires de la séquence de la matrice à laquelle elle est hybridée. La synthèse s'effectue dans le sens 5' 3' à 72°C, température optimale. A la fin du cycle, deux copies de la séquence d'ADN cible sont obtenues.

#### 2.3.5.1. - Préparation du mix

Cette étape doit se réaliser sous des conditions aseptiques (DNA free) dans une pièce isolée et sous une hotte à U.V pour éviter toute contamination du mix. Les produits du mix de protocoles ITS1, et leurs volumes nécessaires, ainsi que leurs rôles sont mentionnés dans le tableau 3 et en (Annexe 5). Pour le mode opératoire, chaque constituant du mix est multiplié par le nombre d'échantillon étudié, tous les constituants sont mélangés dans un tube Eppendorf, 48 µl de ce mélange sont distribués dans chaque tube de barrettes de 0,5 spécifiques à la PCR (thermocycleur). En plus des échantillons nous avons :

- Témoin(-)** : contient 2µl d'eau distillée stérile + 48 µl de mix.
- Témoin (+)** : contient 2µl de l'ADN (+) plus 48 µl du mix.
- L'échantillon** : contient 2µl d'ADN extrait ajouté de 48 µl de mix. Le volume total de chaque microtube (échantillons et témoins) est de 50 µl.

Pour les volumes du mix nous avons préparé deux fois pour 15 ADN puis pour 16 ADN.

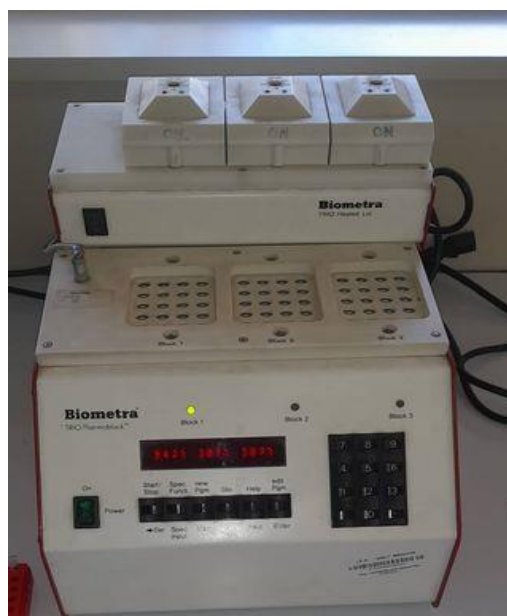
**Tableau 3** - Réactifs et volumes nécessaires pour la préparation du mix

Réactifs	Volume x 1 échantillon	Volume x 15	Volume x 16
H <sub>2</sub> O	30µl	450µl	480 µl
ST°Q	5µl	75 µl	80 µl
Amorce, 1 Amorce 2	1µ de chacune	15 µl	16 µl
dNTP	2.5µl	37.5 µl	40 µl
TP	5µl	75 µl	80 µl
MgCl <sub>2</sub>	3µl	45 µl	48 µl
Taq	0.5µl	7.5 µl	8 µl
ADN	2µl	48 µl mix + 2 µl ADN	48 µl de Mix+ 2 µl d'ADN

### 2.3.5.2. - Programmation du Thermocycleur

Une fois la préparation et la distribution du mix terminé, les micros tubes seront placés dans le thermocycleur (**Figure 17**), ce dernier est programmé selon le gène. La réaction de polymérisation en chaîne se déroule en 3 étapes qui sont : la dénaturation initiale, l'hybridation et l'élongation finale (**Annexe 6**). Cet appareil permet d'exposer les tubes à des températures choisies et pour des durées déterminées par l'expérimentateur.

46 mix ont été passés dans la PCR dont 3 témoins positifs, un témoin négatif, 9 sont des ADN humains et 33 ADN des chiens.



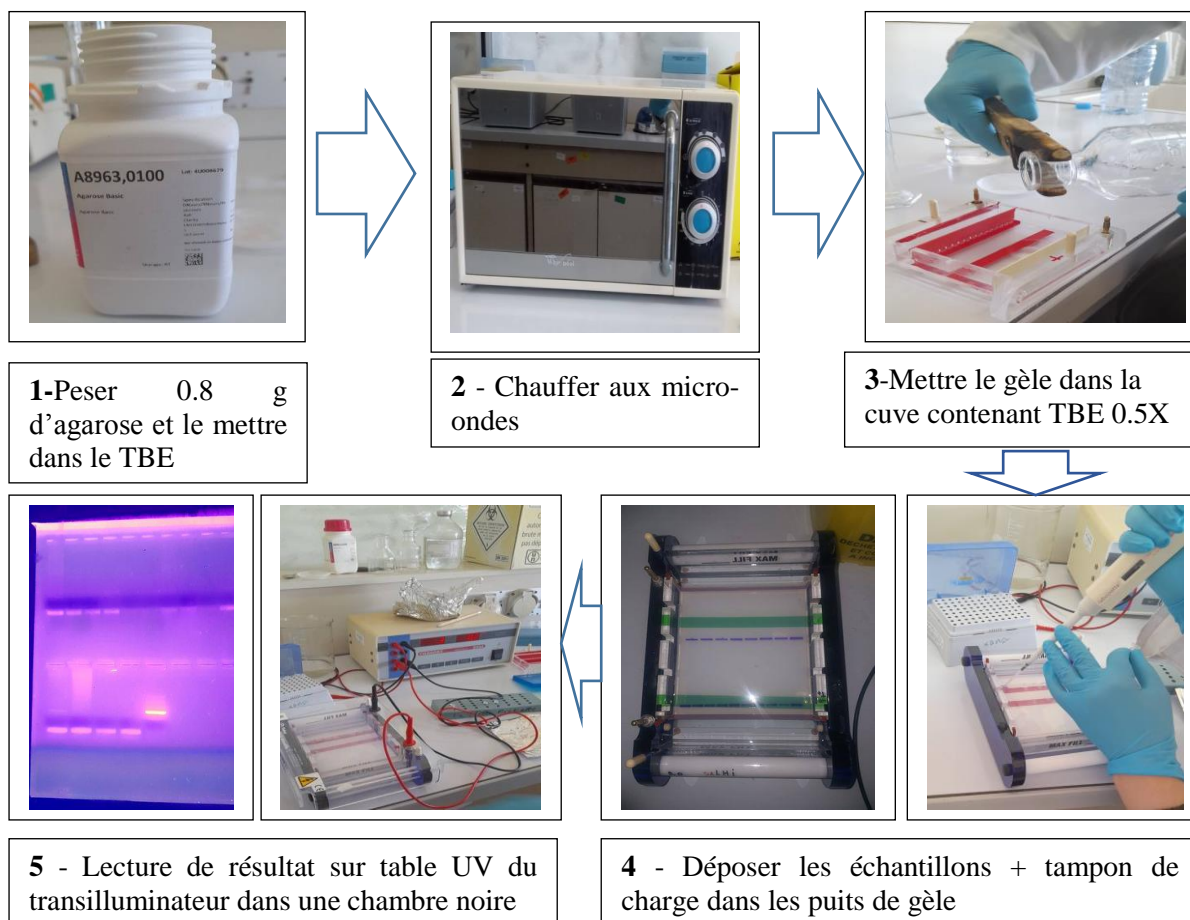
**Figure 17** - Thermocycleur IPA (Originale, 2022).

### 2.3.5.3. - Révélation des produits PCR par Electrophorèse horizontale sur gel d'agarose

Par électrophorèse sur gel d'agarose, on peut analyser la présence et la taille des acides nucléiques contenus dans la préparation. Ceux-ci sont révélés par le bromure d'éthidium, un colorant dont la fluorescence augmente très sensiblement quand il interagit avec l'ADN.

### 2.3.5.4. - Préparation du gel d'agarose

Pesé 1,5g d'agarose et le mettre dans 100ml de TBE 1X. Après chauffage, mélangé aux micro-ondes jusqu'à obtention d'un liquide limpide, puis pour le refroidir, on met le mélange sous l'eau courante puis ajouter 7 $\mu$ l de BET. Couler le gel dans la cuve après avoir positionné le peigne. Après polymérisation du gel, les peignes sont retirés soigneusement, et 7 $\mu$ l du produit de PCR sont mélangés avec 3 $\mu$ l de tampon de charge et déposer dans les puits de gel en réservant les trois derniers puits respectivement pour le témoin négatif, le témoin positif et le marqueur de PM. Ensuite, on branche les électrodes de la cuve à l'alimentation de manière à ce que les dépôts soient de côté cathode en appliquant une tension de 120 V qui correspond à 1h de migration. Enfin, quand le colorant de charge arrive à proximité du front de migration, on coupe l'alimentation. La révélation des bandes d'ADN se fait par le trans-illuminateur,



**Figure 18** - Protocole d'électrophorèse sur gel d'agarose 1,5% (Originale, 2022).

# Chapitre 3: Résultats

Dans ce chapitre, nous allons exposer les résultats des variations temporelles des cas de leishmaniose cutanée et viscérale enregistrés au sein de la direction de la santé publique de la wilaya de Tizi-Ouzou durant la période 2010 jusqu'à 2021. Nous allons aussi présenter les résultats de l'examen sérologique (IFI), et moléculaire (PCR) effectués sur les prélèvements sanguins veineux des chiens et leurs propriétaires au sein de laboratoire d'Eco épidémiologie parasitaire de l'institut Pasteur d'Algérie.

### 3.1. Variations temporelles des cas de LC et LV enregistrés entre 2010 et 2021 dans la région de Tizi-Ouzou

#### 3.1.1. Variations temporelles des cas de LC et LV dans le temps

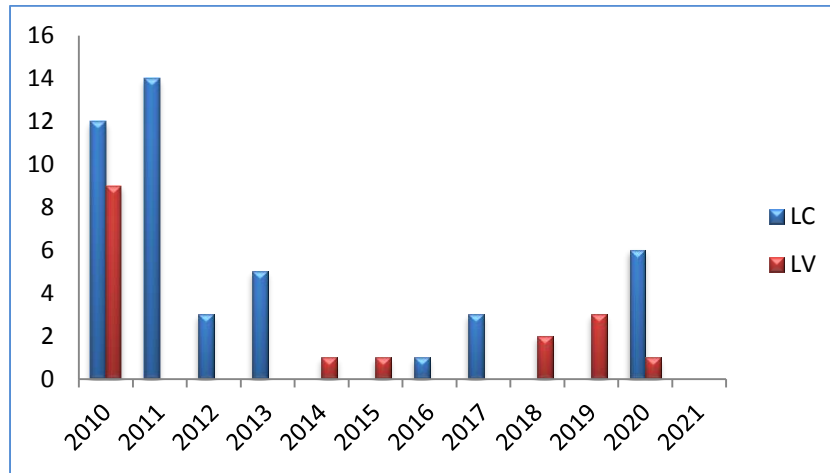
Les variations temporelles de la leishmaniose cutanée et vésicale recensées par la direction de la santé publique de Tizi-Ouzou durant les années entre 2010 et 2021 sont consignées dans le **tableau 4**.

**Tableau 4** - Distribution des cas de LC et LV de 2010 jusqu'à 2021

Années	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
LC	12	15	3	5	0	0	1	3	0	0	6	0
LV	9	0	0	0	1	1	0	0	2	2	1	0

Selon le **tableau 4**, le nombre des cas de la leishmaniose cutanée entre 2010 et 2021 fluctuèrent entre 1 et 15 cas. On effectue on a recensé 12 cas en 2010 ; 15 cas en 2011 ; 3 cas en 2012 et 2017 ; 1 cas seulement en 2016 et en fin 6 cas en 2020. Par contre ya des années ou aucun cas n'a été enregistré tel que 2014, 2015, 2018, 2019, 2021.

Entre 2010 et 2020 très peu de cas de LV ont été notifiés. Seulement 9 cas ont été enregistrés en 2010 et 1 cas durant les années 2014, 2015 et 2020 et en fin 2 cas en 2018 et 2019



**Figure 21** – variation temporelle des cas de LC et LV de la région de Tizi Ouzou entre 2010 et 2021.

Selon la figure 21, il ressort que le nombre des cas de ces deux maladies n'évoluent pas de la même manière. Nous avons noté qu'ils y a eu beaucoup de cas de la leishmaniose cutanée par rapport aux nombres des cas de la leishmaniose viscéral à Tizi-Ouzou durant la période 2010 jusqu'à 2021(Figure 21).

### 3.1.2. - Variation temporelles des cas de LC et LV en fonction d'âge

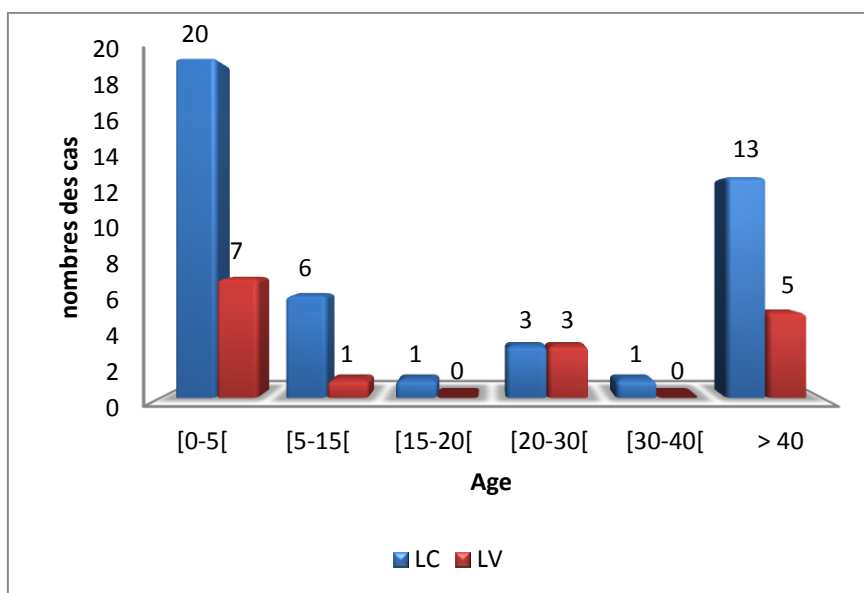
Les résultats des variations temporelles de LC et LV enregistré par la DSP selon les tranches d'âge sont représentés dans le **tableau 5**.

**Tableau 5** - distribution des cas de LC et LV selon les tranches d'âge

Age	[0-5[	[5-15[	[15-20[	[20-30[	[30-40[	> 40
LC	20	6	1	3	1	13
LV	7	1	0	3	0	5

Selon le tableau 5 on constate que les tranches d'âges des personnes atteintes de la LC, durant la période comprise entre 2010 et 2021 varient entre 0 et plus de 40 ans. On effet, on retrouve 20 personnes ont un âge de moins de 5 ans, 6 personnes ont un âge entre 5 et 15 ans, seulement un seul cas a été enregistré pour la tranche d'âge 15 à 20ans et 30 à 40 ans respectivement. Trois cas ont été recensés pour la tranche d'âge 20 et 30ans. En fin, 13 cas ont un âge plus de 40 ans

Pour la LV, 7 cas ont été enregistré pour les personnes ayant un âge de moins de 5 ans. Seulement un cas dont l'âge est entre 5 et 15 ans, 3 cas avec un âge variant entre 20 et 30 ans et en fin 5 cas ont plus de 40 ans.



**Figure 22** - Distribution des cas de leishmaniose cutanée et viscérale par tranche d'âge.

Selon la figure 22, on remarque une nette prédominance de la LC et LV chez les personnes âgés de 0 à 5 ans et ceux qui sont âgés de plus de 40 ans (**Figure 22**).

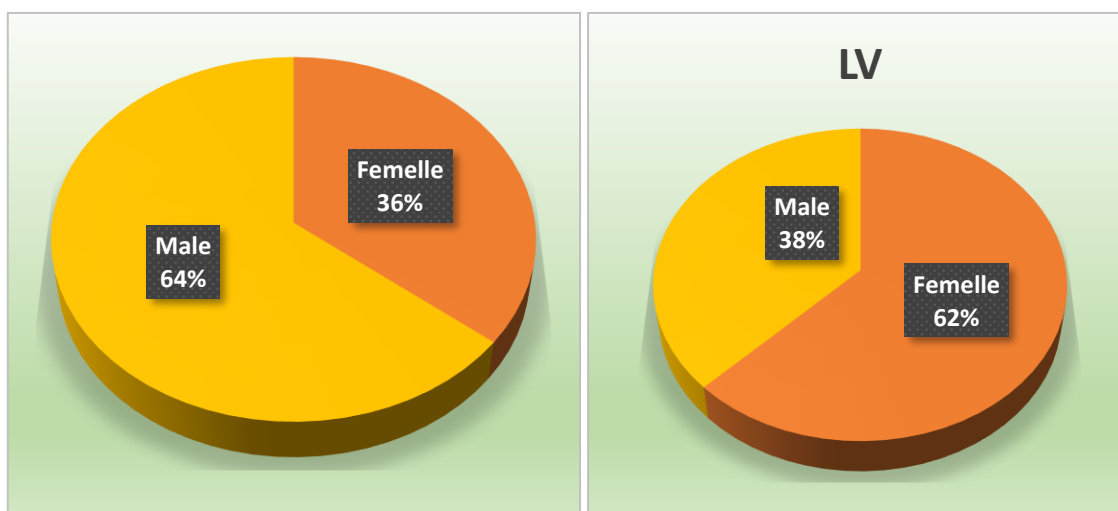
### 3.1.3 - Variation temporelles des cas de LC et LV en fonction de sexe

Les résultats des variations temporelles des cas de la leishmaniose cutanée et viscérale selon le sexe sont mentionnés dans le **tableau 6**.

**Tableau 6** - les cas de LC et LV selon le sexe

Sexe	LV	LC
Femelle	11	15
Mâle	5	27

Le **tableau 6** montre que la maladie touche les deux sexes sans distinction avec une prédominance du sexe masculin par un nombre de 27 cas, soit un pourcentage de 64% pour la LC. En ce qui concerne la LV, une prédominance du sexe féminin a été enregistrée durant cette période (2010-2021) avec un nombre de 11 cas, soit un pourcentage de 62% (**Figure 23**).



**Figure 23 :** Variation temporelle de LC et LV durant la période 2010-2021 en fonction de sexe.

### 3.1.4 – Variation des cas de leishmaniose cutanée et viscérale en fonction des communes

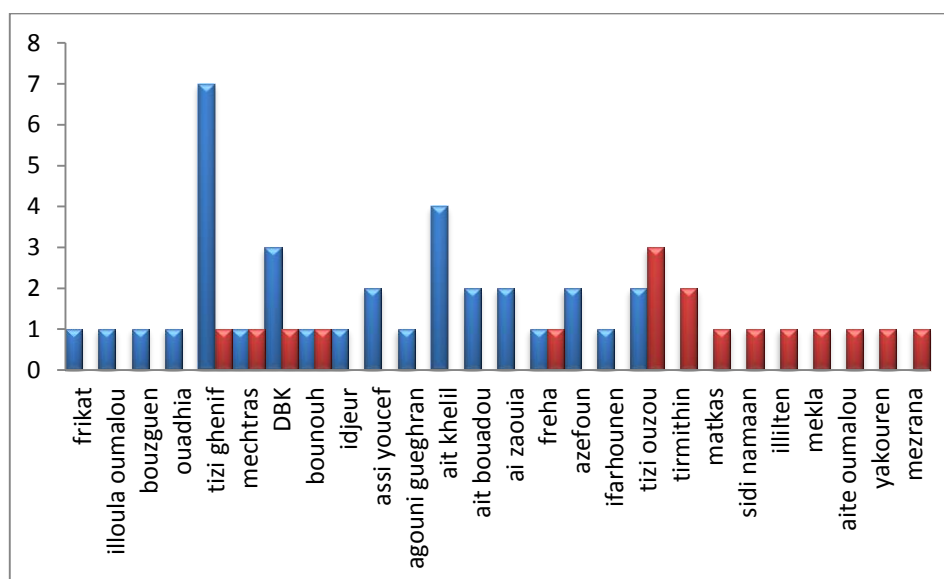
Les variations temporelles des cas de LC et LV selon l'origine géographique durant la période 2010-2021 sont présentées dans le **tableau 7**.

**Tableau 7** - les cas de leishmaniose cutanée et viscérale selon l'origine géographique

Commune	LC	LV	Total
Frikat	1	0	1
IlloulaOumalou	1	0	1
Bouzguen	1	0	1
Ouadhia	1	0	1
Tizi-Gheniff	7	1	<b>8</b>
Mechtras	1	1	2
Dbk	3	1	<b>4</b>
Bounouh	1	1	2
Idjeur	1	0	1
Assi Youcef	2	0	2
AgoueniGueghran	1	0	1
Ait Khelilli	4	0	<b>4</b>
Ait Bouadou	2	0	2
Ain Zaouia	2	0	2
Freha	1	0	1
Azefoun	2	1	3
Ifarhounen	1	0	1
Tizi-Ouzou	2	0	2
Tirmithin	0	3	3
Matkas	0	2	2

Sidi Naaman	0	1	1
Illilten	0	1	1
Mekla	0	1	1
Ait Oumalou	0	1	1
Yakourene	0	1	1
Mezrana	0	1	1

Les deux leishmanioses humaines : la LC et la LV dans la région de Tizi-Ouzou ont été signalées sur l'ensemble du territoire. Le nombre élevé de cas de leishmaniose cutanée enregistré est concentré dans la dépression de Draa-El-Mizan avec 8 cas plus exactement dans la région de Tizi-Gheniff, suivie par DBK avec 3 cas et ait khelilli avec un nombre de 4 cas. Alors que pour les autres régions le nombre de cas varient entre 0 et 2 cas. Concernant la leishmaniose viscérale, le nombre maximum de cas enregistré est de 3 cas au niveau de la commune de Tirmithine (**Figure 24**).



**Figure 24** - Répartition de la LC et LV par communes.

### 3.3 - Résultats des prélèvements sanguins

Les différents résultats obtenus après l'analyse des prélèvements sanguins par les différentes techniques sont présentés comme suite :

#### 3.3.1. - Résultats d'hémoculture

Les résultats obtenus par l'hémoculture des prélèvements sanguins des chiens et des humains sont comme suite :

### 3.3.1.1. - Chez les Chiens

Sur les 42 chiens prélevés, uniquement 28 prélèvements ont étéensemencés sur milieu NNN. Les résultats de contrôles sur 4 semaines sont regroupés dans le **tableau 8**.

**Tableau 8** - Résultats des cultures sur milieux NNN

Echantillons	Nmbr d'échantillons	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4	Résultats
Echantillonnage1	18	4/10/22	11/10/22	17/10/22	25/10/22	négatifs
Echantillonnage2	/	/	/	/	/	/
Echantillonnage3	10	20/25/22	25/10/22	/	/	négatifs

Le résultat d'ensemencement sur milieu NNN est négatif pour les 28 échantillons après control de 4 semaines, les résultats ne sont pas définitifs vu que *Leishmania infantum* prend beaucoup du temps pour pousser sur milieux NNN.

### 3.3.1.2. - Chez les Humains

Les résultats d'ensemencement sur milieu NNN et après contrôles de 4 semaines sont représentés dans le **tableau 9**.

**Tableau 9** - Résultats d'ensemencement sur milieux NNN

Echantillons	Nmbr d'échantillons	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4	Résultat
<b>Echantillon 1</b>	<b>7</b>	3/08/22	28/10/22	/	/	<b>Contaminés</b>
<b>Echantillon 2</b>	<b>2</b>	4/10/2022	11/10/22	17/10/22	25/10/22	<b>Négatifs</b>

Parmi les 9 échantillons ensemencés sur milieux NNN, 7 ont été contaminés après contrôle de deux semaines ce qui est du peut être à l'absence de repiquage ou aux conditions des prélèvements.

## 3.3.2 - Résultats de l'immunofluorescence indirect (IFI)

Cette technique est appliquée sur les sérums isolés après centrifugation des prélèvements sanguins des chiens et des humains.

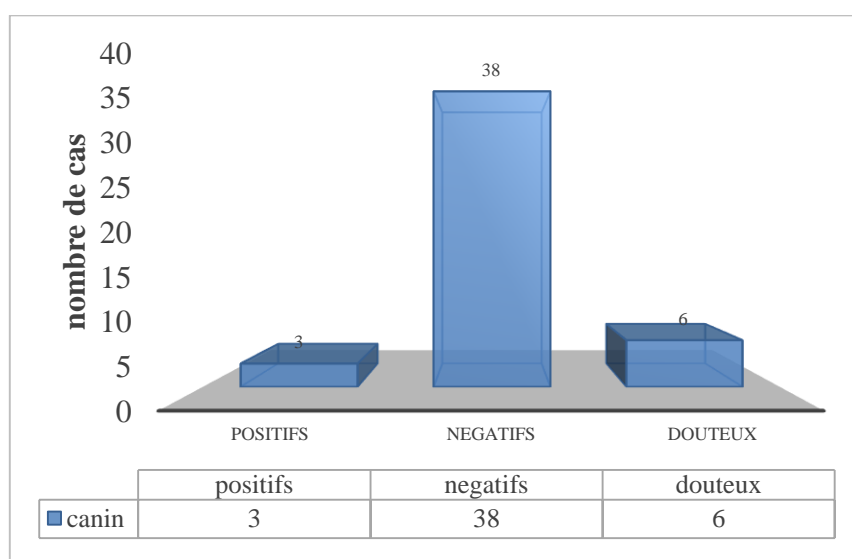
### 3.3.2.1. -Sérums des chiens

41/42 sérums de chiens ont été testés en vue de rechercher des anticorps spécifiques par immunofluorescence indirect (IFI) sur lesquelles sont effectué des délutions jusqu'à 1/80<sup>ème</sup>. Les résultats sont décrits dans le **tableau 10**.

**Tableau 10** - Résultats d'immunofluorescence indirecte

Nbrde sérums	positifs	seuil de positivité	%	négatifs	douteux	seuil d'anticorps		%
						1/20	1/40	
41	3	1/80	7,31%	38	6	4	2	14,63%

Sur les 41 sérums testés, 3 chiens ont obtenus un seuil de positivité à  $\pm$  1/80 (seuil de positivité établie par l'Institut Pasteur d'Algérie pour la technique d'immunofluorescence indirecte IFI), soit un pourcentage de (7,3%), alors que 38 sérums ont été négatifs à l'examen sérologique. Toutefois, quatre sérums ont été douteux avec un seuil de (1/20) et deux sérums avec un seuil de (1/40), soit un pourcentage de 14,63% (**Figure 25**).

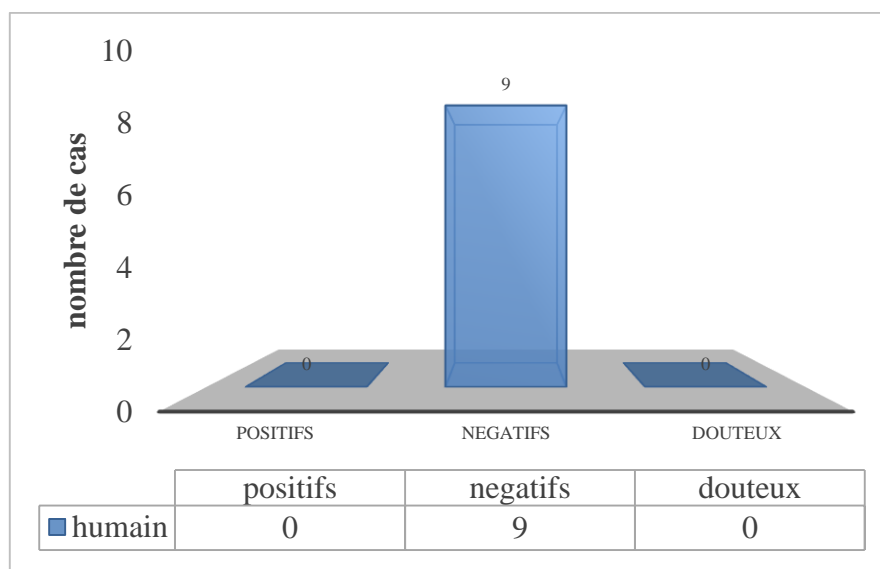
**Figure 25** - Nombre de chiens séropositifs, négatifs et douteux trouve par l'IFI.

### 3.3.2.2. - Sérums des humains

9 sérums sont testés par l'immunofluorescence indirect, les résultats sont représentés dans le **tableau 11** et la **figure 26**.

**Tableau 11** - Résultats d'IFI sur les sérums des Humains.

Nombre de sérums	positifs	négatifs	douteux
9	0	9	0



**Figure 26** - Nombre des humains positifs, négatifs et douteux par l'IFI.

### 3.3.3 - Résultats de la PCR standard

Un total de 40/51 ADN a été testé par la PCR standard. Les 10 autres échantillons n'ont pas fait l'objet de PCR à cause des erreurs dans les étapes d'extraction d'ADN. Les résultats obtenus sont représentés dans la partie suivante.

#### 3.3.3.1. –Résultat de la PCR standard sur l'ADN des chiens

Les résultats obtenus par (PCR standard) réalisée sur 32 ADN de chiens sont présenté dans le **tableau 12**.

**Tableau 12** - Résultats de PCR en fonction d'âge, sexe, Race et communes

Nbr. d'ADN testés	L'Age	Sexe	Race	Commune	Résultats
1	5 Mois	Mâle	Croisé		Neg
2	6 Ans	Femelle	Staff Allemand	Timizart	Neg
3	15 Mois	Femelle	Chien de chasse		Neg
4	4 Ans	Femelle	Local	Tizi Rached	Neg
5	4ans	Femelle	Berger		Neg
6	4 Ans	Femelle	Croisé Loup		Neg
7	2,5 Ans	Mâle	Berger Allemand		Neg
8	5 ans	Mâle	Croisé		Neg
9	4 ans	Mâle	Croisé		Neg
10	3 ans	Femelle	Croisé		Neg
11	2 ans	Mâle	Staff Croisé		Neg
12	6 ans	Mâle	Berger Allemand		Neg
13	2 ans	Mâle	Rottweiler		Neg
14	1an	Femelle	Croisé		Neg
15	1an	Femelle	Croisé rottweiler		Neg
16	8 mois	femelle	Croisé	Ouaguenoun	Neg

17	5 Ans	Mâle	Berger Allemand	LNI	Neg
18	2 Ans	Femelle	Locale		Neg
19	1 an	Femelle	Locale		Neg
20	3 Ans	Femelle	Chien de chasse		Neg
21	1 an	Femelle	Croisé		Neg
22	4 ans	Mâle	Croisé		Neg
23	8 mois	femelle	Croisé	Mekla	Neg
24	15 Mois	Femelle	Croisé		Neg
25	1 an	femelle	Chien de chasse	Freha	Neg
26	2 Ans	Mâle	Dog Argentine	Yakouren	<b>Pos</b>
27	8 Ans	Femelle	Croiser Berger	Bejaïa	<b>Pos</b>
28	1 An	Femelle	Croisé Malinois		Neg
29	4 ans	femelle	Croisé	Alger	
30	1 An	Femelle	Croisé		Nég.
31	1an	Femelle	Croisé		
32	2,5	femelle	Croisé	Tizi-Ouzou	

L'analyse par PCR standard nous a permis de détecter deux cas de leishmaniose canine.

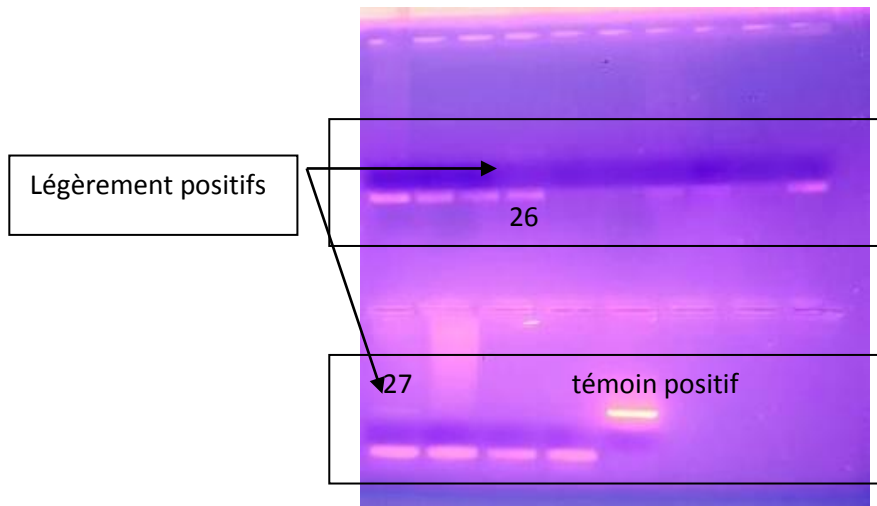
**Chien 1** : il s'agit d'un chien argentin d'origine de la commune Yakourene, âgé de 2 ans (**Figure 26**). Il possède les signes cliniques suivants : amaigrissement, allongement des griffes et des lésions cutanées (**Figure 27**).



**Figure 27** - les signes clinique du cas positif de leishmaniose canine d'origine de Yakourene (**Original, 2022**).

**Chien 2** : il s'agit d'un croisé berger femelle d'origine de Bejaïa, âgé de 8 ans. Ce dernier est un porteur sain de la maladie, il ne représente aucun signe clinique.

En présence d'ADN dans les extractions faites, on a eu une fluorescence de couleur rouge-orangée sur notre gel d'agarose comme la montre la **figure 28**.



**Figure 28** - Une fluorescence qui montre la présence d'ADN (**Originale, 2022**).

### 3.3.3.2. – ADN des humains

9 ADN ont été testés par la PCR standard, les résultats obtenus sont représenté dans le **tableau 13**.

**Tableau 13**–Résultat de la PCR standard sur les ADN des humains.

Nombre d'ADN	Origine	Sexe	Résultats
1	Mechtras	Mâle	Neg
2		Mâle	Neg
3		Mâle	Neg
4		Mâle	Neg
5		Mâle	Neg
6		Femelle	Neg
7		femelle	Neg
8	Tizi Rached	femelle	Neg
9	Ouaguenoun	mâle	Neg

Le résultat de la PCR ITS1 de l'ADN extrait du sang des humains est négatif, aucun ADN parasitaire n'a été détecté.

# Chapitre 4: Discussion

Ce chapitre comporte la partie discussion des résultats de l'enquête sur les cas de LV et LC enregistrés au sein de la direction de la santé public durant la période (2010-2021) en fonction : des années, de l'âge, l'origine géographique et selon le sexe. De plus, cette partie comporte la discussion des résultats obtenus par 3 tests d'analyse à savoir : IFI, PCR et l'Hémoculture qui ont été appliqués sur des prélèvements sanguins veineux des chiens et des humains.

#### **4.1 - Discussion des résultats des variations temporelle des LC et LV**

##### **4.1.1 - Evolution des cas des deux formes de leishmaniose chez l'homme dans la région de Tizi-Ouzou**

Dans notre enquête, nous avons remarqué que durant la période 2010 – 2021, 45 cas de leishmaniose cutanée ont été enregistrés. Si nous comparons ce chiffre aux 103 cas enregistrés entre 2005- 2010 (**Mouloua, 2014**) et aux 213 cas de LC cité par Achour Barchiche et Madiou entre 1999 et 2007 (**Achour et al., 2009**), nous constatons une nette diminution du nombre de cas avec une fluctuation significative d'une année à une autre ; deux pics de 12 et 15 cas furent enregistrés respectivement en 2010 et 2011, puis ce nombre décline à partir de 2012 avec seulement 3 cas pour s'annuler complètement en 2014. Cette diminution de la leishmaniose cutanée serait probablement liée, du moins en partie, au programme national de lutte contre les leishmanioses en Algérie, exécuté par les services de prévention de la wilaya de Tizi-Ouzou entre 2001- 2011. Ce programme comporte plusieurs action et notamment la désinsectisation intra et péri-domiciliaire.

En Afrique du Nord, la Kabylie est considérée comme étant le foyer le plus actif de la leishmaniose viscérale et regroupe à lui tout seul près de 50% des cas (**Harrat et al., 1995**). Le nombre de cas de LV enregistré entre 2010 et 2021, soit durant une période de 10 années, est de 16 cas. Si nous comparons ce chiffre aux 253 cas décrits par Dedet et *al.* entre 1964 et 1976 (**Dedet et al., 1973**) aux 190 cas décrits par Belazzoug et *al.* entre 1975 et 1984 (**Belazzoug et al. 1985**), nous constatons une nette diminution ces dix dernières années. Cette diminution de la LV, serait aussi très probablement aussi liées à la stratégie de lutte intégrée, adoptée par l'Algérie ciblant les différents maillons du cycle épidémiologique de la maladie et les mesures préventives (**Harrat, 1985**) telles que ;

- La sensibilisation de la population à l'égard de cette maladie,
- Le diagnostic précoce et le suivi post-thérapeutique des patients,
- La lutte contre le réservoir canin,
- La lutte contre le vecteur, par l'épandage des insecticides à effets rémanent.

#### 4.1.2 – Evolution temporelle des cas de Leishmaniose cutanée et viscérale selon l'âge

Dans notre enquête, nous constatons que la leishmaniose cutanée touche beaucoup plus les enfants de 0 à 5ans avec un taux de 45,45% de l'ensemble des cas. Un taux encore plus élevé (70%) de cas de LC dans cette tranche d'âge fut enregistré dans la région du Hodna en Algérie entre 1995 et 2009 (**Cherif, 2014**). Cette affection est prédominante chez les jeunes, car leur statut immunitaire est vulnérable. Cette tendance de la leishmaniose de toucher la frange juvénile est le propre des foyers anciens dont l'incidence suit le taux de natalité (**Bourdache, 2015**).

D'après l'analyse des résultats de la répartition des cas de la Leishmaniose cutanée et viscérale par tranches d'âges, nous avons constaté que la tranche d'âge la plus touchée pour la Leishmaniose viscérale est de 0 à 5 ans. Cette tranche d'âge signalée est similaire à celle trouvée par **Achour et al.** en (**2008**). De même, **Izri et al.** en (**1992**), ont observé que la catégorie d'âge la plus touchée était des enfants de moins de 5 ans à cause de l'immaturation du système immunitaire.

#### 4.1.3 – Evolution temporelle des cas de leishmaniose cutanée et viscérale selon le sexe :

Parmi les 45 cas de LC enregistrés, un nombre de 28 cas masculins et 15 cas féminins ont été notifiés. Nous avons constatés qu'il y a une prédominance masculine avec un sexe ratio de : 1.8. Nos résultats sont proche de l'étude faite entre 1999 et 2007 par **Achour et Madiou (2008)**, qui ont trouvé une nette prédominance masculine avec un sexe ratio de 1,4. Cette prédominance peut être expliquée par le fait que les hommes ont une activité intense à l'extérieure, les exposants d'avantage à la piqure du phlébotome vecteur.

Pour la LV, un total de 16 cas de leishmaniose viscérale ont été rapportés entre 2010 et 2021 par la DSP de Tizi Ouzou. Nous avons noté une prédominance du sexe féminin : 5 cas sont de sexe masculin et 11 cas de sexe féminin avec un sexe ratio de 1,8. Ces résultats concordent avec l'étude qui a été faite par **Chebbah et Yesli (2020)**. Dans cette étude, les auteurs ont trouvés 84 cas issus du sexe féminin et 79 sont quant à eux issus du sexe masculin.

#### 4.1.4 – Répartition des cas de Leishmaniose cutanée et viscérale par commune

La distribution des cas de LCH par commune a montré que Tizi Gheniff prend la tête du classement, suivie par Ait Khellili, DBK pour la LC. Nos résultats concordent avec ce qui a été rapporté par **Khemidja (2017)** qui a enregistré 11 cas dans la région de Tizi Gheniff.

En ce qui concerne la LV, la distribution des cas dans des zones connues comme foyer de leishmaniose Tizi-Ouzou, Mechteras, Tirmatine. En période de 1985-1990 les foyers d'endémie Draa EL Mizan, Azazga et Ain El hammam selon **Harrat et al. (1985-1990)**.

#### 4.2. - Discussion des Résultats d'ensemencement sur milieux NNN

Les résultats d'ensemencement sur milieux NNN réalisé sur 28 prélèvements de sang des chiens est négatif après contrôle de 4 semaines. En effet, les hémocultures nécessitent des volumes plus importants de sang, permettant d'avoir une couche leucocytaire plus importante. De plus, les ponctions ganglionnaires sont plus appropriées.

Toutefois, les cultures négatives obtenues chez les humains sont expliquées par le problème des contaminations, car le milieu NNN est très riche en nutriments et propice à la prolifération des bactéries et des moisissures (**Berrebi, 1936**), cela corrobore avec les résultats trouvés par (**Belmiloud, 2018**).

#### 4.3. - Discussion des résultats d'Immunofluorescence indirecte (IFI)

Sur un ensemble de 41 prélèvements effectués chez les chiens, 3 chiens ont été diagnostiqués comme porteurs des taux d'anticorps antileishmaniens à des dilutions égales ou supérieures à 1/80 (seuil de positivité établie par l'Institut Pasteur d'Algérie pour la technique d'immunofluorescence indirecte IFI), soit 7.31% de chiens séropositifs. Ce taux nous semble assez faible même s'il se rapproche un peu de celui de **Mouloua en 2014 (9.95%)**, mais demeure assez loin de ceux de **Belazzoug en 1985 (37.5%)** et **Harrat en 2006 (42.8%)**. Il faut noter que parmi ces 41 prélèvements, 14,63% des chiens douteux, ce résultat est légèrement supérieur avec ceux trouvés par **Mouloua (2014)** avec 13% des chiens douteux. Cependant, il est important de noter que notre échantillon est très faible par rapport aux études antérieures et qu'il a été effectué sur une courte période de 3 mois.

Pour les 9 sérums des humains asymptomatiques testés, les résultats étaient tous des négatifs. Nous avons traité très peu d'individus pour pouvoir se prononcer sur le portage et il ne faut pas oublier que le portage asymptomatique est très faible dans les populations et qu'il est autour de 11% dans le pourtour méditerranéen (**Narvaez et al., 2016**).

Cette séroprévalence relativement basse, peut aussi être la conséquence des retombées positives du programme national de lutte contre la leishmaniose, entrepris depuis quelques années et la courte durée de l'étude qui s'agit seulement de 3 mois. Ceci peut être confirmé

par le fait que cette baisse de la prévalence de la leishmaniose canine coïncide parfaitement avec la baisse de l'incidence des cas de leishmanioses humaines notifiés dans la région.

#### 4.4. - Discussion des résultats de la PCR ITS1

En plus du diagnostic sérologique par IFI, nous avons procédé à la recherche de l'ADN leishmanien par la PCR chez 32 animaux. Ces chiens ont été pris de façon tout à fait aléatoire, sans tenir compte du lieu de provenance, ni de l'aspect clinique ou sérologique. Malgré la sensibilité et la spécificité de l'outil moléculaire l'ADN leishmanien n'a été retrouvé que chez 2 chiens sur les 32 examinés, ce qui nous donne un taux de 6,25% d'animaux positifs légèrement inférieur aux 7.3 % donnés par l'IFI, sur le même échantillon. Ces résultats corroborent avec ceux trouvés par **Belmiloud et Ouameur (2018)**. Pour les ADN humains testés par PCR, aucun ADN parasitaire n'a été détecté.

# Conclusion

Les leishmanioses constituent un important problème tant en santé humaine qu'animale dans tout le Bassin méditerranéen. Le foyer de la Grande Kabylie a toujours été considéré comme le plus actif à l'échelle régionale pour la leishmaniose viscérale. Il est clair d'après les résultats de notre enquête rétrospective que les leishmanioses humaines (leishmaniose cutanée, leishmaniose viscérale) enregistrés dans la région de Tizi-Ouzou entre 2010 et 2021 sont en régression par rapport aux études épidémiologiques antérieures. Cette diminution serait le résultat du programme national de la lutte contre les leishmanioses.

Par rapport à la répartition géographique des cas de la leishmaniose cutanée, c'est dans la commune de Tizi Gheniff que le plus grand nombre de cas fut enregistré, alors que pour la leishmaniose viscérale c'est dans la région de Tizi-Ouzou que le plus grand nombre de cas fut enregistré. Ceci pourrait être expliqué par le fait que dans ces deux foyers, la densité de phlébotome serait la plus élevée. Ceci nous montre que la densité des phlébotomes inféodée à l'environnement, influe directement sur l'importance des leishmanioses humaines.

En ce qui concerne la répartition selon le sexe, les deux sexes sont concernés par cette parasitose, une légère prédominance masculine est notée pour la LC et une prédominance de sexe féminin chez LV. Par ailleurs, l'affection de deux formes de la maladie touche le plus souvent les enfants en bas d'âge moins de 5 ans durant la période 2010 – 2021.

Afin d'évaluer la situation épidémiologique de la leishmaniose dans la wilaya de Tizi-Ouzou l'un des foyers les plus actifs de la Leishmaniose viscérale humaine, nous avons procédé à l'étude des deux réservoirs des leishmanioses (réservoir canine et humain). Les méthodes les plus couramment utilisées sont : l'hémoculture à la recherche des promastigotes de *Leishmania* dans la couche leucocytaire, suivi par l'IFI en vue de la recherche des anticorps dans les sérums testés, Ces techniques restent toujours insuffisantes, pour cela une analyse par la PCR a été effectuée pour la recherche de l'ADN leishmanien

Les prélèvements effectués sur 41 chiens choisis de façon aléatoire, nous ont permis de constater que 7.3% étaient séropositifs. Ce taux bien que préoccupant est cependant assez faible au vue des études épidémiologiques précédentes faites dans la même région. Ceci est probablement le résultat des retombées positives du programme national de lutte contre la leishmaniose initié dans la région depuis quelques années. Alors que chez les 9 humains étaient négatifs. L'analyse par test PCR ITS1, nous a permis de trouver deux autres cas de leishmaniose canine positifs.

En perspective, il serait souhaitable de compléter l'étude par un échantillonnage plus important et sur une période plus longue, pour évaluer l'impact réel de la maladie et évaluer la situation épidémiologique dans cette région.

# References bibliographiques

1. **Acebey Castellon I.L. (2007)** - *Caractérisation de terpènes anti-leishmaniens isolés par bioguidage d'une plante bolivienne hedyosmumangustifolium (Ruiz & Pavon) Solms.* Thèse de Doctorat en Chimie-Biologie-Santé. Université de Toulouse.
2. **Achour-Barchiche et Madiou. (2008)** - Recrudescence des leishmanioses cutanées: à propos de 213 cas dans la wilaya de Tizi-Ouzou. P.A.T.B.I.O.-2704; 6p.
3. **Adler S.M., SIMPSON A.G.B., FARMER M.A., ANDERSEN R.A., 2005.** The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. *J.Eukaryot.Microbiol.*52, 399-451.
4. **Akhoundi M., Kuhls K., Cannet A., Votyapka J., Marty P., Delaunay P., et al. (2016)** - A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of leishmania parasites and sandflies. *plos neglected tropical diseases*, 10(3).
5. **Andrade-Narvaez F., Loría-Cervera EN., Sosa-Bibiano EI., Van Wynsberghe NR. (2016)** - Asymptomatic infection with American cutaneous leishmaniasis: epidemiological and immunological studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* Oct;111(10):599-604
6. **Andrade-Narvaez FJ, Loría-Cervera EN, Sosa-Bibiano EI, Van Wynsberghe NR. (2016)** - Asymptomatic infection with American cutaneous leishmaniasis: epidemiological and immunological studies. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* Oct;111(10):599-604
7. **Anofel. (2014)** - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie. Université Médicale Virtuelle Francophone, 16p.
8. **Aoun K., Bouratbine A. (2014)** - Cutaneous Leishmaniasis in North Africa: à review. *Parasite*, 21, 14.

9. **Aoun. K., Chouih. E., Amri. F., Ben Alaya. N., Raies. A., Mary. C. Et Bouratbine. A. (2009)** - Contribution of Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction to Follow Up of Visceral Leishmaniasis Patients Treated with Meglumine Antimoniate The Am. J. Trop. Med. Hyg, 81: 1004 -1006.
10. **Bachi F. (2001)** - *Amélioration des moyens diagnostiques des leishmanioses en Algérie*. Thèse Doctorat Sciences médicales. Faculté de Médecine. Université d'Alger .
11. **Bachi F. (2006)** - Aspects épidémiologiques et cliniques des leishmanioses en Algérie, Tome 21(1), p : 9-15.
12. **Belazzoug S. (1983)** - Le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de M'sila (Algérie). Infestation naturelle de *Psammomysobesus*. Bulletin de la Société Pathologie Exotique, 76, p : 146-149.
13. **Belazzoug S., Addadi K., Mokrani T., Hafirassou N., Hamrioui B., Belkaid M. (1984)** - La leishmaniose viscérale en Algérie : Etude des cas hospitalisés entre 1975 et 1984. Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale, 65, p : 329-335.
14. **Belazzoug S., Addadi K., Mokrani T., Hafirassou N., Hamriouri B et Belkaid M. (1985)** - La leishmaniose viscérale en Algérie. Etude des cas hospitalisés entre 1975 et 1984. *Annales de la Société Belge de Méd. Trop.* 65 : p 329-335.
15. **Belkasmi.S et Ouazzi.L. (2016)** - Etude rétrospective des cas des leishmanioses cutanée
16. **Belmiloud k., Ouameur A. (2018)** - *Caractérisation épidémiologique et moléculaire de la leishmaniose cutanée humaine dans la wilaya de Tizi-Ouzou, et étude de la sensibilité à l'antimoine Sb III*. Mémoire de fin d'étude. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou Algérie, 45 p

17. **Benikhlef R., Harrat Z., Toudjine M., Djerbouh A., Bendali-Braham S., Belkaid M. (2004)** - Présence de *Leishmania infantum* Mon-24 chez le chien. Médecine Tropicale, 64, p : 381-383.
18. **Benotmane F.K. (2015)** - *Détection moléculaire des leishmanies à partir du genre phlebotomus: Tendances vers la régression de la leishmaniose à Constantine* .Thèse de Doctorat. Université Mentouri, Constantine, Algérie, 141p.
19. **Boubidi S.C., Benallal K., Boudrissa A., Bouiba L., Bouchareb B., Garni R., Bouratbine A., Ravel C., Dvorak V., Votypka J., Volf P., Harrat Z. (2011)**. *Phlebotomus sergenti* (Parrot, 1917) identified as *Leishmania killicki* host in Ghardaia, south Algeria. Microbes and Infection 13, p: 691-696.
20. **Chebbah.O., Yesli.N. (2020)** - *Etude des cas de leishmaniose viscérale diagnostiqués au laboratoire de Parasitologie du C.H.U Nedir Mohamed*.Mémoire de fin d'étude .Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, 37p
21. **Cherif K., Boudrissa A., Hamdi Cherif M. et Harrat Z., (2012)** - Un programme social pour la lutte physique contre la leishmaniose cutanée zoonotique dans la wilaya de M'Sila en Algérie. Santé Publique ; 24 (6) : 511-522
22. **Dedet .J. P. (1999)** - Traitement des leishmanioses. Les leishmanioses. Ellipses. Ed Collection AUPELF /UREF, 213-223.
23. **Dedet J.P., Abbadi K., Lannuzel B. (1977)** - Miologie des leishmanioses en Algérie, La leishmaniose viscérale dans le foyer de Grande Kabylie. Bulletin de la Société Pathologie Exotique. (70, 250- 265).
24. **Dedet.J.P. (2009)** - Leishmanies, leishmanioses : biologie, clinique et thérapeutique. EMC Maladies infectieuses, 6(1), 1-14.
25. **Dedet.J.P., Pratlong F. (2001)** - Leishmanioses: Epidémiologie des maladies parasitaires (Ripert C. Ed). Editions Médicales Internationales, 3, 221-241.

26. **Del Giudice P., Marty P., Lacour J.PH. (2001)** - Leishmaniose cutanée autochtone en France métropolitaine. *Annales de Dermatologie et de Venerologie*, 128, 1057-1062.
27. **Desjeux P., (2004)** - Leishmaniasis : Current situation and new perspectives. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* ; 27: 305-318.
28. **Djerbouh A., Toudjine M., Djoudi M., Benikhlef R., Harrat Z. (2005)** - La leishmaniose canine en Algérie : Essai de traitement par l'allopurinol. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 149, 132- 134.
29. **Djezzar-Mihoubi I. (2006)** - *Etude des leishmanioses diagnostiquées au Centre HospitaloUniversitaire Ben Baddis de Constantine*. Thèse de Doctorat d'Etat es-Microbiologie. Université Mentouri Constantine, 19-38.
30. **Dolmatova A.V., Demina N.A. (1971)** - Les phlébotomes et les maladies qu'ils transmettent. *Initiations-Documentation-Techniques N° 18*. O. R. S. T. O. M. Paris. *Epidémiologie diagnostic. Traitement et prophylaxie*, 127, 121-148.
31. **Eddaikra N, Aït-Oudhia K, Oury B, Harrat Z and Sereno D.(2013)** - Retrospective and ongoing researches on Leishmania antimony resistance in Algeria. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*; 678-689.
32. **Eddaikra L.N. (2016)** - *Etude de la chimiorésistance aux antimoniés chez Leishmania en Algérie: Validation des tests in vitro et Développement de marqueurs moléculaires*. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou Algérie, 111p.
33. **Eugénie G., Hélène G., Marie A., Jean-Pierre G. (2015)** - Les leishmanioses humaines : parasitoses importées et autochtones, 461-477.
34. **Euzeby J. (1986)** - *Protozoologie humaine et comparée*, Tome 2, 212-296.

35. **Euzeby J. (2003)** - La dermatose parasitaire zoonotique dans les environnements de l'homme. Edition Médecine Interne. Lavoisier, Paris, 240p.
36. **Garlapati S., Dahan E., Shapira M. (1999)** - Effect of acidic pH on heat shock gene expression in Leishmania. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 100, 95-101.
37. **Handman E., Leishmania virulence (2001)** - it's a knock out. *Trends Parasitol*, 17(2), and 60.
38. **Harrat Z. (2006)** - *La leishmaniose canine en Algérie : Analyse épizootologique, écologique et étude du parasite*. Thèse doctorale soutenue au Centre Universitaire d'El Tarf (Algérie). 154p.
39. **Harrat Z., Belkaid M. (2002)** - Les leishmanioses dans l'Algérois. Données épidémiologiques. *Bulletin de la Société Pathologie Exotique*, 96, 212-214.
40. **Harrat Z., Boubidi S., Pratlong F., Benikhlef R., Selt B. (2009)** - Description of a dermatropic leishmania close to *L. killicki* in Algeria. *Trans Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103, 716–720.
41. **Harrat Z., Hamrioui B., Belkaid M., Tabet-Derraz O. (1995)** - Point actuel sur l'épidémiologie des leishmanioses en Algérie. *Bulletin de la Société Pathologie Exotique*, 1995, 88, 180-184.
42. **Harrat, Z., Addadi, K., Belkaid, M., Tabet-Derraz, O., (1992)** - La leishmaniose viscérale en Algérie: recensement des cas de leishmaniose viscérale (période 1985-1990). *Commentaires. Bulletin de la Société de pathologie exotique* 85, 296–301.
43. **Izri M.A., Belazzoug S., Pratlong F. & Rioux J.A. (1992)** - Isolement de *L. major* chez *Phlebotomus papatasi* à Biskra (Algérie). *Ann Parasitol Hum Comp*, 67: 31-32.
44. **Jebbouri Y. (2013)** - *Profil épidémio-clinique, thérapeutique et évolutif de la leishmaniose cutanée (à propos de 52 cas). Expérience du service de dermatologie de*

- l'hôpital militaire Moulay Ismail-Meknès*. Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Fès, Maroc. 175p.
45. **Kahil.S., Ait Idir.M.S.(2016)** - Contribution à l'étude des Phlébotomes (Diptera :Psychodidae) dans les régions de Illoula-Oumalou et Beni-Zmenzer (Tizi-Ouzou).
46. **Killick-Kendrick R., Leaney A., Peters W., Rioux J.A., Bray R. (1985).** - Zoonoticcutaneous leishmaniasis in Saudi Arabia: the incrimination of Phlebotomus papatasi as the vector in the Al Hassa oasis. *Trans Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79, 252- 255.
47. **Leger Et Depaquit, (1999)** - Les phlébotomes. In: Les leishmanioses, coordinateur J.-P. DEDET, Editions Ellipses, Collection. Universités Francophones, Paris, 89-109.  
*Leishmania* induit, sous forme recombinante ou peptidique, une réponse immune
48. **Leishmaniose[en ligne]. Organisation mondiale de la santé ; [modifié le 8 janvier 2022].** Disponible : <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
49. **Levine N.D., Corliss J.O., Deroux G., Grain J., Honigberg B.M. (1980)** - A newlyrevised classification of the Protozoa.*J. Protozool*, , 27, 37-58.
50. **Lima H.C., Titus R.G. (1996)** - Effects of sand fly vector saliva on development of cutaneous lesions and the immune response to *Leishmania braziliensis* in BALB/c mice. *Infection and immunity*, 1996, 64, 5442-5445.
51. **Louis C., (2009).** *La leishmaniose canine : ce que doit savoir le pharmacien d'officine*. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Nancy I, France, 108 p.
52. **Mellano S., (2016).** **La leishmaniose canine et humaine à leishmania infantum en France**. Thèse de doctorat de l'Etat en pharmacie, Toulouse.
53. **Monteiro E.M., França-Silva J.C., Costa R.T., Costa D.C., Barata R.A., Paula E.V., Machado-Coelho G.L.L., Rocha M.F., Fortes-Dias C.L., Dias E.S., (2005).** -

- Leishmaniose viscérale: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38, 147-152.
54. **Mouici.S., Ourahmoun.S. ( 2021)** - Caractérisation épidémiologique et moléculaire de la leishmaniose cutanée humaine dans la wilaya de Tizi-Ouzou, et étude de la sensibilité à l'antimoine Sb III
55. **Mouloua A. (2014)** - *Etude éco-épidémiologique de la leishmaniose canine en Kabylie*. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie, 267p.
56. **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 Médecine Vétérinaire*, 168, 10-12, 252- 261.
57. **Moumni H. 2015.** *Epidémiologie et diagnostic du laboratoire des leishmanioses au CHU de Tlemcen*. Mémoire de fin des études pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, Université Abou bekr belkaïd, Algérie, 14page
58. **Murray H.W., Berman J.D., Davies C.R., Saravia N.G. (2005)** - Advances in leishmaniasis. *Lancet*, 366, 1561-1577.
59. **Niang A.A., Geoffroy B., Angel G., Trouillet J., Killik-Kendrick R., Hervy J.P. et Brunhes J., (2000)** - Les phlébotomes de l'Afrique de l'Ouest. Logiciel d'identification et d'enseignement, IRD édition.
60. **O.M.S., (1990)** - Organisation Mondial de la Santé. Lutte contre les leishmanioses. Série de rapport technique. 793 : 176p.
61. **O.M.S., (1999)** - Système d'Information Géographique : cartographie et surveillance épidémiologique 1999. *Weekly Epidemiol Rec hebdomadaire*, 74, 281-288.
62. **OMS.2015.** Leishmaniose. [http : //www.who.int/entity/mediacentre/factsheets/fs375/fr](http://www.who.int/entity/mediacentre/factsheets/fs375/fr). (ZEILHOFER P et al. 2008).
63. **OMS. (2019)** - . (organisation nationale de santé).

64. **Papiero K.G.M. (2002)** - Diagnostic biologique de la leishmaniose et perspectives. *Nouveau Praticien Vétérinaire*, 159, 65 -68.
65. **Pearson R.D. Sousa A.Q. (1996)** - Clinical spectrum of Leishmaniasis *Clinical Infectious Diseases*, 22(1), 1–13.
66. **Pesson B., Ready J.S., Benabdennbi I., Martin-Sanchez J., Esseghir S., Cadi-Soussi M., Morillas-Maequez F., Ready P.D., (2004)** - Sandflies of the *Phlebotomus perniciosus* complex: mitochondrial introgression and a new sibling species of *P. longicuspis* in the Moroccan Rif. *Medical and veterinary entomology*, 8, 25-37.
67. **Petitdidier-lesin élodie.2015.** La PSA (Promastigote Surface Antigène) soluble de *Protectrice* chez le chien, Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études.
68. **Quitterie N., Odette L., Nadau C. (2005)** - Etude préliminaire de l'utilisation de la protéine LACK dans le Test d'intra-dermo-réaction de la leishmaniose Canine. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université Paul-Sabatier, Toulouse. 116p : 12-51.
69. **Raquin E., (2010)** - *Etude rétrospective de cas de leishmaniose canine à l'ENVA de 2000 à 2009.* Thèse pour le doctorat vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. France.
70. **Ripert C., Pajot F. X., Vincendeau P. et Esquerdo Gomez F., (1996)** - *Épidémiologie des maladies parasitaires : Tome 1 protozooses.* Paris : Ed. E. M. Inter., 320p
71. **Sacks D., Kamhawi S., (2001)** - Molecular aspects of parasito-vector and vector -host interaction of leishmaniasis .*Annual Review of Microbiology*, 55, 453-483.

72. **Safi S., Tazi Z., Adnaoui M., Mohattane A., Aouni M., Maaouni A., Bennani A., Berbich A., (1996)** - La Leishmaniose viscérale de l'adulte. Étude de 7 Observations. Médecine du Maghreb, 59, 18-22.
73. **Samake S., (2006)** - *Epidémiologie de la leishmaniose cutanée à Kemena et Sougoula (Cercle de Baroueli)*. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Mali, 120p.
74. **SANDY T, 2007**. Leishmaniose du chien : symptômes, traitement et prévention, [En ligne], URL : <https://conseils-veto.com/leishmaniose-chien-chat-vaccin/> [Consulté le 2 juin 2022]
75. **-Schlein Y., (1993)** - Leishmania and sandflies: interactions in the life cycle and transmission. Parasitol.Today.9: 255-258.
76. **Tarrouche.O et Aouadi.C. (2019)** - *Les leishmanioses en Algérie* .mémoire de fin d'étude. Université des frères Mentouri Constantine 162p
77. **Thiago Rodrigo de Noronha., (2018)** – Visceral leishmaniasis: amastigotes in the bonemarrow Hematology Transfusion and CellTherapy, 41(1).
78. **Tulasne L., (2009)** - *Actualités dans la lutte contre la leishmaniose canine*. Thèse de Doctorat Vétérinaire. École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 128p
79. **World Health Organization (W.H.O). (1995)** - Lutte contre la leishmaniose : Soixantième Assemblée Mondiale Werry M., Protozoologie médicale. Edition De Boeck Université, 123-136.
80. **Wery M., (1995)** - Protozoologie médicale. Bruxelles : Ed. De Boeck Supérieur, 276p.
81. **World Health Organization (W.H.O.). (2010)** - Control of the leishmaniases. WHO Technical Report No. 949, 186 p.

## Références bibliographiques

---

82. **Zait H., Hamrioui B., (2009)** - Leishmanioses cutanées en Algérie Bilan de 386 cas diagnostiqués au CHU Mustapha d'Alger de 1998 à 2007. *Revue Francophone des Laboratoires*, 412, 33-39.

# Annexes

## Annexe 1: Fiche de renseignements :

### Institut Pasteur d'Algérie

#### Laboratoires d'Eco épidémiologie parasitaire et génétiques des populations

Fiche de renseignements à remplir pour toutes demandes d'examens de :

Diagnostic parasitologique de la leishmaniose canine

Wilaya :..... Daïra :..... Localisation :.....

N° d'enregistrement :..... Date :.....

#### Propriétaire du Chien :

Nom :..... Prénom :.....

Adresse :..... Téléphone :.....

Signalement du Chien :

Nom :..... Age :..... Sexe :.....

Race :..... Origine :..... Vaccination :.....

#### Signe cliniques :

Amaigrissement :..... Allongement des griffes :..... Hémorragie :.....

Lésions Cutanées :..... Si oui type/ Siege/ Nombre :.....

Adénopathie :..... Si oui Siege :.....

Autres

signes :.....

Examen Sérologique Antérieurs :

Date :..... Résultats :.....

#### Traitement :

.....

Recherche de leishmanies par ponction ganglionnaire a elle été pratiquée ?

.....

#### Résultats :

Examen

direct :.....

Culture :.....

Sérologie :

(IFI/ELISA) :.....

PCR/RT-PCR :.....

# Annexes

## Annexe 2 : Préparation du milieu de culture NNN :

### Matériels :

♦**Appareillage et Verreries** : Balance de précision , Bain marie , Etuve pasteur à 120°C ; Etuve d'incubation à 24, 37°C , Autoclave ,Réfrigérateur à +4°C, Balance , Agitateur magnétique , Centrifugeuse , Bec benzène , Microscope optique 28, Bécher , ErlenMeyer , Tubes à vis stériles , Tubes sous-vide stériles , Lames et lamelles , Pipettes pasteur , Seringues ,Rasoir , Casserole , Etiquettes.

### ♦**Produits chimiques** :

Alcool éthanol, Chlorure de sodium, Citrate de sodium, Agar, Pénicilline, Gentamicine.

### ♦**Matériels biologiques** :

Sang de lapin, Moelle osseuse, Prélèvements du produit pathologique

La verrerie, soigneusement lavée, est stérilisée à l'étuve pasteur à 121°C pendant 30 min à l'heure

### ♦♦ **Préparation de la gélose** :

-Bacto-agar Difco	10g
-NaCl pur	06g
- Eau distillée	01 litre

Mettre le NaCl dans l'eau froide et chauffer. Quand l'eau frémit ajouter le Bacto-agar et remuer avec un agitateur jusqu'à dissolution complète. Laisser bouillir 5 mn. Répartir en tubes à visse à raison de 8 ml de gélose par tube. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 mn. Conserver a +4°C.

### ♦♦ **Prélèvement du sang par ponction cardiaque du lapin** :

Prendre un lapin adulte et en bonne santé, le placer sur le dos et nettoyer la peau à l'alcool iodé. Repérer la zone de forts battements cardiaque et piquer l'aiguille, enfoncée en inclinant à 30° environ. Lorsque le sang arrive, aspirer lentement sans bouger la seringue. Retirer l'aiguille d'un seul coup après avoir ponctionné 40 ml de sang. Le sang est immédiatement refoulé, devant une flamme, dans un Erlenmeyer contenant 3 ml de citrate de sodium à 10 % et 250.000 UI de pénicilline .Bien agiter le flacon d'un mouvement circulaire pour mélanger l'anticoagulant au sang.

## Annexes

### ◆◆ Mélange du sang et de la gélose :

Placer les tubes de gélose dans l'eau froide chauffée à ébullition pour faire fondre la gélose. Laisser refroidir jusqu'à 45°C et ajouter 1 ml de sang par tube. Agiter sans faire de bulle. Incliner sur un portoir et laisser refroidir. Placer ensuite 24 h à l'étuve pasteur à 37°C pour contrôle de stérilité. Conserver le milieu au réfrigérateur à + 4°C pendant 1 mois au maximum.



Figure 23 : milieu NNN (Idir et Taleb, 2018).

### Annexe 3 : matériels et réactifs de l'immunofluorescence indirecte

Matériels	Réactifs
-Etuve réglée à 37°C -Agitateur (vortex) -Agitateur magnétique -Microscope a UV -Sèche main -Tube de KHAN -Embouts (1500 ml) -Embouts (150 ml) -Micropipettes : p10 µl ; p100µl ; p1000µl -- -Bac de lavage - Chambre humide (boite de pétri en verre + éponge humide) -Lame (à 16 puits) sensibilisés d'Ag leishmanien (AG figuré).	-Tampon PBS, ph : 7,2 -Bleu d'Evans -Acétone (-20°C) -Glycérine tamponnée (ph 7,2) -Sérum témoin positif -sérum témoin négatif -Sérums à tester.

### Technique d'Immunofluorescence Indirect :





- ✓ **Principe :** Cette technique sérologique est basée sur la réaction Ag-Ac révélée par un réactif sous la lumière UV

## Annexes

La fixation des anticorps spécifiques sur l'antigène figuré est révélée par l'adjonction d'anti-immunoglobuline marquée à l'iso thionate de fluorescéine (ROSSET ,1999).

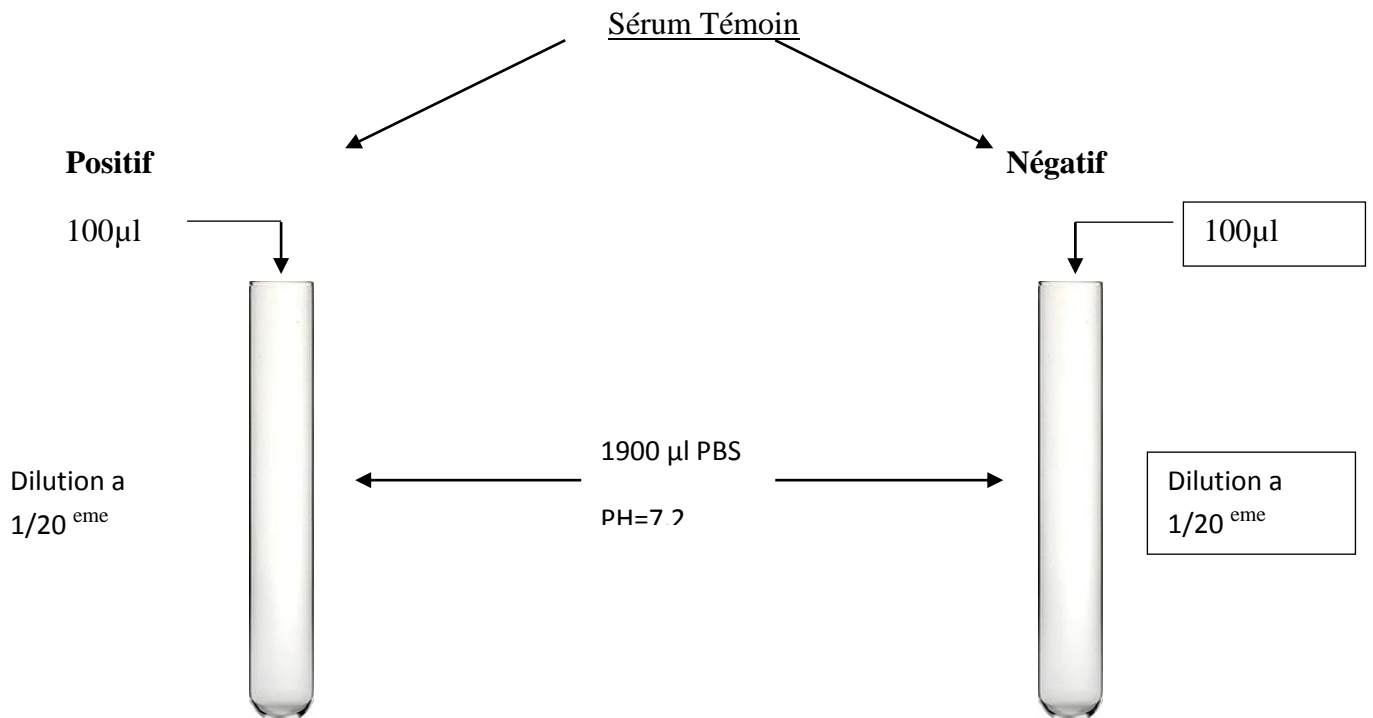
✓ **Mode Opérateur :**

➤ **Etape 1 :**

	
<p><b>1</b> : Décongeler les lames sensibilisées d'Ag à partir de (-20°C)</p>	<p><b>2</b> : sécher les lames à 37°C.</p>
	
<p><b>3</b> : fixation des lames dans un bac d'acetone a -20°C pendant 10 minutes</p>	<p><b>4</b> : sécher les lames à nouveau à 37°C</p>

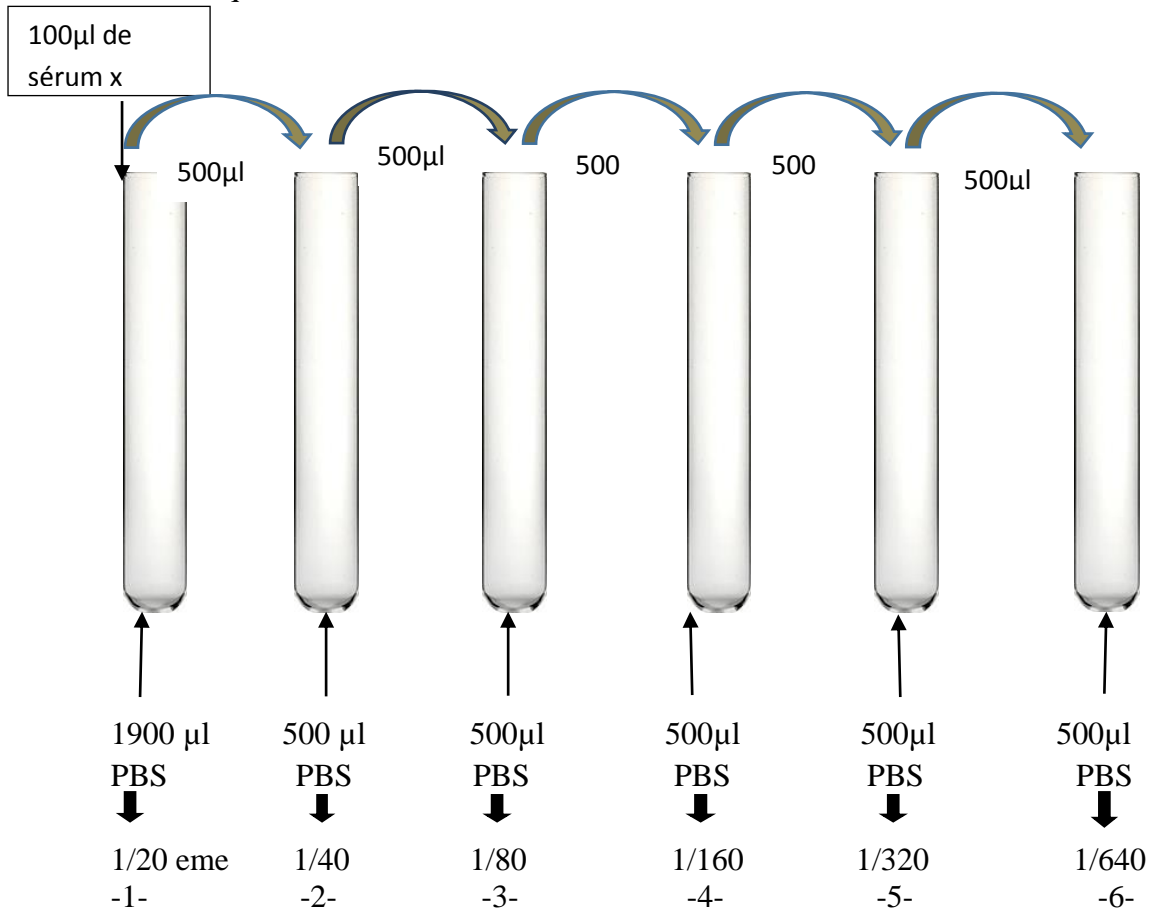
## Annexes

- **Etape 2** : Réaliser la série de dilution a 1/2, pour les sérums témoins et sérums à tester :

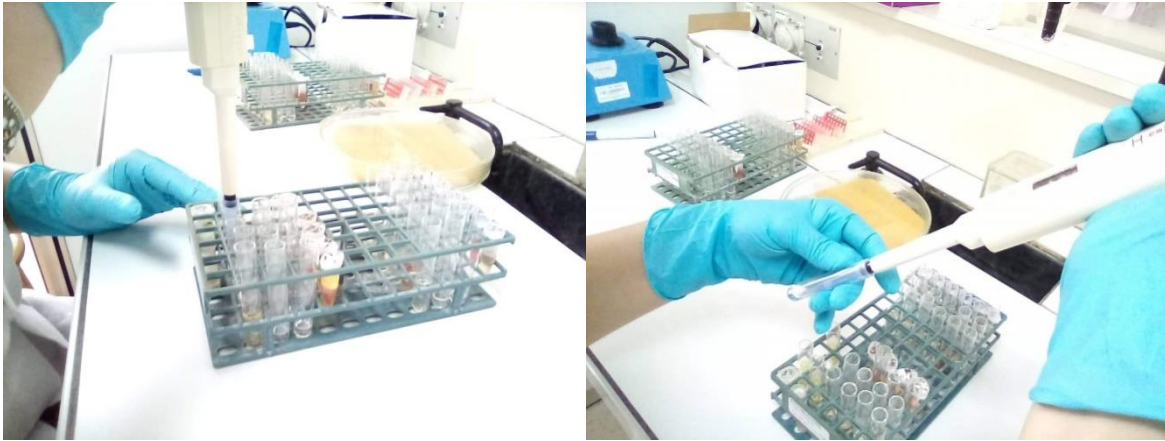


### Sérum à tester

Pour chaque sérum à tester il faut faire des dilutions suivantes :

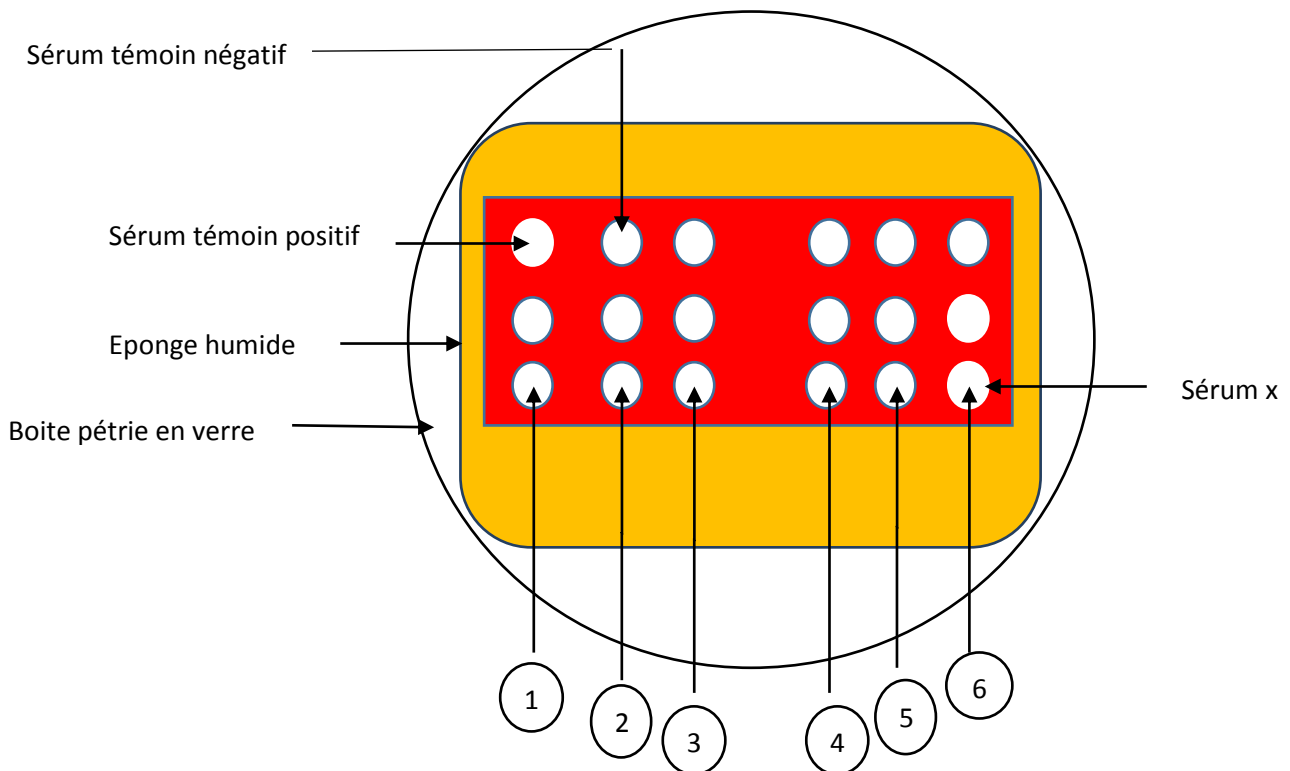


## Annexes



**Figure** - application des dilutions 1/20, 1/40, 1/80 (photo originale a IPA 6/10/2022)

- **Etape 3** : Déposer une goutte (10  $\mu$ l) de chaque dilution dans le puits qui correspond de la lame



-Incubation a l'étuve à 37°C pendant 30min.

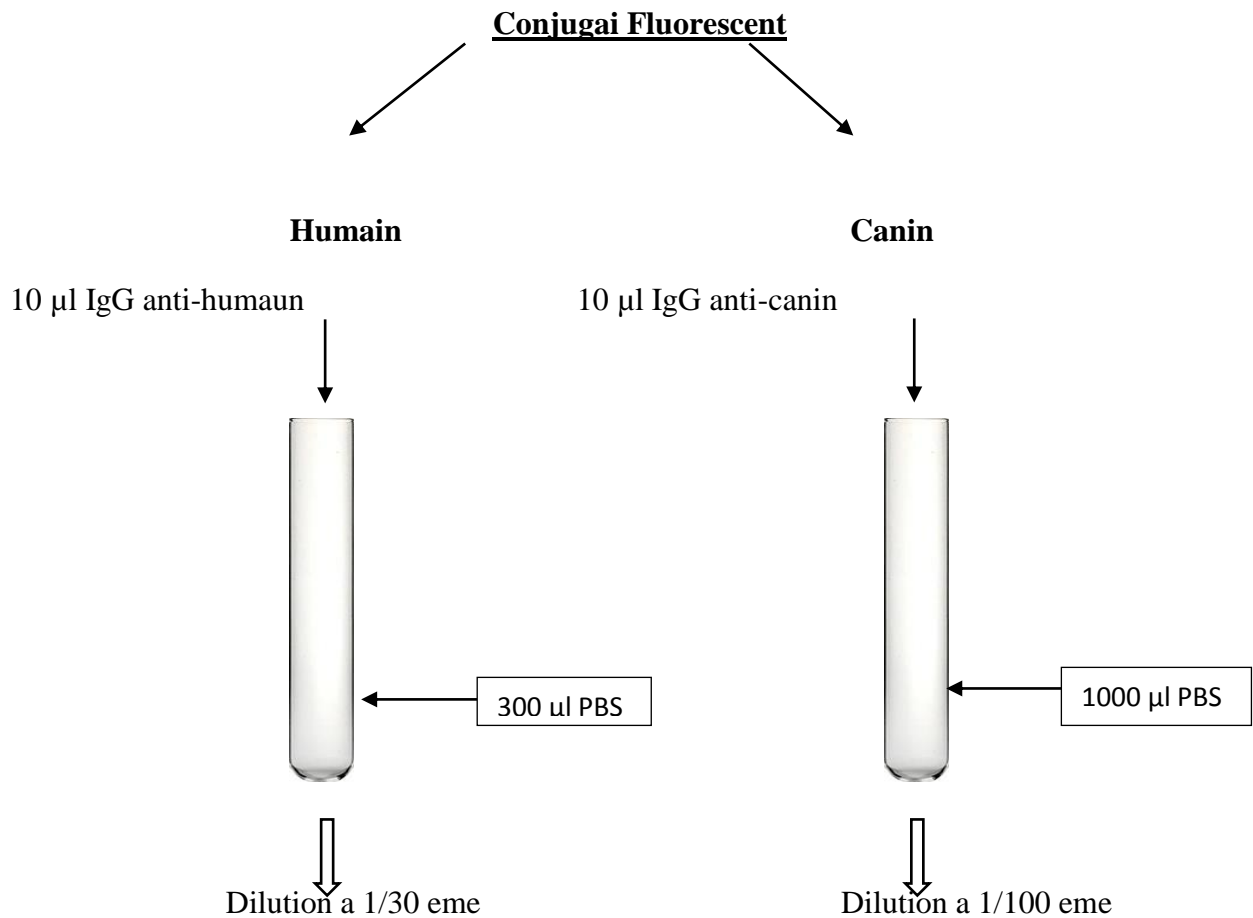
-Rincer la lame au PBS à l'aide d'une pissette.

-Tremper la lame dans un bac de lavage au PBS pendant 10 min.

-Sécher la lame au sèche main.

## Annexes

**Etape 4 :** Deposer une goutte (10  $\mu$ l) du conjugai fluorescent dans chaque puits qui contient du serum apres l'avoit dilué dans du PBS ph=7.2



-Incubation a letuve a 37  pendant 30 min.

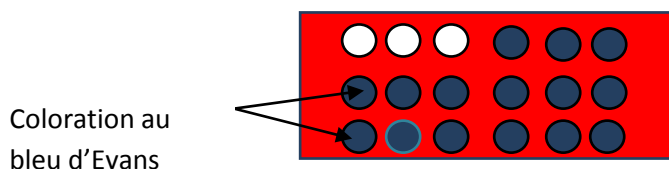
-Rincer la lame au PBS a l'aide d'une pissette.

-Tremper la lame dans un bac de lavage au PBS pendant 10 min.

-Secher la alme au seche-main.

### **Etape 5 :**

-Deposer une goutte (10 $\mu$ l) du bleu d'evans dans chaque puits.



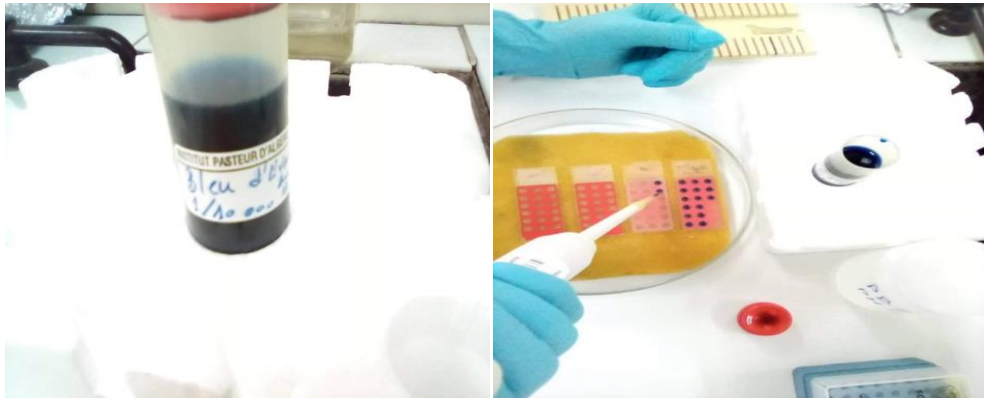
-incubation a letuve a 37  pendant 15 min.

-Rincer la lame au PBS a l'aide dune pissette.

## Annexes

-Tremper la lame dans un bac de lavage au PBS pendant 10 min.

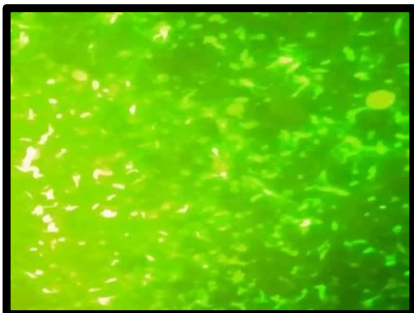
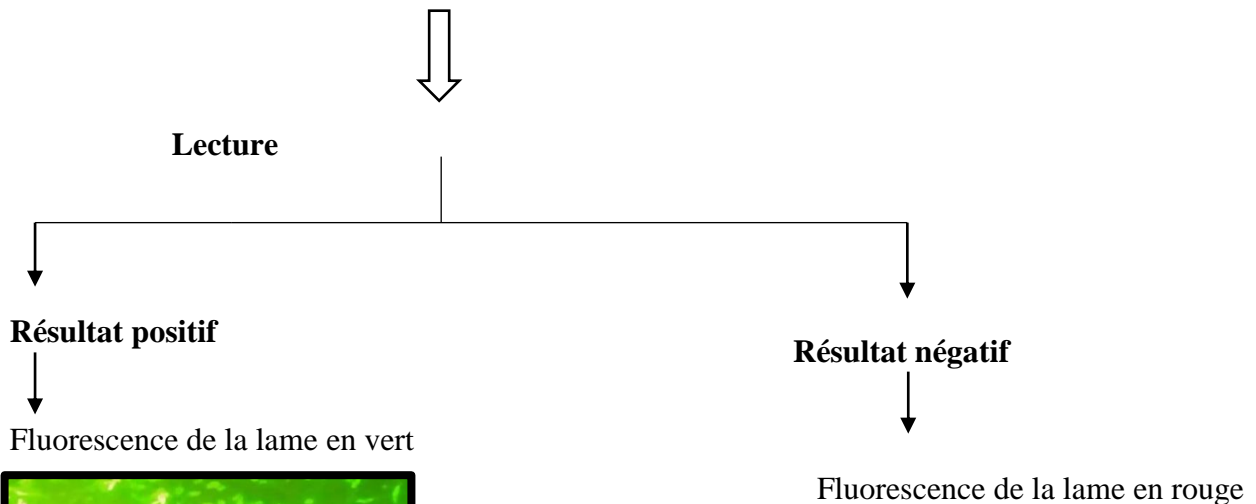
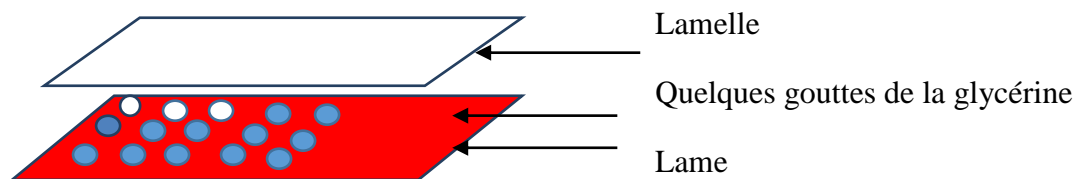
-Secher la lame au sechoire.



**Figure** : Deposer une goutte (10 $\mu$ l) du bleu d'évans dans chaque puits ( photo original a IPA octobre 2022)

### Etape 6 :

Lecture de la lame au microscope a fluorescence (a UV) après l'avoir allumé à 15 min d'avance



## Annexes

### Annexe 4 : Les réactifs d'extraction

#### ◆ Lyse des parasites :

Tampon de lyse ; SDS 10% ; protéinase K.

#### ◆ Extraction phénol chloroforme :

Phénol chloroforme / alcool isoamylique (25v/24v/1v).

#### ◆ Précipitation :

Acétate de sodium ; éthanol absolu ; Ethanol à 70 %. TE.

### Annexe 5 : PCR

**Tableau :** Réactifs de mix et leurs rôles

Tampon	Stabiliser le pH du milieu réactionnel
dNTPs	Elongation des 2 brins d'ADN
MgCl <sub>2</sub>	Cofacteur positif de la Taq polymérase
Amorce 1 Amorce 2	La reverse et Forward
Taq polymérase	Intervient dans l'hybridation de l'ADN
Eau distillée stérile	Dilution des réactifs à leurs concentrations

**Tableau :** Programme du thermocycleur pour ITS 1

95°C 20sec 53°C 30sec Elongation 72°C 1min Elongation finale 72°C 6min X35 (cycle

Programme		
Paramètre	Température	Temps
Dénaturation initiale	95°C	15min
Dénaturation	95°C	20 Sec
Hybridation	53°C	30 Sec
Elongation	72°C	1 min

X 35 cycles

## Résumé

Les leishmanioses sont des infections parasitaires communes à l'homme et à certains animaux. Elles sont causées par des protozoaires flagellés du genre *Leishmania* transmises à l'homme par la piqûre d'un phlébotome femelle hématophage. Dans le bassin méditerranéen, la leishmaniose viscérale humaine est due à *L.infantum*, le réservoir animal admis est le chien. La Kabylie est connue depuis longtemps comme étant le foyer le plus actif de la leishmaniose viscérale et de la leishmaniose cutanée sporadique.

Dans le but de savoir la situation et la distribution spatiale des leishmanioses en Kabylie, une enquête a été réalisée au niveau de la direction de la santé publique de Tizi-Ouzou sur les cas des leishmanioses cutanée et viscérale enregistrés durant la période étalée de 2010 jusqu'à 2021. D'autre part, des prélèvements sanguins veineux ont été effectués sur les deux réservoirs de la maladie : les chiens ainsi que leur propriétaires dans différentes régions : Taboukert, Tala N'zaouche et Mechtras. Ces prélèvements ont été analysés par la suite par trois techniques : IFI, PCR et l'hémoculture dans le laboratoire d'Eco épidémiologie parasitaire de l'institut Pasteur d'Algérie.

L'analyse par l'immunofluorescence et par PCR ont révélés 4 chiens positifs, dont 3 sont issus de la région Tala N'Zaouche et un chien de la région Taboukert. Ces résultats obtenus au laboratoire et les résultats enregistrés par la DSP sur la leishmaniose humaine et les leishmanioses canines, ont permis de dire que la situation de la leishmaniose en Kabylie est en nette régression par rapport aux années précédentes. Toutefois, la situation reste inquiétante en présence des cas positifs des chiens qui sont des réservoirs principaux de la maladie. Cela demande donc, une prévention et une lutte contre les réservoirs canins et le vecteur de la maladie.

**Mots clés :** Leishmaniose viscérale ; Leishmaniose cutanée ; IFI ; PCR ; Kabylie.

## Abstract

Leishmaniasis is a parasitic infection common to humans and certain animals. They are caused by flagellated protozoa of the genus *Leishmania* transmitted to humans by the bite of a hematophagous female sandfly. In the Mediterranean basin, human visceral leishmaniasis is due to *L.infantum*, the accepted animal reservoir is the dog. Kabylia has long been known as the most active focus of visceral leishmaniasis and sporadic cutaneous leishmaniasis.

In order to know the situation and the spatial distribution of leishmaniasis in Kabylia, a survey was conducted at the level of the public health department of Tizi-Ouzou on the cases of cutaneous and visceral leishmaniasis recorded during the period spread from 2010 to 2021. On the other hand, venous blood samples were taken from the two reservoirs of the disease: dogs and their owners in different regions: Taboukert, Tala N'zaouche and Mechtras. These samples were then analyzed by three techniques: IFI, PCR and blood culture in the laboratory of parasitic eco-epidemiology of the Algerian Pasteur Institute.

The analysis by immunofluorescence and PCR revealed 4 positive dogs, 3 of which are from the Tala N'Zaouche region and one from the Taboukert region. These results obtained in the laboratory and the results recorded by the DSP on human leishmaniasis and canine leishmaniasis, allowed to say that the situation of leishmaniasis in Kabylia is in clear regression compared to the previous years. However, the situation remains worrying in the presence of positive cases of dogs which are the main reservoirs of the disease. This requires therefore, prevention and a fight against the canine reservoirs and the vector of the disease.

**Key words:** Visceral leishmaniasis; Cutaneous leishmaniasis; IFI; PCR; Kabylia.