

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département des Sciences biologiques

Mémoire de Fin d'Etude



En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences Biologiques

Spécialité : Biologie des populations et des organismes

Thème

**Etude de la situation épidémiologique de la leishmaniose
canine dans la région de Tizi - Ouzou**

Présenté par :

M^{lle} BOSLI Hassiba

M^{lle} BOUARABA Lisa

Dirigé par :

M^{me}. BRAHMI K.

Soutenu publiquement le : 13/09/2023

Devant le jury d'examen composé de :

Promotrice : Mme EDDAIKRA.N

Maitre de Recherche

I.P.A

Co-Promotrice : Mme BRAHMI. K

Professeur

UMMTO

Présidente : Mme TALMAT-CHAOUCHI N.

M.C.A

UMMTO

Examinatrice : Mme DJIOUA O.

M.A.A

UMMTO

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement



En tout premier lieu, je remercie le bon dieu, « **ALLAH** », de nous avoir donné la force pour mener à bien ce travail et l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Nous tenons à remercier notre promotrice **Mme EDDAIKRA.N** Maître 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 l'honneur que vous m'avez fait m'encadrant, pour vos conseils avisés et précieux, pour la compétence et la pertinence avec lesquelles vous avez dirigé ce travail et surtout pour votre confiance.

Nos sincères remerciements s'adressent également à ;

Madame **Talmat-chaouchi.N** pour avoir fait l'honneur de présider le jury

Madame **Djioua.O**, pour avoir accepté d'examiner notre travail et faire partie de jury

Nous remercions vivement **Mme BENIKHLEF.R.** et **Mme Mezai.G** chargée de recherches au sein du laboratoire d'éco-épidémiologie de l'Institut Pasteur d'Algérie, pour leurs efforts, leurs patiences ainsi que leurs conseils inestimables.

Nos familles, du fond du cœur, pour leurs encagements et leur soutien moral et financier, Enfin, nous tenons à remercier toute les personnes qui nous ont apportée soutien de prés et de loin pour la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Je dédie tout d'abord ce travail à la mémoire de « **Maman** » disparue trop tôt "que dieu la préserve dans son vaste paradis", pour qui je pense qu'elle serait toujours fière de moi. Vous m'avez supportée et conseillée toutes ces années, sans vous, je n'en serais pas là aujourd'hui.

A mon très cher père « **SAID** », pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour

A Ma chère grand sœur « **MALIKA** »

Je dédie ce travail, à toi que j'aime plus que tout, sans ton soutien moral et émotionnel je ne serais pas parvenue à mon but aujourd'hui, à ma sœur qui m'a tout donné, je t'aimerais toujours. Merci d'être là à mes côtés.

A mes chères sœurs, « **Saliha, Naima, Karima, Ouardia** », que j'aime beaucoup. Vous m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études. Je leurs souhaite toute la joie et le bonheur dans leurs vies, que dieu vous protège.

A Mes frères « **Rabah, Marzouk, Hocine, Mohamed, Slimane** », qui m'ont toujours encouragé pour aller de l'avant et tenir mes objectifs, à qui je souhaite le bonheur et la réussite.

A ma très chère et adorable binôme « **Lisa** »

Je te dédie ce travail à toi qui a toujours été à mes côtés, à me soutenir en toutes épreuves. Tu as toujours été présente pour me motiver. Malgré les difficultés auxquelles nous avons été passée. Nos efforts sont si admirablement conjugués que nous nous sommes confondues en un seul être pour mener ce projet à terme.

A toi ma chère copine « **Damia** », pour tous les fous rires pour toutes les années qu'on a passés ensemble, Merci pour tous les bons moments, merci d'être là avec moi, tu es ma petite amie exceptionnelle, j'ai beaucoup de chance de t'avoir, je t'aime tellement.

A vous aussi « **Asma, Maryem** »

A mon cher amie « **Moh** »

Aux personnes qui m'ont toujours aidées et encouragées, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnées le long de mon chemin d'études supérieures.

Hassiba

Dédicace

Je dédie cette humble travail

A mes très chers parents qui m'ont soutenue toute le long de mon parcours et je prie DIEU le tout puissant de les garder en bonne santé et de les récompenser de toutes les peines et sacrifices données aux quels je ne rendrai jamais assez.

Je souhaite également adresser mes remerciements à mes très chères sœurs, **Dihia et Siham**
Et mon frère **Ahmed** qui n'ont jamais cessé de m'encourager.

Je n'oublie pas ma grand – mère, qui me témoignent leur amour et soutien.

A toutes ma famille, mes proches et a ceux qui me donnent de l'amour et la vivacité

A mes amis qui m'ont encouragé durant ce parcours.

Et un merci tout particulier à Yacine, je t'exprimais ma profonde gratitude pour toute l'aide précieuse que tu m'as apportée. Ton soutien inestimable a été extrêmement important pour moi.

Je tiens à exprimer ma gratitude à mon amie et binôme **Hassiba**.

Enfin je remercie toutes les personnes chères qui m'ont apporté leur aide de près ou de loin

Que chacun trouve ici l'expression de ma reconnaissance la plus sincère.

Lisa

Index des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique
AG-AC : Complexe anticorps – antigène
BET : Le bromure d'éthidium
EDTA : Tube A Citrate De Sodium
E : Est
F : Femelle
G : Grossissement
Hab./ha : Habitant sur hectare
IFI : Immunofluorescence Indirecte
IPA : Institut Pasteur d'Alger
J : Jour
Km² : Kilomètre
L : Leishmania
LC : Leishmaniose cutanée
LV : Leishmaniose viscéral
LCan : Leishmaniose canine
LCM : Leishmaniose Cutanée -muqueuse
LCN : Leishmaniose cutanée du Nord
LCZ : Leishmaniose cutanée zoonotique
MGG: May- Grünwald Giemsa
M : Mâle.
N : Nord
NNN : Novy - Mac Neal-Nicolle
OMS : Organisation Mondiale de la Santé.
PCR : Polymérasechainreaction
PBS : Phosphate Buffer Solution.
PM : Poids moléculaire
SLC : Sérum de lapin coagulé
SDS : Dodécylsulfate de Sodium ou laurylsulfate de Sodium.
TAE : Tris, Acétate, EDTA
TEB : Tri éthylborane
TBE : Tri Acide Borique EDTA
UV : Ultra-violet
µm : Micromètre
UV: Ultraviolet

LISTE DES FIGURES

Figure 1 - Aspect général d'un Phlébotome -----	4
Figure 2 - Morphologie générale d'un phlébotome adulte -----	5
Figure3 - Cycle évolutif de développement des phlébotomes -----	6
Figure 4 - La forme amastigote de leishmania-----	8
Figure 5 - Forme promastigote de leishmania -----	8
Figure 6 - Cycle de vie de leishmania modifié à partir (www. dpd.cdc.gov/dpdx)-----	9
Figure 7 - Répartition mondiale des zones d'endémies des leishmanioses -----	10
Figure 8 - Exemple des manifestations cliniques chez le chien infecté par <i>L. infuntum</i> -----	11
Figure9 - Aspect clinique de la LCN -----	12
Figure 10 - Lésion ulcéro-croûteuse de LCZ due à <i>Leishmania major</i> -----	13
Figure 11 -La distribution géographique de la leishmaniose viscérale en Algérie -----	14
Figure 12 - Cycle biologique de LV à <i>L.infuntum</i> -----	14
Figure 13 - Situation géographique des communes de la wilaya de Tizi-Ouzou -----	17
Figure 14 – Carte représentant les stations d'échantillonnage original -----	18
Figure 15 - Différents stations d'échantillonnage durant la période d'étude (Original, 2023) ---	18
Figure 16 – Feuilles imbibées d'huile de ricin (Original, 2023)-----	20
Figure 17 – Retrait des pièges dans des sacs en plastique (Original, 2023)-----	20
Figure 18 – Prise du sang veineux au niveau d'une veine saphène pour un chien (Original, 2023).-----	20
Figure 19 – Raclage de lésion d'un chien (Original, 2023). -----	21
Figure 20 - Prélèvement ganglionnaire (Original, 2023). -----	21
Figure 21 - Retrait des spécimens capturés sur les pièges adhésifs (Original, 2023) -----	22
Figure 22 - Les étapes appliquées dans laboratoire pour les prélèvements sanguins (Original, 2023).-----	22
Figure 23 - Protocol de la coloration (Original, 2023). -----	23
Figure 24 - Les étapes de l'examen sur milieu de culture NNN (Original, 2023). -----	24
Figure 25 - Protocole d'immunofluorescence indirecte (Original,2023) -----	25
Figure 26 - Protocole d'extraction d'ADN (Original, 2023) -----	27
Figure 27 – Les étapes d'extraction d'ADN par la méthode de kit Omega (Original, 2023)-----	29
Figure 28 – Préparation de mix sous hotte chimique (Original, 2023) -----	30
Figure 29 – Programmation de thermo cycler (Original, 2023)-----	31
Figure 30 - Protocole d'électrophorèse sur gel d'agarose (Original,2023). -----	32

Figure 31 – Répartition des phlébotomes dans la région de Tizi-Ouzou en fonction de sexe et stations (Original, 2023)-----	35
Figure 32 – Forme amastigotes de leishmaniose coloré au MGG observé au G*100((photo originale)-----	35
Figure 33 - Représentent le résultat de la sérologie, les images (A et B) sont obtenues après Observation au microscope à fluorescence (Original, 2023) -----	37
Figure 34 -Nombre des chiens positifs négatifs et douteux trouve par IFI (Original, 2023) -----	37
Figure35 - Résultats de la PCR sur le gel d'agarose de 22 cas positifs (Original, 2023)-----	39
Figure 36 – Signes cliniques d'un chien positif d'origine de Tala N'Zaouche (Original, 2023)	40
Figure 37 -Signes cliniques d'un cas positif d'origine de Ouadhia (Original, 2023).-----	40
Figure 38 - Répartition des chiens selon la tranche d'âge.-----	41
Figure 39 – Répartition des chiens selon le sexe. -----	42
Figure 40 – Répartition des chiens selon la race. -----	43
Figure 41 – Répartition des chiens selon les régions. -----	44

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1- Localisation et description des stations d'étude -----	19
Tableau n°2 - Résultats de capture des phlébotomes -----	36
Tableau n°3- Résultats des cultures sur milieu NNN et SLC -----	36
Tableau n°4 - Résultats de ponction ganglionnaire sur milieu NNN et SLC -----	36
Tableau n°5- Résultats d'immunofluorescence indirecte -----	36
Tableau n°6- Résultats de la PCR en fonction d'âge, sexe (♀ femelle, ♂, Mâle), race et communes. -----	38
Tableau n°7- Pourcentage des chiens positifs et négatifs en fonction d'âge -----	40
Tableau n°8 - Pourcentage des chiens positifs et négatifs selon le sexe.-----	41
Tableau n°9 - La répartition de la leishmaniose en fonction de la race -----	42
Tableau n°10- Répartition des chiens selon les régions -----	43

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction générale -----1

Chapitre I : Données bibliographiques

I - Généralité sur la situation épidémiologique de la leishmaniose canine -----4	
I.1. - Vecteur -----4	
I.1.1. - Taxonomie -----4	
I.1.2. - Morphologie général des phlébotomes -----4	
I.1.3. - Cycle biologique des phlébotomes -----6	
I.1.4. - Lutte contre les phlébotomes -----6	
I.2. - Leishmaniose -----7	
I.2.1. - Définition -----7	
I.2.2. - Taxonomie de leishmaniose -----7	
I.2.3. - Morphologie -----7	
I.2.3.1. - La forme amastigote -----8	
I.2.3.2. - La forme promastigote (ou forme leptomonas) -----8	
I.2.4. - Cycle biologique -----9	
I.2.5. - Répartition géographique -----10	
I.2.5.1. - Dans le monde -----10	
I.2.5.2. - En Algérie -----10	
I.3. - Les formes cliniques de la leishmaniose -----10	
I.3.1. - Leishmaniose canin -----10	
I.3.1.1. - Etat clinique -----11	
I.3.1.2. - Symptômes généraux -----11	
I.3.2. - Leishmaniose humaines -----12	
I.3.2.1. - Leishmaniose cutanée sporadique du nord (LCN) -----12	
I.3.2.2. - Leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) -----12	
I.3.2.3. - Leishmaniose viscérale -----13	

I.3.2.3.1. - En Algérie-----	13
I.3.2.4. - La leishmaniose viscérale infantile ou (la forme de l'enfant) -----	14
I.3.2.5. - Leishmaniose muco-cutanée (LMC) -----	15

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. - Présentation de la région de Tizi-Ouzou -----	17
II.1.1. - Choix des stations-----	18
II.2- Méthodes utilisés sur le terrain -----	19
II.2.1. - Méthode d'échantillonnage des phlébotomes -----	19
II.2.1.1. - Pièges adhésifs ou pièges huilés -----	19
II.2.2. - Méthode de dépistage de chiens -----	20
II.2.2.1. - Prélèvements du sang chez les chiens -----	20
II.2.2.2. - Réalisation de frottis -----	20
II.2.2.3. - Réalisation de la ponction ganglionnaire-----	21
II.3. - Méthodes utilisés au laboratoire -----	21
II.3.1. - Tri et conservation des phlébotomes -----	21
II.3.2. - Protocole de préparation des échantillons sanguins -----	22
II.3.3. - Examen direct -----	23
II.3.4. - Examen sur milieux de culture -----	24
II.3.5. – Technique d'Immunofluorescence indirecte -----	24
II.3.5.1. - Mode opératoire d'IFI -----	25
II.3.6. – Extraction d'ADN -----	26
II.3.6.1. – Extraction d'ADN par la méthode de phénol chloroforme-----	26
II.3.6.1.1. - Lyse cellulaire-----	26
II.3.6.1.2. - Déprotinisation -----	27
II.3.6.1.3. - Précipitation -----	27
II.3.6.2. – Extraction d'ADN par la méthode de Kit Omega-----	28
II.3.6.2.1. - Lyse -----	28
II.3.6.2.2. - Précipitation -----	28
II.3.6.2.3. - Lavage -----	28
II.3.6.2.4. Elution -----	29
II.3.7. - PCR (polymerasechain reaction) standard -----	30
II.3.7.1. - Préparation de mix -----	30
II.3.7.2. - Programmation de thermo cycler-----	30

II.3.7.3. - Révélation des produits PCR par Electrophorèse horizontale sur gel d'agarose

31

II.3.7.3.1. - Préparation de gel d'agarose -----31**Chapitre III : Résultats****III.1. - Résultats de capture des phlébotomes -----34****III.2. - Résultats des prélèvements sanguins des chiens -----35****III.2.1. - Examen direct sur la lame-----35****III.2.2. - Résultats de l'examen sur milieux de culture NNN et SLC -----36****III.2.3. - Résultats de ponction ganglionnaire -----36****III.2.4. - Résultats d'immunofluorescence indirect (IFI)-----36****III.2.5. - Résultats de la PCR standard-----37****III.2.5.1. -Répartition des chiens selon les tranches l'âge-----40****III.2.5.2. - Répartition des chiens en fonction du sexe -----41****III.2.5.3. - Répartition des chiens selon la race-----42****III.2.5.4.-Répartition des chiens selon les stations d'études -----43****Chapitre IV : discussion****IV.1. - Discussion des résultats de capture de phlébotomes -----46****IV.2 – Discussion des résultats des prélèvements sanguins chez les chiens-----46****IV.2.1 – Discussion des résultats d'examen direct-----46****IV.2.2. - Discussion des résultats d'ensemencement sur milieu NNN et SLC -----47****IV.2.3. - Discussion des Résultats d'IFI (immunofluorescence indirecte) -----47****IV.2.4. - Discussion des Résultats de la PCR Standard. -----48****IV.2.4.1. - Selon la race -----49****IV.2.4.2. - Selon le sexe -----49****IV.2.4.3. - Selon l'âge -----50****IV.2.4.4. – Selon les régions -----50****Conclusion Générale-----53****Références bibliographiques****Résumé**

Introduction

Général

Les leishmanioses sont des protozoose infectieuse touchant un grand nombre d'animaux vertébrés dont l'Homme et le chien, elles sont dues à la multiplication au sein des cellules du système des phagocytes mononucléés, de parasite appartenant au genre *Leishmania* (**Mohand Kaci, 2015**). Ces protozoaires sont transmis à l'hôte vertébré par l'intermédiaire d'un vecteur, le phlébotome femelle (**Dedet, 1999**). La leishmaniose se manifeste de plusieurs façons chez l'homme, En Algérie on distingue deux formes : la leishmaniose viscérale due à *Leishmania infantum*, ayant comme réservoir principale le chien et la leishmaniose cutanée (**Benikhlef et al, 2004**).

L'importance des leishmanioses dans le monde est illustrée par le nombre annuel de nouveaux cas qui se chiffre entre 1,5 à 2 millions réparties dans 88 pays et la répartition géographique des leishmanioses dépend de celle des phlébotomes vecteurs et des mammifères réservoirs (**Fellah et al, 2014**).

La leishmaniose canine est une forme parasitaire chronique et spécifique de leishmaniose, il s'agit d'une zoonose infectieuse causée par la multiplication d'un protozoaire appelé *Leishmania infantum* (**Mickael et al., 1999**).

À la lumière des recherches antérieures menées par **Kadjoudj (2022)**, **Taha et al., (2022)**, **Bouattour et al., (2021)**, et **Tchoketch (2020)**, qui ont évalué la prévalence de la leishmaniose canine dans différentes régions d'Algérie, il est devenu évident que la leishmaniose canine représente une menace significative en raison de sa capacité à affecter la santé des chiens et son potentiel de transmission à la population humaine.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la situation épidémiologique de la leishmaniose canine dans la région de Tizi -Ouzou en s'appuyant sur l'analyse sérologique et moléculaire des cas, de prélèvement ganglionnaire et de l'examen direct, réaliser au laboratoire d'Eco-épidémiologie parasitaire et Génétique des populations de l'Institut pasteur d'Algérie et un inventaire sur les phlébotomes a été menée dans les foyers de leishmaniose canine.

Ce travail est réparti en quatre chapitres :

Le premier chapitre comprend un bref rappel bibliographique sur les leishmanioses en insistant particulièrement sur la leishmaniose canine.

Le deuxième chapitre décrit la région d'étude, ainsi le matériel et les méthodes utilisés tout au long de notre étude. Le troisième chapitre porte sur l'interprétation des résultats obtenus.

La discussion de ces résultats est présentée dans le quatrième chapitre, et nous terminerons par une conclusion et quelques perspectives.

Chapitre I

Dans ce chapitre nous allons aborder des généralités sur la leishmaniose et sur l'insecte vecteur.

I - Généralité sur la situation épidémiologique de la leishmaniose canine

La leishmaniose canine est une maladie parasitaire zoonotique qui affecte des millions de chiens en Europe, en Asie, en Afrique et en Amérique, dont le spectre de manifestations cliniques est très étendu et le pronostic est sombre chez le chien non traité (**Boudjella, 2022**)

Cette parasitose connaît une évolution importante dans les pays du bassin méditerranéen dans lesquelles elle sévit sous forme endémique (**Ouissi, 2012**), En Algérie la leishmaniose canine concerne tout le territoire national avec une prévalence qui varie d'une région à une autre. La région de Tizi-Ouzou, située en Kabylie, est connue depuis longtemps comme étant le foyer le plus actif de la leishmaniose viscérale et leishmaniose canine vu les conditions climatiques qui permettent le développement de vecteur (phlébotomes) (**Bachi, 2006**).

I.1. - Vecteur

Les phlébotomes sont des insectes(Figure1) dont seule les femelles hématophages (**François, 1990**). Ces petits insectes se nourrissent de sang provenant d'une variété d'hôtes, ce qui les rend capables de transmettre différents agents pathogènes responsables de maladies chez les humains et les animaux à travers le monde (**Kadjoudj, 2022**). Ils ont une activité essentiellement nocturne et crépusculaire, ils sont également très sensibles aux courants d'air, dans les régions tropicales leurs période d'activité s'étale sur toute l'année, alors que dans les régions tempérées, ils disparaissent l'hiver (**Boussa, 2008**).

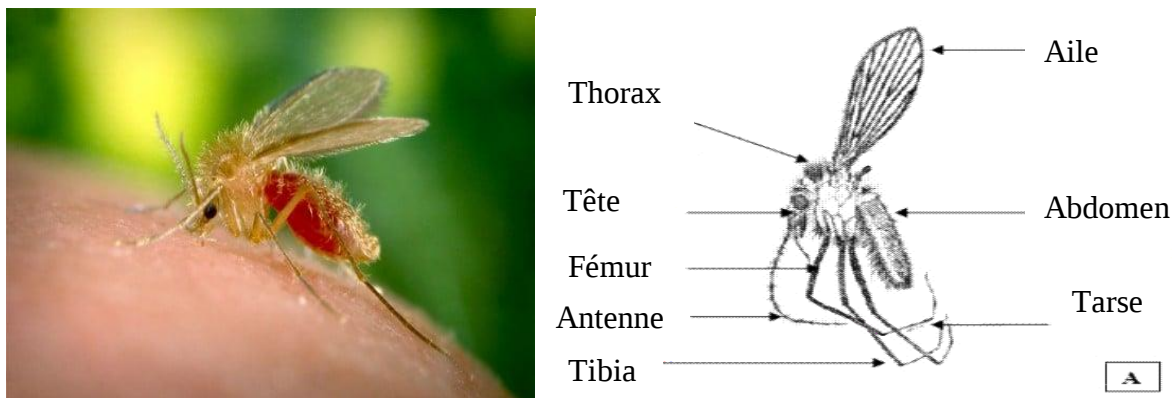


Figure 1 - Aspect général d'un Phlébotome (**Munstermann, 2019**).

I.1.1. - Taxonomie

Les premières études taxonomiques sur les phlébotomes étaient exclusivement basées sur les caractères morphologiques externes (les pièces génitales), puis sur la structure des organes internes telle la description des spermathèques, du pharynx et du ciborium. (**Agathe, 2019**).

Selon (**Lewis 1977**), les phlébotomes, sont de la famille des psychodidae, sous-famille des Phlebotominae et classe insecta.

I.1.2. - Morphologie général des phlébotomes

Les phlébotomes présentent un corps grêle et allongé de petite taille (Figure 2) (**Bousa, 2008**). Ils possèdent une seule paire d'ailes (Diptères), des antennes filiformes (Nématocères), et une présence abondante de soie sur la tête, le thorax, les 6 pattes, et les ailes (Psychodidae) et des pièces buccales aptes à prendre un repas sanguin (Phlebotominae) ; Ils peuvent présenter une variété de couleurs, allant du blanc (ou beige clair) au noir (**Prudhomme, 2015**). Et possèdent de gros yeux ainsi que des pattes longues, ces insectes se déplacent généralement par des vols courts et ont tendances à se poser fréquemment (**Kabbout, 2017**). Le corps du phlébotome adulte est divisé en trois principaux compartiments : La tête, thorax et abdomen.

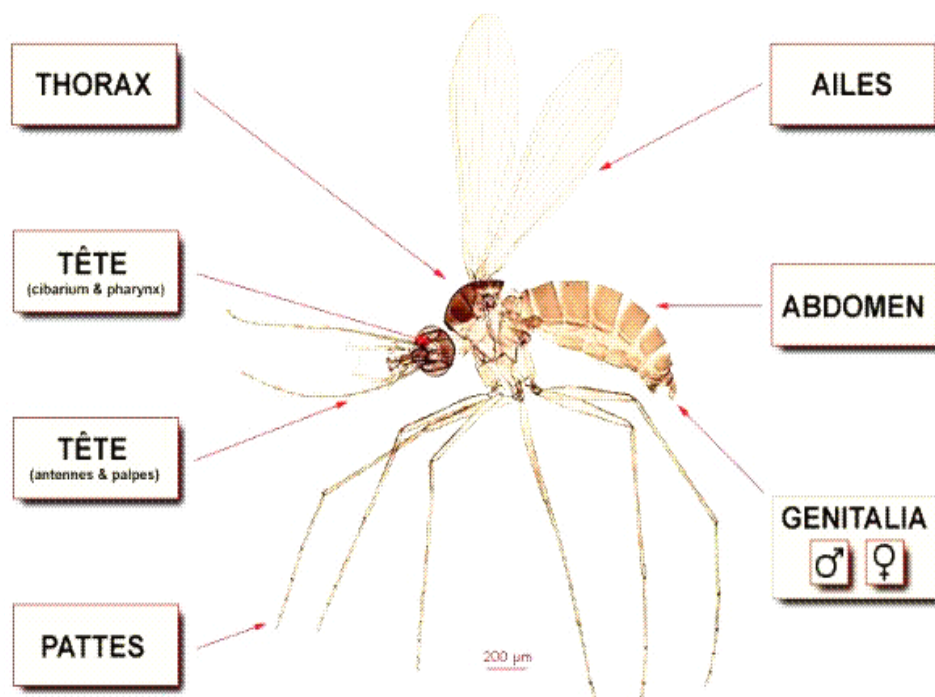


Figure 2 - Morphologie générale d'un phlébotome adulte (Ramdane,2019)

I.1.3. - Cycle biologique des phlébotomes

Au cours de leur vie, les phlébotomes passent par 4 stades immatures (œuf, 4 stades larvaires et nymphe) et un stade adulte (**Kadjoudj, 2022**). Le cycle des phlébotomes de l'éclosion de l'œuf à l'émergence de l'adulte varie de 20 à 75 jours (Figure 3), Œufs et larves sont les formes de résistance en hiver (**Kabbot, 2017**). Selon **Depaquit et Léger, (2017)** la durée de vie des adultes dépend de la température (plus celle-ci est basse, plus la durée de vie est élevée, cela signifie que ces parasites peuvent survivre plus longtemps dans des conditions plus fraîches), et de l'humidité (plus l'hygrométrie est élevée, plus la durée de vie est élevée) ; En moyenne, les femelles vivent deux semaines à deux mois et prennent généralement plusieurs repas sanguins (ce qui est indispensable à la transmission des leishmanies) alors que les mâles ont une durée de vie plus brève.

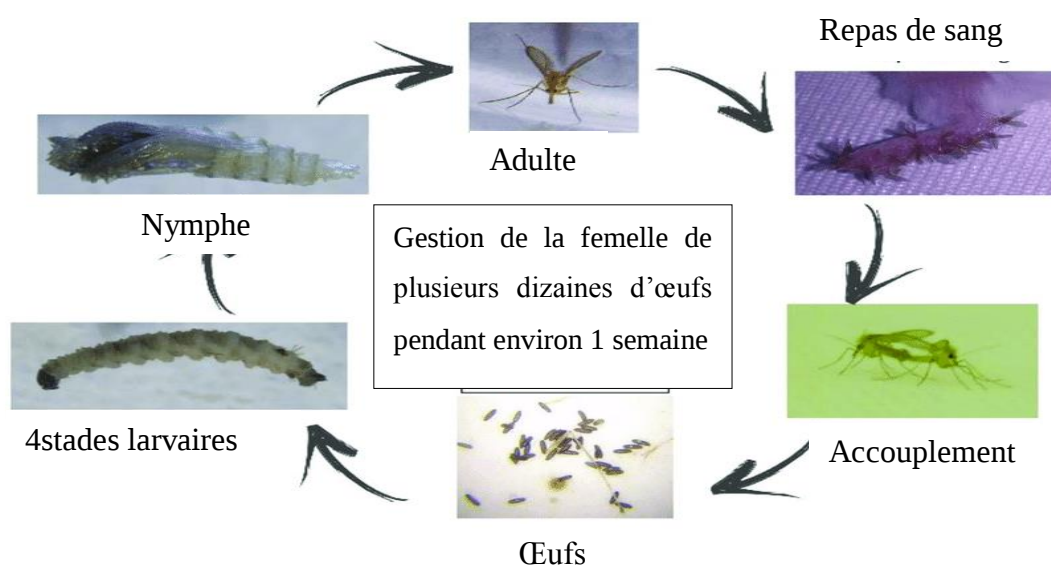


Figure 3 - Cycle évolutif de développement des phlébotomes (Prudhomme, 2015).

I.1.4. - Lutte contre les phlébotomes

La lutte contre les phlébotomes est difficile, les biotopes larvaires restent trop peu connus, innombrables et de petite taille. La lutte contre les larves est donc une utopie, les larves étant terricoles, on peut limiter les densités les plus élevées en réduisant l'abondance de matières organiques sur le sol (dans les fermes) ou en évitant la création de gîtes larvaires à proximité des habitations (barbacanes (ouverture haute et étroite dans un mur)) (**Depaquit et Léger, 2009**).

La lutte anti vectorielle par pulvérisation d'insecticides à un effet rémanent à l'intérieur des habitations et les gîtes des animaux, elle ne s'applique que si la dispersion du

vecteur se limite aux zones domestique et péri domestique. Ce moyen de lutte prend en considération les caractéristiques de l'espèce à savoir si elle est endophile ou exophile, endophage ou exophage nécessitant la pulvérisation périodique d'insecticide (**Who, 2011**).

I.2. - Leishmaniose

I.2.1. - Définition

La leishmaniose est un complexe de manifestations cliniques qui figure dans la liste de maladies tropicales négligées de l'Organisation Mondiale de Santé. Elle est endémique dans 98 pays ou territoires et son incidence annuelle est d'environ 2 millions de nouveaux cas dans le monde (**Mady Malheiros B, 2022**). Il appartient au règne des protistes, ordre des Kinétoplastidae, famille des Trypanosomatidea ; Les leishmanioses sont des maladies communes à l'homme et à certains mammifères (**Hide et al, 2007**).

I.2.2. - Taxonomie de leishmaniose

La position de *Leishmania* Ross ,1903 dans la classification de **Levine et al., (1980)** est la suivante :

- **Règne** : Protista (Haeckel, 1866)
- **Sous –Règne** : Protozoa (Goldfuss, 1877, Siebold, 1848)
- **Phylum** : Saomastigophora (Honigberg et Balamuth, 1963)
- **Sous phylum** : Mastigophora (diesing, 1866)
- **Classe** : Zoomastigophorea (Calkins, 1909)
- **Ordre** : Kinetoplastida (Honigberg, 1963 ; Emnd. Vickerman,1976)
- **Sous Ordre** : Trypanosomatina (Kent, 1880)
- **Famille** : Teypanosomatidae (Doflein, 1901Emend.Grobber, 1905)
- **Genre** : *Leishmania* Ross, 1903.

L'agent pathogène de la leishmaniose canine, *Leishmania infantum* est un protozoire de la classe des flagellés, ordre des kinétoplastidés, famille des Trypanosomatidés, du genre *Leishmania* et du complexe *Leishmania donovani* (**Claire, 2018**).

I.2.3. - Morphologie

Ce parasite existe sous deux stades distincts au cours de son cycle évolutif : amastigote et promastigote.

I.2.3.1. - La forme amastigote

On l'observe chez l'homme et les mammifères vertèbres. Est une petite capsule ovoïde de 2 à 5µm de long sur 2µm de large (Figure 4), possèdent un volumineux noyau arrondi en forme de bâtonnet, un flagelle interne et un kinétoplaste bacilliforme très visible, à ce stade les leishmanies sont immobiles et situées à l'intérieur des cellules du système de phagocytes mononucléés (SPM) des mammifères (**Boudrissa, 2014**).

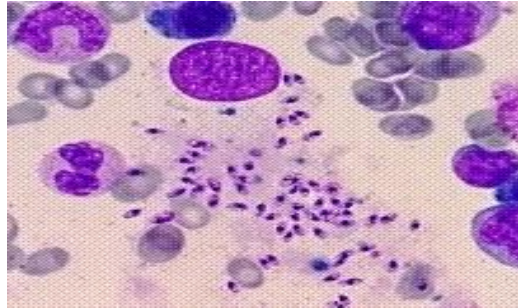


Figure 4 - La forme amastigote de leishmania

(https://www.drmicrobe.com/fiches/Leishmania_infantum.php)

I.2.3.2. - La forme promastigote (ou forme leptomonas)

Ce sont des parasites extracellulaires allongés, mobiles, de 10 à 15µm de longueur, prolongé par un flagelle, ils possèdent un noyau ovulaire approximativement central, avec un kinétoplaste en position antérieure entre le noyau et la sortie du flagelle (Figure 5). Cette forme est rencontrée dans le tube digestif de phlébotome et dans les milieux de cultures (**Bourdoiseau, 2015**).



Figure 5 - Forme promastigote de leishmania (Allali et Djeddar, 2022).

I.2.4. - Cycle biologique

Le cycle de vie des leishmanies (Figure 6) se partage entre insecte vecteur et hôtes mammifères, dont les principaux réservoirs sont le chien qui est un réservoir domestique et l'homme (Clémence, 2009).

La leishmaniose est transmise par la pique de phlébotome femelle. Lors d'un repas sanguin, les phlébotomes injectent des promastigotes méta cycliques (la forme infestée du parasite) (1) ; qui envahissent activement les cellules phagocytaires mononuclées (2). Ils se transforment ensuite en amastigotes (3) (Boussa, 2008). Cette transformation est dû à deux facteurs la température et le PH. La Température au sein de phagolysosome de l'hôte mammifère est de 37 °C et le PH est entre 4.5 à 5, Et chez l'insecte vecteur la température est de 25°C et le PH est légèrement alcalin. (Eddaikra, 2016), les amastigotes se multiplient d'une manière active ce qui entraîne l'éclatement des macrophages, ils atteignent alors les différents tissus (4). Lors d'un repas de sang sur un hôte infecté, les phlébotomes s'infectent en ingérant des macrophages porteurs d'amastigotes (5)(6). Les parasites se transforment en promastigotes dans l'intestin du phlébotome Par mitose (7) et au bout de 24 h, les promastigotes ensuite se migrent vers la trompe et l'œsophage du phlébotome en attendant un nouveau repas (8).

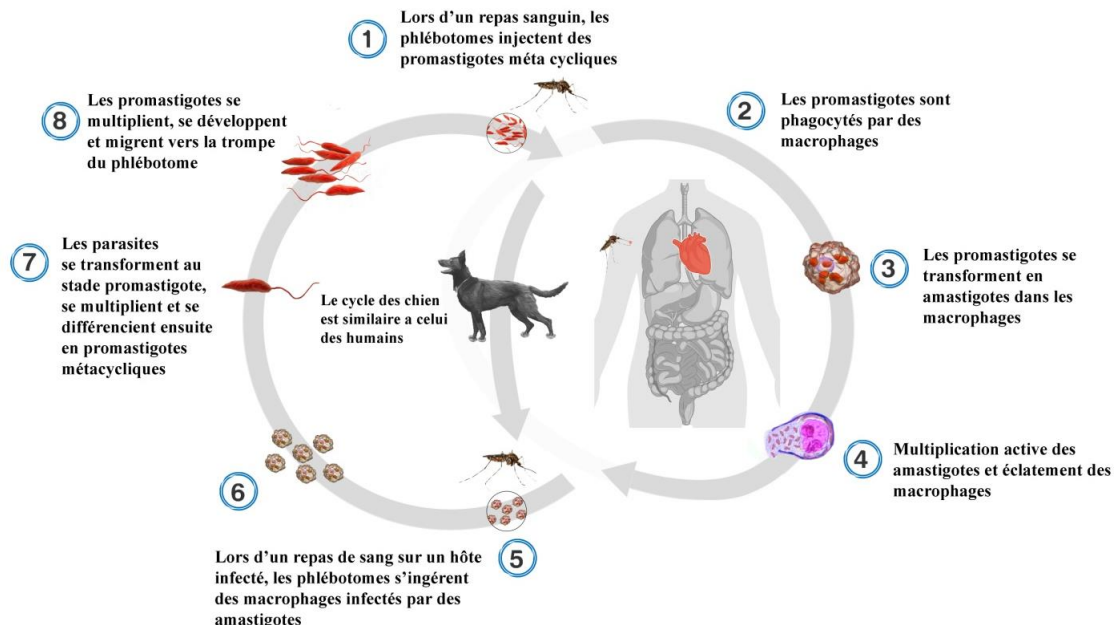


Figure 6 - Cycle de vie de leishmania originale modifié à partir (www.dpd.cdc.gov/dpdx).

I.2.5. - Répartition géographique

I.2.5.1. - Dans le monde

La leishmaniose est largement répandue dans le monde, présente sur tous les continents, à l'exception de l'Océanie (Figure 7), elle est endémique dans environ 50 pays, parmi les 98, affectant principalement deux grandes régions géographiques : le bassin méditerranéen et le Brésil (**Messahel, 2022**).

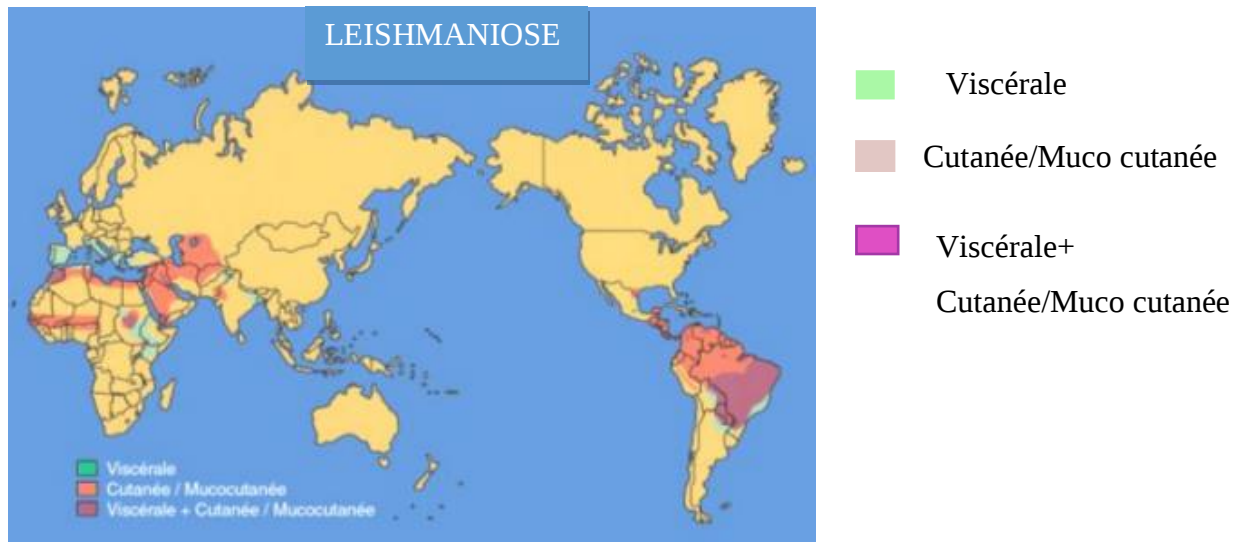


Figure 7 - Répartition mondiale des zones d'endémies des leishmanioses (Benbaara et Rezoug, 2016**).**

I.2.5.2. - En Algérie

La première observation sur les leishmanioses canine a été rapporté par sergent en 1910, pendant cette année 7,2% des chiens étaient cliniquement de signes leishmanioses, en suite la fréquence de chiens malades augmente progressivement, Les foyers les plus actifs se trouvent au nord dans les montagnes de la petite et grande Kabylie (**Frahtia, 2015**).

I.3. - Les formes cliniques de la leishmaniose

I.3.1. - Leishmaniose canine

La leishmaniose canine (LCan) est une protozoose infectieuse et zoonotique, due à la multiplication d'un protozoaire flagellé, dans des cellules à propriétés macrophagiques (*Leishmania infantum*), également responsable de la leishmaniose humaine (**Bourdoiseau, 2015**).

I.3.1.1. - Etat clinique

La période d'incubation peut aller de plusieurs mois à plusieurs années avant que l'animal contaminé ne manifeste des symptômes ou des lésions. Dans la majorité des cas, il est possible d'observer ce qu'on appelle un chancre d'inoculation, c'est-à-dire une sorte de « bouton » Elle apparaît en moyenne 3 mois après la piqûre et évolue sur une période de 6 mois (Djezzar, 2006). *L. can* a *L. infantum* est une maladie très protéique, et la distinction entre la LV et LC chez l'homme n'est pas fondée chez le chien (Clémence, 2009). *L. infantum* et *L. donovani* entraînant le plus souvent un portage asymptomatique (Fausher, 2013).

I.3.1.2. - Symptômes généraux

Une perte importante des poils, essentiellement au niveau de la tête, du cou et du poitrail, (Figure 8), allongement des ongles (angles de fakir) (Clémence, 2009). Une forte dépilation autour des yeux, La peau devient sèche, des ulcères peuvent se former au niveau des pattes, des oreilles ou de la truffe, qui peuvent aller jusqu'à la cachexie, par la fonte des réserves graisseuse et de la masse musculaire (Nedjadi, 2015). L'évolution entraîne des complications insuffisance rénale, inflammation articulaire, gonflements des ganglions de la rate (splénomégalie) et /ou du foie (hépatomégalie). En l'absence de traitement, le chien va devenir cachectique, la mort est souvent de règle (Djezzar, 2006).



Figure 8 - Exemple des manifestations cliniques chez le chien infecté par *L. infantum* (Messahel, 2021).

I.3.2. - Leishmaniose humaines

L'Algérie compte parmi les pays les plus touchés par la leishmaniose. Les formes cliniques les plus répandues sont : la leishmaniose viscérale (LV), la leishmaniose cutanée-muqueuse la leishmaniose cutanée sporadique du nord (LCN) et la leishmaniose cutanée zoonotique du sud (LCZ) (Harrat et Belkaid, 2003).

I.3.2.1. - Leishmaniose cutanée sporadique du nord (LCN)

En Algérie elle est connue sous la dénomination de « clou de Mila », cette forme présente la particularité de siéger au niveau du visage sous forme d'une lésion nodulaire souvent unique (Figure 9). Le variant enzymatique du complexe *Leishmania infantum*. *L.infantum* zymodème MON-24 a été identifié, comme principal agent responsable de la leishmaniose cutanée du nord (Benikhlef et al, 2004).



Figure 9 - Aspect clinique de la LCN (Moumni, 2015)

I.3.2.2. - Leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ)

La leishmaniose cutanée zoonotique (Figure 10) constitue un problème de santé publique majeur en Algérie. Elle est causée par trois parasites différents, *Leishmania Major* MON-25 inféodé aux régions steppiques et sahariennes, *Leishmania infantum* MON-24 dans la région de Tell, et *Leishmania killicki* limité à Ghardaïa, dans le sud algérien (Boudrissa et al., 2011).



Figure 10 - Lésion ulcéro-croûteuse de LCZ dû à *Leishmania major* (**Larbi, 2018**).

I.3.2.3. - Leishmaniose viscérale

Leishmaniose viscérale est une maladie parasitaire mortelle qui est transmise à l'homme par la pique d'un phlébotome infecté, elle peut être difficile à diagnostiquer et à traiter, et elle peut entraîner des complications graves, telles qu'une hépatosplénomégalie et une anémie (**Killick Kendrick R., 1999**).

I.3.2.3.1. - En Algérie

La leishmaniose viscérale humaine pose un réel problème de santé publique, on dénombre environ 400 nouveaux cas par an, dans le foyer de Tizi-Ouzou la maladie est responsable de 6% de décès (**Bousa, 2008**). La leishmaniose viscérale est causée par *Leishmania Infantum* MON-1, se trouve principalement au Nord du pays au niveau des étages bioclimatiques humides et subhumides (Figure 11). Au cours des dernières années des nouveaux foyers sont apparus. L'espèce vectrice de la leishmaniose viscérale en Algérie est la *Phlebotomus perniciosus*, quant au réservoir il s'agit du chien (**Bachi, 2006**).



Figure 11 - La distribution géographique de la leishmaniose viscérale en Algérie
(Allali et Djeddar, 2022).

I.3.2.4. - La leishmaniose viscérale infantile ou (la forme de l'enfant)

La leishmaniose viscérale chez l'enfant se caractérise par une fièvre irrégulière, une pâleur, une splénomégalie qui est suivie parfois par une hépatomégalie, elle est fatale dans sa forme évolutive, dans les régions où la leishmaniose viscérale est endémique. La leishmaniose viscérale tend généralement vers la chronicité et fait ses principales victimes chez les enfants de la tranche d'âge 1 à 4 ans (92 %) avec *L.infantum* comme agent principale (**WHO, 2011**), en absence du traitement la maladie est mortelle, la forme adulte est plus rare (**Bachi, 2006**) (Figure 12).

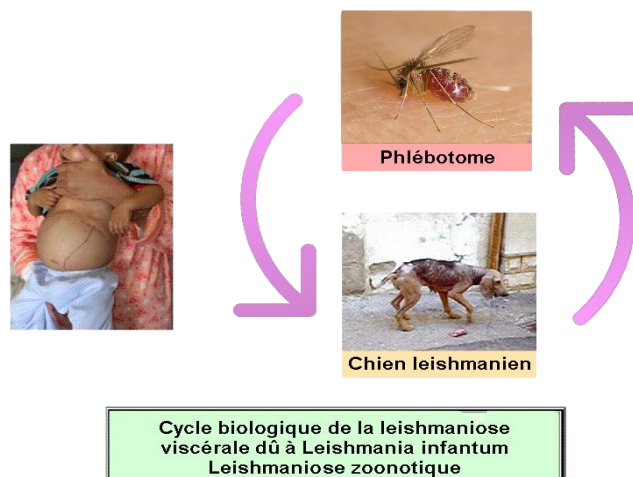


Figure 12 -Cycle biologique de LV à *L.infantum* (**Larbi, 2018**)

I.3.2.5. - Leishmaniose muco-cutanée (LMC)

Également connue sous le nom « espundia », elle provoque la destruction des cavités succo-nasales et pharyngées avec des lésions mutilantes au visage, Elle est principalement associée à des espèces de *Leishmania* du nouveau monde comme *L. braziliensis* et *L. guyanensis*, mais a été également signalée dans l'ancien monde (Afrique, Asie, Europe) suite à *L. donovani*, *L. Major* et par *L. infantum* chez les patients immuno –déprimés (**Belkhelfa et Bahia, 2017**).

Chapitre II

Ce chapitre abordera la localisation géographique de la région de Tizi-Ouzou ainsi le choix de stations d'études et les différentes méthodes utilisés sur le terrain et au laboratoire.

II.1. - Présentation de la région de Tizi-Ouzou

Notre étude a été menée dans la région de Tizi-Ouzou qui est située au Nord-Est de l'Algérie et qui appartient à l'étage bioclimatique subhumide à hiver tempéré, Elle se situe à 100 kilomètres de la capitale d'Alger. Cette région s'étend sur une superficie de 3.568Km² (Figure13), Elle est délimitée au Nord par la mer méditerranée, à l'Est par la wilaya de Bejaia, à l'Ouest par la wilaya de Boumerdes, au Sud par la wilaya de Bouira (**Allouche et OuldLhadj, 2018**).



Figure 13 - Situation géographique des communes de la wilaya de Tizi-Ouzou

<https://decoupageadministratifalgerie.blogspot.com>

II.1.1. - Choix des stations

Afin de mieux connaître la situation de leishmaniose dans la région de Tizi-Ouzou, Nous avons choisi 7stations d'échantillonnage durant les mois novembre, décembre 2022, et février, mars 2023, avec une fréquence de deux piégeages par mois (Figure14), Le mois de janvier nous n'avons pas pu effectuer l'échantillonnage en raison des conditions climatiques. Les stations d'études sont :(Ouadhias (Figure 15 A), Tirmitin (Figure 15 B), Freha (Figure 15 C), Boghni (Figure 15 D), Tizi Rached (Tala N'Zaouche (Figure 15 E), Taboukert (Figure 15

F)), Mechtras (Figure 15 G), et Hessnaoua (Figure 15 H)). Le choix des stations est basé sur l'accessibilité et la disponibilité des lieux d'élevages d'animaux, (ovines, bovines, caprines), ainsi que des refuges pour chiens, et chats, car il y a une cohabitation étroite entre les animaux et les humains, cela peut augmenter le risque de transmission de la maladie, la description des stations d'étude est représentée dans le Tableau 1.



Figure 14 - Carte représentant les stations d'échantillonnage originale modifié (Google Earth ; 2023)



Figure 15 -Différents stations d'échantillonnage durant la période d'étude (Original, 2023).

Tableau1 : Localisation et description des stations d'étude

Station d'étude	Description	Localisation géographique
Ouadhia	Étable d'élevages des ovines	36°40'56.3 ''N4°05'54.7''E
Tirmitin	Étable d'élevages mélange ovines et caprins	36°39'39.1''N3°58'38.7 ''E
Freha	Étable d'élevages des bovins	36°49'14.9''N4°12'36.9''E
Boghni	Étable d'élevages des bovins	36°33'01.9''N3°56'28.7''E
Tala N'Zaouche	Refuge pour chiens	36° 40'18 '' N ; 4°11'430''E
Taboukert	Refuge mélange chiens et chats	36°40'18" N ; 4°11'30"E
Mechtras	Étable traditionnel bovins	36°32'58.5''N4°00'08.8''E
Hessnaoua	Dresseur des chiens	36°40'30.7''N 4°03'17.3''E

II.2- Méthodes utilisés sur le terrain

Nous avons réalisé un échantillonnage visant à obtenir du sang à partir des réservoirs canins, et de capturer les phlébotomes dans les stations d'études.

II.2.1. - Méthode d'échantillonnage des phlébotomes

II.2.1.1. - Pièges adhésifs ou pièges huilés

Le piégeage des adultes de phlébotomes est mené par la technique de pièges adhésifs qui permet la récupération des spécimens morts et s'avère être une méthode rentable, parfaitement adapté pour l'échantillonnage quantitatif.

Ce sont des feuilles de papier de couleur jaune claire glissant coupés en carrés de 20Cm×20Cm, imbibées d'huile de ricin sur les deux faces jusqu'à le rendre transparent (Figure 16), et installées par un fil dans des stations différentes à l'extérieur et à l'intérieur des lieux d'élevages, puis récupérées dans 4 à 5 jours (Figure 17). Une fois relevée chaque feuille est placée individuellement dans une pochette en plastique bien identifiées. La durée de pièges dépend des conditions climatiques

L'avantage d'huile de ricin de ne pas être répulsive et d'être très visqueuse et ne présente pas d'odeur et permet de fixer les phlébotomes sur les feuilles puis faciliter leurs, récupération. Les pièges adhésifs permettent d'étudier la diversité des espèces de phlébotomes et leur dynamique saisonnière.

Les inconvénients de ces pièges ce qu'ils peuvent être enlevés ou détruit par les rongeurs ou animaux.



Figure 16 – Feuilles imbibées d’huile de ricin (Original, 2023).



Figure 17 – Retrait des pièges dans des sacs en plastique (Original, 2023).

II.2.2. - Méthode de dépistage de chiens

II.2.2.1. - Prélèvements du sang chez les chiens

51 chiens ont fait l’objet de notre étude après l’obtention du consentement de leurs propriétaires. Pour garantir la sécurité chaque chien a été muselé et maintenu par son propriétaire avec l’assistance d’une autre personne. Nous avons ensuite effectué une désinfection de la face latérale du métatarse, suivi de la réalisation d’un garrot au niveau du genou. Cela a permis de mettre en évidence la veine saphène, qui a été ponctionnée à l’aide d’une aiguille fixée à une seringue de 5 ml. Le sang prélevé a été directement introduit dans un tube EDTA pour éviter sa coagulation et tube sec. Sur chaque tube, nous avons noté la date et le numéro de chien correspondant (Figure 18).

Les prélèvements sont transférés immédiatement au Laboratoire d’éco-épidémiologie parasitaire et génétique des populations de l’Institut Pasteur d’Algérie pour traitement et ensemencement.



Figure 18 – Prise du sang veineux au niveau d’une veine saphène pour un chien, (Original, 2023).

II.2.2.2. - Réalisation de frottis

Les chiens qui présentant des lésions cutanées ont été soumis à un prélèvement du suc dermique, (chien C6 et C19). Après désinfection et nettoyage de la lésion. Un

prélèvement cutané a été effectué par grattage avec un bistouri, à la périphérie de la lésion où le parasite est actif (Figure19).



Figure 19 – Raclage de lésion d'un chien (Original, 2023).

II.2.2.3. - Réalisation de la ponction ganglionnaire

La méthode de ponction ganglionnaire est une méthode courante qui permet de diagnostiquer la leishmaniose, il consiste à prélever le liquide provenant des ganglions lymphatiques. La procédure implique l'insertion d'une aiguille fine dans le ganglion, le médecin vétérinaire alors aspire délicatement le liquide en réalisant 3 à 4 aller-retour (Figure 20). Le contenu de seringue est immédiatement acheminer à proximité du bec bunsen et directement déposer dans le milieu NNN et SLC.

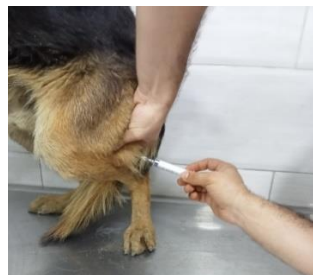


Figure 20 - Prélèvement ganglionnaire (Original, 2023).

II.3. - Méthodes utilisés au laboratoire

II.3.1. - Tri et conservation des phlébotomes

De retour au laboratoire les phlébotomes sont séparés selon leurs sexes. Les spécimens sont prélevés à l'aide d'un pinceau fin, une goutte d'éthanol à 90° posée sur l'insecte pour dissoudre l'huile et qui permet le prélèvement sans trop de dégât, sous la loupe binoculaire (Figure 21), on transfère les phlébotomes dans des tubes eppendorfs contenant de l'éthanol à 90°, et chaque tube est identifié par une étiquette portant le code de station de capture et le numéro de feuille puis conserver pour le dénombrement.



Figure 21 - Retrait des spécimens capturés sur les pièges adhésifs (Original, 2023).

II.3.2. - Protocole de préparation des échantillons sanguins

Les deux tubes EDTA et sec de chaque chien ont été centrifugés à 2500 tr pendant 10 min à température ambiante.

Après centrifugation, nous avons obtenues trois couches bien séparées le plasma en haut du tube, la couche leucocytaire au milieu et les globules rouges au fond du tube.

Les tubes sont mis à proximité d'un bec benzène dans un périmètre de 20 Cm afin d'assurer la stérilisation de l'air environnant.

Le sérum de tube sec et le plasma de tube EDTA a été transférés dans les tubes Eppendorfs et garder à -4°C pour une éventuelle technique sérologique.

La couche leucocytaire de premier tube estensemencée sur les milieux de cultures NNN et Sérum de lapin coagulé (NNN et SLC), et on rajoute 0,5ml d'eau physiologique et quelques gouttes d'antibiotique pour empêcher toute prolifération de bactéries, les tubes sont incubés à 25°C pendant une semaine.

La couche leucocytaire du deuxième tube et transférée dans un tube Eppendorf contenant 0,5ml du tampon.

TE prépare dans la hotte et garder à 4°C pour une extraction d'ADN pour le diagnostic moléculaire par PCR (Figure 22).

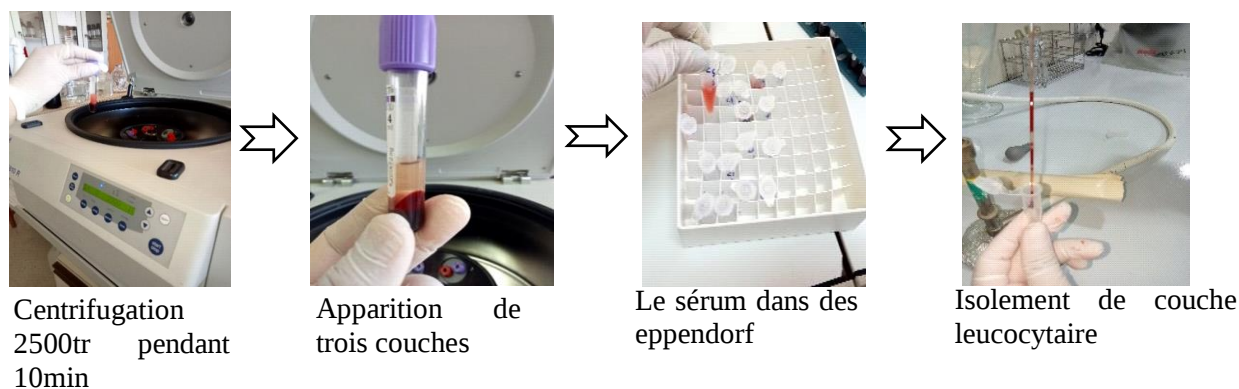


Figure 22 - Les étapes appliquées dans laboratoire pour les prélèvements sanguins (Original, 2023).

II.3.3. - Examen direct

Tout d'abord, les cellules présentes sur le frottis sont fixées en les exposant au méthanol, On laisse sécher le frottis pendant environ 5 minutes pour assurer une fixation adéquate. En suite, On prépare une solution de Giemsa, (My Grunwald Giemsa). Pour cela, on dilue 1ml de Giemsa dans 9ml d'eau, afin d'obtenir la concentration souhaitée.

La solution de Giemsa est ensuite filtrée pour éliminer les impuretés. Cette filtration garantit une coloration uniforme et de qualité.

Une fois la solution est prête, on procède à la coloration du frottis, on recouvre les lames avec la solution de Giemsa préparée, en veillant à ce que toute la surface du frottis soit bien couverte. Les lames sont ensuite laissées à agir pendant environ 30 minutes. Cette période permet au colorant de pénétrer les parasites et de les rendre visibles sous le microscope.

Les lames sont ensuite rincées à l'eau courante pour éliminer l'excès de colorant. Et, On laisse sécher à l'air libre, Il est important de laisser suffisamment de temps pour que les lames sèchent complètement, afin d'éviter toute altération des parasites lors de la lecture. Enfin, on passe à la lecture au microscope optique, avec une goutte d'huile à immersion, généralement avec un grossissement $\times 100$. Les parasites *Leishmania* apparaissent sous leur forme amastigote (Figure 23).

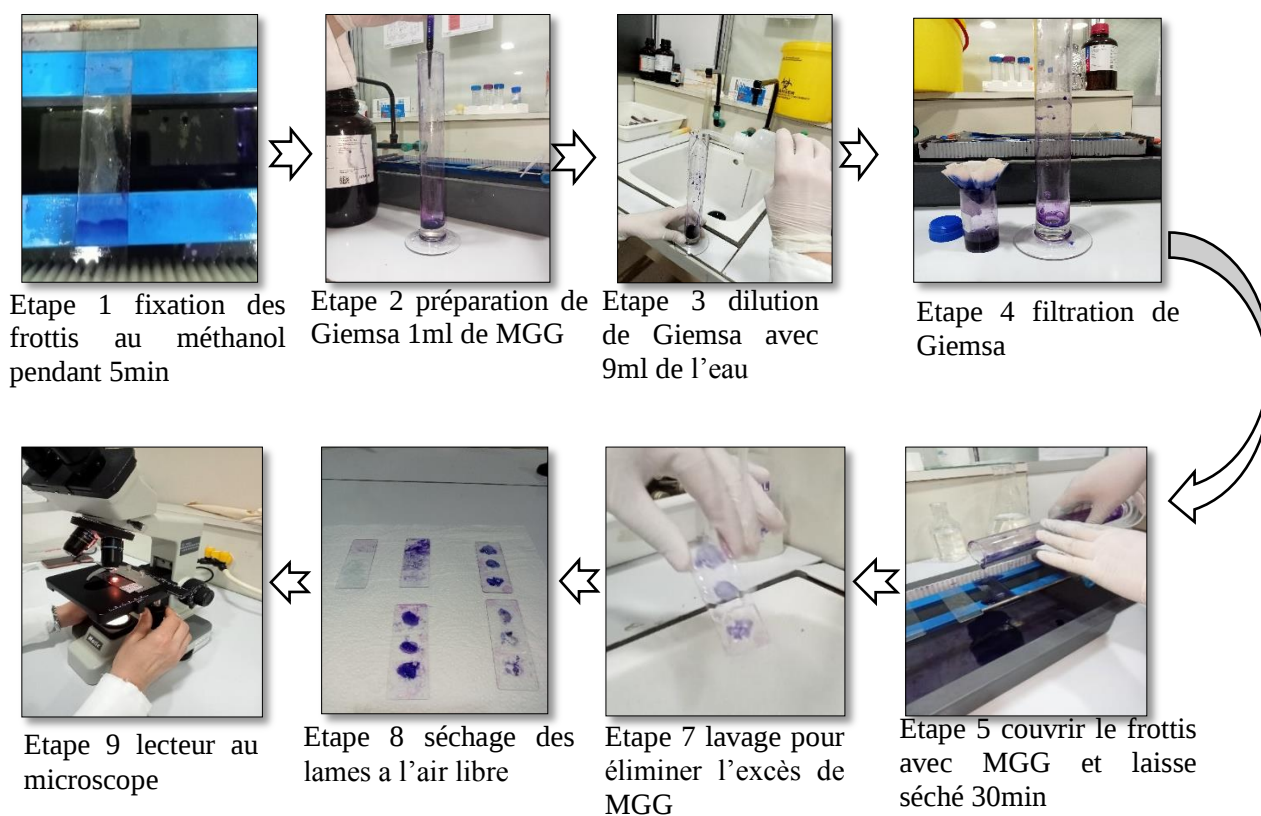


Figure 23 - Protocol de la coloration (Original, 2023).

II.3.4. - Examen sur milieux de culture

La culture des parasites est très importante pour l'isolement du parasite et l'identification de l'espèce en cause. Le milieu NNN (Novy, Nicolle, MC, Neal) est parmi les milieux qui sont favorable à la multiplication des formes promastigotes de leishmanies, il contient de la gélose et du sang.

Devant une flamme du bec bunsen et à l'aide d'une pipette pasteurstérile on prend la couche leucocytaire et l'ensemence dans un milieu NNN, et on rajoute 1cc de la solution d'antibiotiques pour éviter les contaminations bactériennes, puis incubé à 25°. on passe à la lecture en déposant, une goutte de la phase liquide entre lame et lamelle et on vérifie régulièrement les tubes à essai au microscope 40X pour observer la croissance des parasites (Promastigotes).

Lorsque la culture atteint une densité appropriée, on prélève une petite quantité de parasites (environ 10 à 20%), et on la transféré dans un nouveau flacon et on ajoute une solution d'antibiotique (pénicilline et sterptomycine). Cela permet de diluer les parasites et de maintenir une croissance continue (Repiquage)

On Surveille attentivement les cultures pour détecter toute contamination bactérienne, fongique ou d'autres parasites. Si une contamination est détectée, on élimine la culture infectée et on transfère les parasites non contaminés dans un nouveau milieu frais(Figure24).

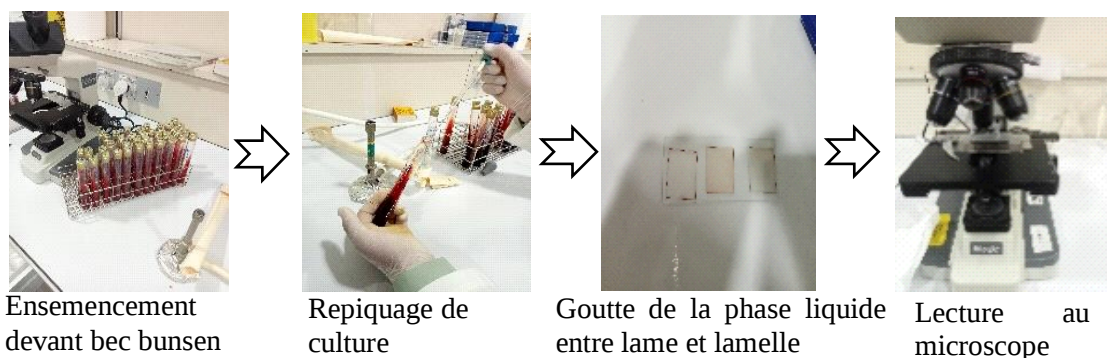


Figure 24 - Les étapes de l'examen sur milieu de culture NNN (Original, 2023).

II.3.5. – Technique d'Immunofluorescence indirecte

Est une technique sérologique basé sur la réaction antigène \anticorps révèle grâce à un second anticorps spécifique du premier, et couplé à un fluor chrome.

L'immunofluorescence est basée sur l'utilisation successive de 2 anticorps ; le premier de type monoclonal reconnaît spécifiquement l'antigène recherché. Le second anticorps, marqué par un fluorochrome, est dirigé contre l'anticorps primaire .et possédant une haute affinité.

La protéine fluorescente émet de la lumière, lorsqu'elle est exposée à une certaine longueur d'onde.

II.3.5.1. - Mode opératoire d'IFI

Les lames sensibilisées d'AG comportant 18 puits, sont préalablement mises au réfrigérateur a (-20°C), puis à l'étuve pendant 30 min à 37°C afin de les décongeler puis on passe à la fixation d'antigène dans le bac d'acétone, et on sèche 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 chiens sont dilués à 1/20, 1/40, 1/80 avec le PBS, on rajoute à tous les sérums de PBS. On dépose 10 µl de chaque dilution dans un puits de la lame, les 2 premiers puits sont réservés au sérums négative et positive, les lames sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 10 min, puis 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 séchées avec sèche main, et on rajoute ensuite dans chaque puits une goutte de conjugué; et on laisse à l'étuve pendant 30 min. on lave ensuite les lames au PBS pendant 5 min puis on les tempère dans un bac de lavage au PBS pendant 10 min puis on sèche, les puits sont ensuite remplis d'une solution de bleu d'Evans (sert à colorer le fond des leishmanies) et on incube à nouveau à 37°C pendant 15 min, à la fin on ajoute 2 à 3 gouttes de glycérine aux lames et on couvre par lamelle et on observe au microscope à UV à G40. le seuil de positivité des sérums est fixé à 1/80 (Figure 25)

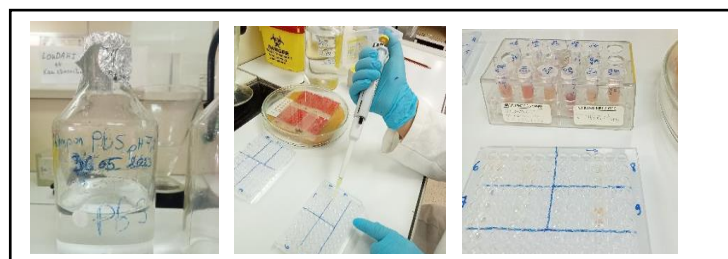
Etape 1

- Décongélation les lames à partir de -20
- Sécher les lames dans l'étuve à 37°
- Fixation des lames dans le bec d'acétone à -20 pendant 10min
- Sécher les lames à nouveau



Etape 2 réalise les dilutions

- Réaliser la série de dilution à 1/2 pour les sérums témoins et sérums à tester
- Rajouter à tous les sérums 500 µl de PBS
- Effectuer ensuite les dilutions 1/20, 1/40, 1/80.

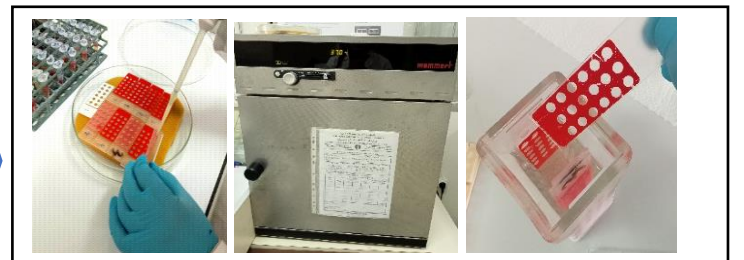


Etape 3 contact antigène anticorps

- Déposer une goutte (10 μ 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.

**Etape 4 préparation de conjugué**

- Deposer une goutte(10 μ l) du conjugai fluorescent dans chaque puits
- incubation a l'étuve puis séchage

**Etape 5 la contre coloration**

- Deposer une goutte (10 μ l) du bleu d'évans dans chaque puits.
- Lecture de la lame au microscope a fluorescence (à UV)

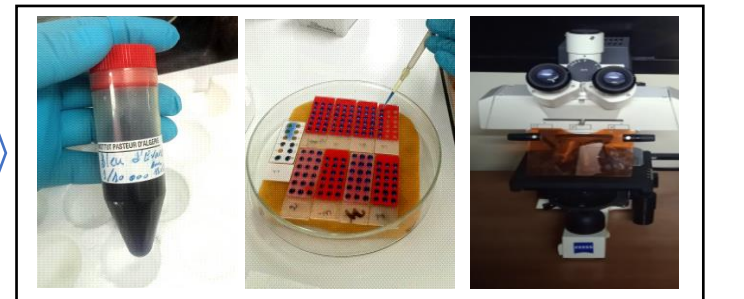


Figure 25 - Protocole d'immunofluorescence indirecte (Original, 2023).

II.3.6. – Extraction d'ADN**II.3.6.1. – Extraction d'ADN par la méthode de phénol chloroforme**

Résumé en trois étapes :

II.3.6.1.1. - Lyse cellulaire

Un tampon de lyse 200 μ l et de SDS 20 μ l a 10% sont ajoutés au culot parasitaire pour casser les ponts disulfures et la bicouche lipidique de la cellule, par la suite la protéinase K 120 μ l est ajoutée pour digérer les protéines existantes dans la solution et notamment celle qui sont liés à L'ADN, vortex puis laisser le mélange incubé à 55° pendant toute une nuit.

II.3.6.1.2. - Déprotinisation

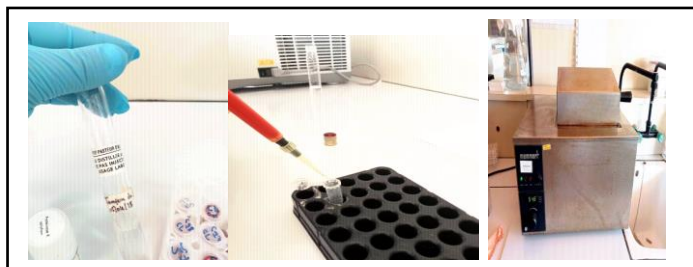
La déprotinisation de la solution se fait par l'ajout de 200µl phénol /chloroforme /alcool iso amylique (25v/24v /v) à la solution préparation précédente puis mélanger les deux phases (par retournement) jusqu'il se forme une émulsion et laisser agir 5 min sur la paillasse .après centrifugation a 10000 tours , pendant 15 minutes ,les protéines dénaturées forment un précipité a l'interface phénol –eau , tandis que ADN reste en solution dans la phase aqueuse supérieure cette dernière est récupéré délicatement dans un nouveau tube Eppendorf

II.3.6.1.3. - Précipitation

Pour précipiter l'ADN de l'acétate de sodium,(1/10 de volume de notre échantillon donc 20 µl) et deux fois de l'éthanol absolu (500 µl) ,sont par la suite ajouté à la solution récupérée précédemment et centrifuger à 10000 tr / 15 min a + 4°C pendant 15 min , puis le surnageant sera jeté laver le culot avec de l'éthanol 70° pour éliminer les sels 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 26).

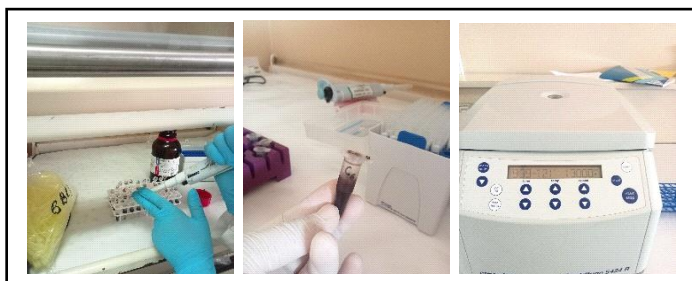
1.Lyse des parasites Ajouter au culot

- 200µL de tampon de lyse
- 120µl de SDS 10%
- Laisser incuber toute la nuit à 55°



2. Déprotéinisation (sous hotte chimique).

- Ajouter un volume égale de mélange phénol chloroforme Alcool isoamylique.
- Mélanger les deux phases (par retournement)
- Laisser agir sur la paillasse 5min
- Centrifugé à 1300tr pendant 15min
- Aspirer la phase supérieure sans aspirer l'interphase, et la transférer dans un autre tube eppendorf



3.Précipitation

- Ajouté 200 μ L d'acétate de sodium.
- Ajouté 500 μ L d'éthanol absolu.
- Centrifuger à 12000 g pendant 15 minutes.
- Jeté le surnageant
- Lavé avec 500 μ L de l'éthanol à 70 %.
- Centrifuger a 12000g pendant 15min.
- Séché à température ambiante toute la nuit.
- Après une nuit de séchage, ajouté 50 μ L TE.



Figure 26 - Protocol d'extraction d'ADN (Original, 2023)

II.3.6.2. – Extraction d'ADN par la méthode de Kit Omega

L'extraction d'ADN est réalisée suivant le Protocol suivant (Figure 27)

II.3.6.2.1. - Lyse

- Ajoute 200 μ l de la Protéinase K à chaque échantillon
- Ajoute 240 μ l du Lysis Master mix préparé (0,275 μ l du TNA Lysis Buffer + 1,24 μ l du Carrier RNA pour 1 échantillon).
- Vortexer

II.3.6.2.2. - Précipitation

- Ajouter 280 μ l de lysis master mix préparé à chaque échantillon (312,5 μ l de l'isopropanol + 5,5 μ l Mag-Bind particules RQ pour 1 échantillon).
- Mélange et vortex pendant 10min.

II.3.6.2.3. - Lavage

- Placer la plaque sur un séparateur magnétique, laissé reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules Mag-Bind RQ soient complètement éliminées de la solution.
- Aspirez et jeter le surnageant sans toucher les particules Mag-Bind RQ. Retirez la plaque du dispositif de séparation magnétique.

- On retire la plaque du dispositif magnétique et on ajoute 350µl de Tampon RMP dilué avec 100% d'isopropanol.
- Vortex pendant 5min
- Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique, laissé reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules Mag-Bind RQ soient complètement éliminées de la solution.
- Aspirez et jeter le surnageant sans toucher les particules Mag-Bind RQ.
- Retirer la plaque du dispositif de séparation magnétique. Ajouter 100µl d'éthanol à 80%
- vortexer pendant 5min pour bien mélange.
- Placer la plaque sur le dispositif de séparation magnétique. Laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que les particules Mag-Bind RQ soient complètement éliminées de la solution.
- Aspirez et jeter le surnageant sans toucher les particules Mag-Bind RQ.
- Répétez les étapes 12 à 14 une fois.

II.3.6.2.4. Elution

- Ajouter 100µl de Nuclease Free water dans chaque tube.
- Vortexer pendant 10 min.
- Place la plaque sur le dispositif de séparation magnétique pour magnétiser les Mag-Bind Particules RQ, laissé à température ambiante jusqu'à ce que les particules Mag-Bind RQ soient complètement éliminées de la solution.
- Transférer le surnageant clarifié contenant L'ADN purifié dans les tubes eppendorf et stocker L'ADN à -20°C.

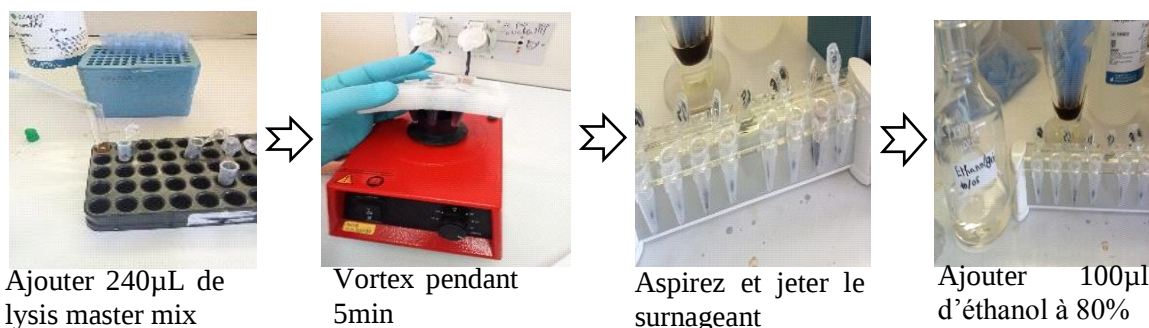


Figure 27 – Les étapes d'extraction d'ADN par la méthode de kit Omega (Original, 2023)

II.3.7. - PCR (polymerase chain reaction) standard

Est une technique de biologie moléculaire, d'amplification génique *in vitro*, elle permet de copier en grand nombre, une séquence d'ADN connu à partir d'une faible quantité.

La PCR est un outil précieux qui peut permettre de détecter des leishmanies chez des chiens symptomatique et asymptomatique.

II.3.7.1. - Préparation de mix

La préparation du mix se fait sous hotte dans des conditions aseptiques pour éviter toute contamination du mix (Figure 28). On note nos initiales sur le côté d'un micro tube PCR contenant 50 μ l de tampon d'extraction de l'ADN. Sous la hotte chimique, on prend un tube eppendorf, on met amorce R, amorce T, de l'eau, et le master mix.

Note : master mix : il remplace PCR buffer, dNTP, amorce 1, DNA polymérase, Msc12.

Après avoir préparé le master mix : on prend 20 μ L, on le rajoute dans chaque micro tube.

On aspire et on refoule plusieurs fois avec la micropipette pour bien mélanger les réactifs de PCR.



Figure 28 – Préparation de mix sous hotte chimique (Original, 2023).

II.3.7.2. - Programmation de thermo cycler

Une fois la préparation et la distribution du mix terminé, les micros tubes seront placés dans le thermo cycler, ce dernier est programmé selon le gène. La réaction de polymérisation en chaine se déroule en 3 étapes qui sont : la dénaturation initiale, l'hybridation et l'élongation finale Cet appareil permet d'exposer les tubes à des températures choisies et pour des durées déterminées par l'expérimentateur (Figure 29).



Figure 29 – Programmation de thermo cycler (Original, 2023).

II.3.7.3. - Révélation des produits PCR par Electrophorèse horizontale sur gel d'agarose

La révélation se fait par le bromure d'éthidium ou BET marqueur d'acide nucléique, quand il est exposé a des rayonnements ultraviolets, il devient fluorescent avec une couleur rouge orangée ,20 fois plus intense quand il est lié à l'ADN.

II.3.7.3.1. - Préparation de gel d'agarose

On pèse 1g d'agarose de qualité et on l'ajoute 100ml de TAE (10 ml de TEB+ 90 ml de l'eau physiologique). Puis on chauffe le mélange au microonde jusqu'à la dissolution et l'obtention d'un liquide limpide. On laisse refroidir le mélange. En le mettant sous l'eau courante, Ensuite on ajoute 7 μ l de BET.

On verse le mélange dans la cuve après avoir passionné les peignes, Après la polymérisation du gel on retire les peignes. Et on rajoute de TAE. On Dépose dans chaque puits 5 μ l d'ADN mélangé avec une goutte (2.5 μ l) du Bleu de bromophénol.

Les trois derniers puits sont respectivement réservés pour le témoin positif, le témoin négatif et le marqueur de poids moléculaire. Afin que la migration puisse avoir lieu, un courant électrique doit passer dans le gel. Pour cela, 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 80 VM Hz pendant environ une heure. 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 30)

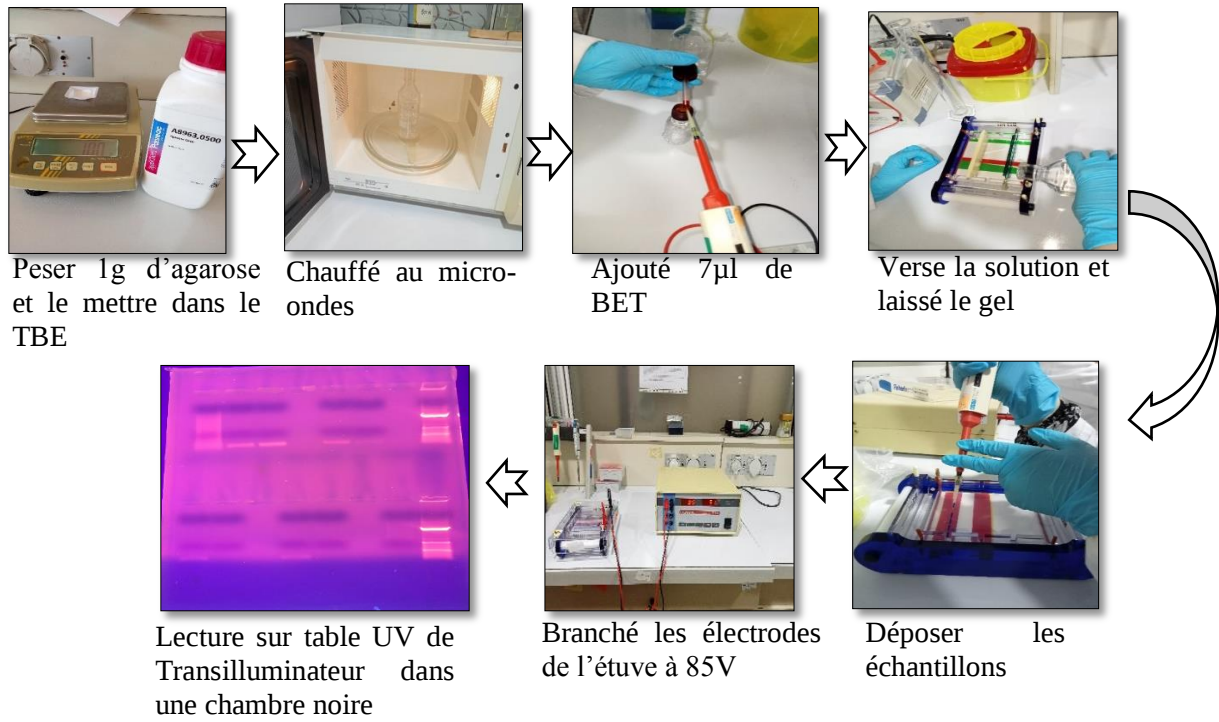


Figure 30 - Protocol d'électrophorèse sur gel d'agarose (Original, 2023).

Chapitre III

Dans ce chapitre nous allons exposer les résultats de capture des phlébotomes à l'aide des pièges adhésifs, et les résultats des prélèvements sanguins veineux des chiens.

III.1. - Résultats de capture des phlébotomes

Les résultats de l'inventaire des phlébotomes dans la région de Tizi-Ouzou sont recensés et regroupés dans le tableau 2.

Tableau2 - Résultats de capture des phlébotomes

Région	Nbr. de pièges		Nbr. de Phlébotomes♀	Nbr. de Phlébotomes♂	Nbr. de Phlébotomes capturés
	Déposes	Récupère			
Ouadhia	6	4	12	0	12
Tirmitin	6	5	25	2	27
Boghni	20	16	58	20	78
Tala N'Zaouche	12	10	35	0	35
Hessnaoua	50	40	169	53	222
Freha	8	5	13	3	16
Total	102	80	312	78	390

L'examen de tableau2 montre que 390 individus de phlébotomes ont été récoltés au niveau des différentes stations de la région d'étude, grâce aux pièges adhésifs sur 102 papiers huilés, 80 étaient fonctionnels, nous avons remarqué que le nombre de spécimen capturés est plus important dans la région de Hessnaoua, sur un total de 50 pièges a été déposé et 40 ont pu être récupérés permet la collecte de 275 Phlébotomes , puis la station de Boghni 78 spécimens ont été collectés sur un total de 20 pièges déposés et que 16 récupères, et le nombre le plus faible de phlébotomes capturés est dans la station de Ouadhia, sur 6 pièges déposés que 4 ont été récupérés (Figure 31). (Les stations Taboukert et Mechtras on 'a pas réalisé l'échantillonnage des phlébotomes).

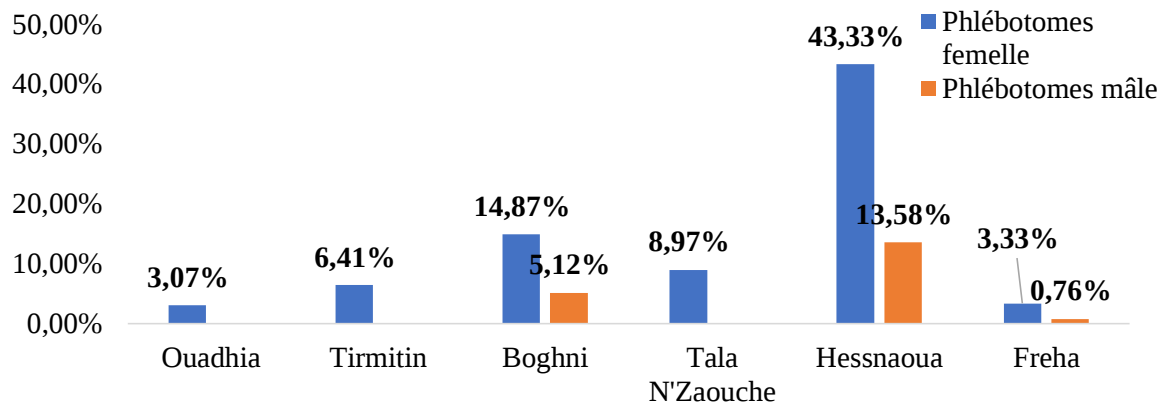


Figure 31 – Répartition des phlébotomes dans la région de Tizi-Ouzou en fonction de sexe et stations

III.2. - Résultats des prélèvements sanguins des chiens

III.2.1. - Examen direct sur la lame

Parmi les 2 frottis réalisés sur les 2 chiens : y qu'un seul qui a été révélé positif

La figure suivante représente le résultat de l'examen direct du chien positif

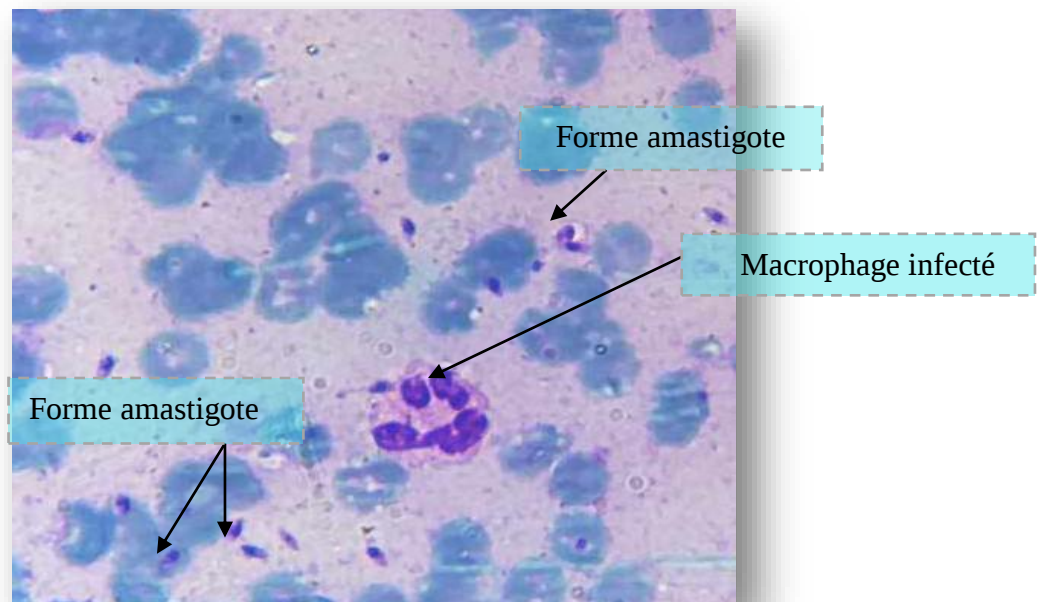


Figure 32 – Forme amastigotes de leishmaniose coloré au MGG observé au G*100
(Original, 2023)

III.2.2. - Résultats de l'examen sur milieux de culture NNN et SLC

Les résultats d'ensemencement sur milieu NNN et SLC après contrôles de 4 semaines sont représentés dans Tableau 3.

Tableau 3 – Résultats des cultures sur milieu NNN et SLC

Prélèvement	Nombre de prélèvement	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4	Résultats
1	9	03/05/2023	11/05/2023	17/05/2023	24/05/2023	Contaminés
2	1	03/05/2023	11/05/2023	17/05/2023	24/05/2023	Contaminés
3	4	11/05/2023	17/05/2023	24/05/2023	28/05/2023	Négatifs
4	7	24/05/2023	28/05/2023	04/06/2023	13/06/2023	Négatifs
5	24	28/05/2023	04/06/2023	13/06/2023	19/06/2023	Négatifs
6	6	28/05/2023	06/06/2023	13/06/2023	19/06/2023	Négatifs

Sur 51 chiens prélevés aucune culture n'a montré la présence de la forme promastigote

-Les prélèvements 1 et 2 ont été contaminés à 100%.

-Les prélèvements, 3, 4, 5 et 6 ont également donné des résultats négatifs pour tous les contrôles correspondants, donc toutes les milieux NNN et SLC étaient négatives.

III.2.3. - Résultats de ponction ganglionnaire

Le résultat de la ponction ganglionnaire est résumé dans le tableau 4.

Tableau 4 - Résultats de ponction ganglionnaire sur milieu NNN et SLC

Prélèvement	Milieu	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Résultats
1	NNN	11 /06/2023	14/06/2023	18/06/2023	Contaminés
	SLC	11/06/2023	14/06/2023	18/06/2023	Négatifs

Le tableau 4 montre qu'après 3 semaines de contrôle le résultat de la ponction ganglionnaire ensemencé sur le milieu NNN, était contaminé tandis que celui effectué sur le milieu SLC était négatif.

III.2.4. - Résultats d'immunofluorescence indirect (IFI)

Résultats d'immunofluorescence indirect (IFI) sont regroupés dans le tableau 5.

Tableau 5 – Résultats d'immunofluorescence indirecte

Nbr. de sérums	+	Seuil de positivité	Pourcentage	-	Douteux	Seuil d'anticorps		Pourcentage
						1/20	1/40	
50	5	1/80	10%	45	28	19	9	56%

+ (sérums positifs), - (sérums négatifs).

Sur les 50 sérums des chiens prélevés, Nous avons identifié 5 chiens présentant un taux d'anticorps égal au seuil de 1/80 (Seuil de positivité établie par l'institut pasteur d'Algérie pour la technique d'immunofluorescence indirect IFI), soit un pourcentage de 10% (Figure 33A) et 45 chien négatifs (Figure 33B), dont 19 sérum douteux avec un seuil de 1/20, et 9 avec un seuil de 1/40 soit un pourcentage de 56% (Figure 34).

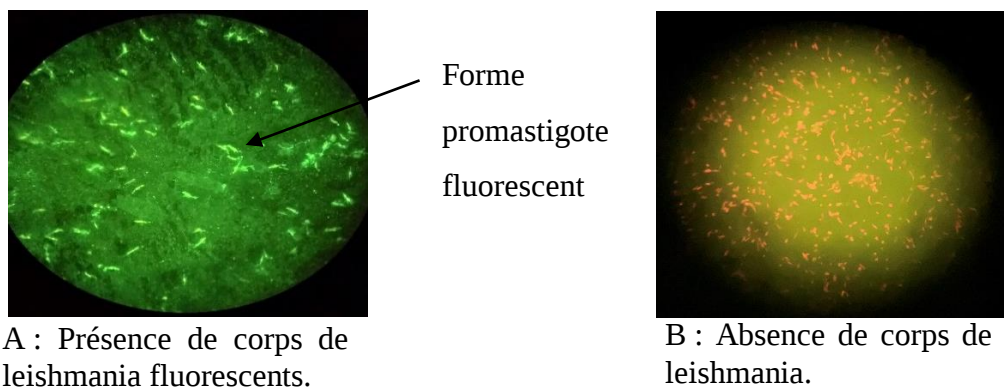


Figure 33- Représentent le résultat de la sérologie, les images (A et B) sont obtenues après Observation au microscope à fluorescence.

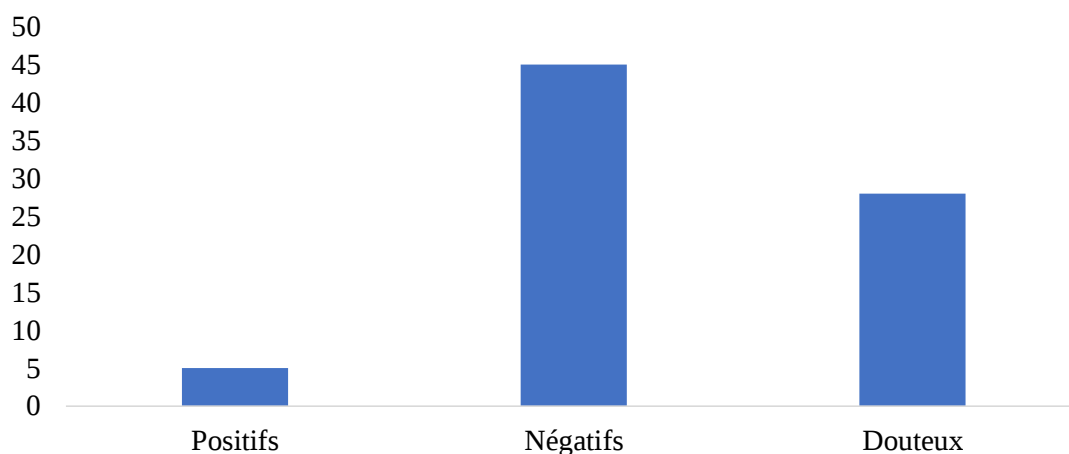


Figure 34- Nombre des chiens positifs négatifs et douteux trouve par IFI

III.2.5. - Résultats de la PCR standard

Les résultats obtenus par PCR standard, réalisée sur 44 ADN de chiens (Figure 35) sont présentés dans le Tableau 6.

Tableau6 - Résultats de la PCR en fonction d'âge, sexe (♀ et ♂), race et communes.

Nombre d'ADN des chiens	Code	Age	Sexe	Race	Origine	Résultats
1	C1	6ans	♀	Chien paria	Taboukert	Négatifs
2	C2	5ans	♀	Berger allemand		Positifs
3	C3	6ans	♀	Chien paria		Négatifs
4	C4	2ans	♂	Chien paria		Négatifs
5	C5	5ans	♀	Askal		Négatifs
6	C10	4ans	♀	Chien de chasse		Négatifs
7	C14	2ans	♀	Askal		Positifs
8	C6	7ans	♂	Chien paria	Tala N'Zaouche	Positifs
9	C7	1ans	♀	Askal		Positifs
10	C8	2ans	♀	Carealeonés		Négatifs
11	C9	2ans	♀	Askal		Négatifs
12	C11	3ans	♂	Berger allemand		Négatifs
13	C12	10ans	♂	Berger allemand		Positifs
14	C13	2ans	♂	Chien de chasse		Positifs
15	C15	2ans	♂	Catalburun	Boghni	Positifs
16	C18	5ans	♂	Berger allemand		Positifs
17	C19	1ans	♂	Catalburun		Négatifs
18	C20	2ans	♀	Berger allemand		Négatifs
19	C32	2ans	♂	Chien paria		Positifs
20	C33	3ans	♂	Braque allemand		Positifs
21	C34	3ans	♀	Pointer anglais		Positifs
22	C35	1ans	♀	Pointer anglais		Positifs
23	C36	4ans	♂	Pointer anglais		Négatifs
24	C46	2ans	♂	Braque allemand		Négatifs
25	C47	1ans	♂	Berger allemand		Positifs
26	C48	3ans	♂	Berger allemand		Positifs
27	C49	4ans	♂	Berger allemand		Positifs
28	C50	3ans	♂	Chien paria		Négatifs
29	C51	3ans	♂	Chien paria		Négatifs
30	C38	3ans	♀	Catalburun		Négatifs
31	C25	2ans	♂	Berger allemand	Ouadhias	Positifs
32	C26	10ans	♂	Askal		Positifs
33	C27	4ans	♂	Malinois		Positifs
34	C28	2ans	♂	Chien paria		Positifs
35	C29	3ans	♂	Berger allemand		Positifs
36	C30	5ans	♂	Ratier de majorque		Négatifs
37	C31	1ans	♂	Courant de transylva		Négatifs
38	C39	2ans	♂	Terrier de chasse	Mechtras	Négatifs
39	C40	1ans	♂	Berger allemand		Négatifs
40	C41	2ans	♂	Malinois		Négatifs
41	C42	3ans	♀	Berger allemand		Positifs
42	C43	15ans	♀	Berger allemand		Négatifs
43	C44	7mois	♀	Chien de chasse		Négatifs
44	C45	1ans	♀	Malinois		Positifs

Parmi les 44 échantillons traités par la PCR standard, 22/44 se sont révélés positifs, Soient 50%.

D'après le tableau 6 nous remarquons la prédominance de sexe mâle avec 15 cas positif contre 7 cas pour femelle et l'âge des chiens positifs varié entre moins de 2ans et plus de 12ans et on remarque que la race berger allemand est la plus dominante. Et parmi les chiens symptomatiques on a :

Chien C6 : Elle s'agit de chien paria, âgé de 7ans, qui possède les signes cliniques suivants (lésions cutanées (Figure 36B), allongement des griffes (Figure 36C)), d'origine de Tala N'Zaouche de Tizi-Ouzou (Figure 36).

Chien C27 : Elle s'agit d'un Malinois, âge de 5ans et qui possède les signes cliniques (lésion cutanées), d'origine de Ouadhia (Figure 37).

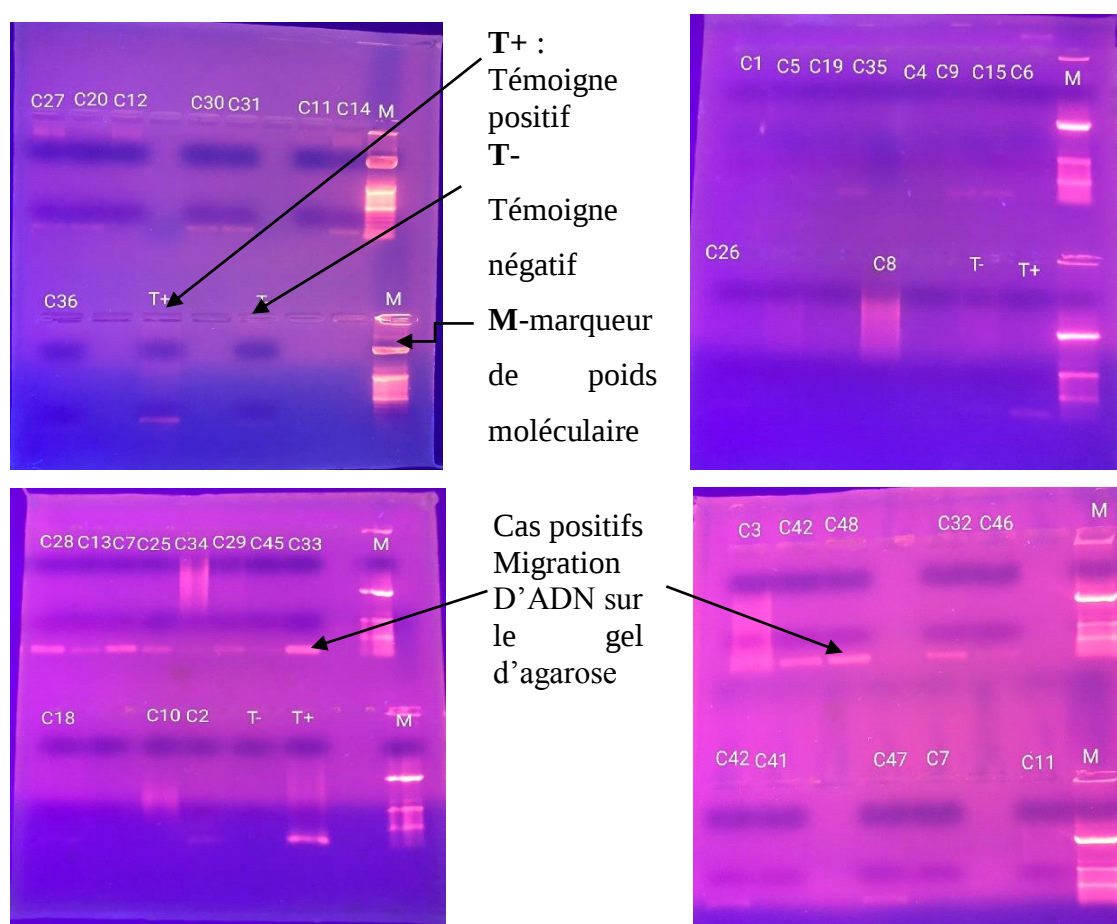


Figure35 - Résultats de la PCR sur le gel d'agarose de 22 cas positifs (Original, 2023).



A : Chien paria, 7ans



B : Lésions cutanées



C : Allongement des greffes

Figure 36 – Signes cliniques d'un chien positif d'origine de Tala N'Zaouche (Original, 2023)

A : Chiens Malinois, 5ans



A : Lésions cutanées

Figure 37 -Signes cliniques d'un cas positif d'origine de Ouadhia (Original, 2023).**III.2.5.1. –Répartition des chiens selon les tranches l'âge**

Les chiens prélevés au niveau de la Wilaya de Tizi-Ouzou étaient dans la majorité des cas des adultes répartis en 6 tranches d'âge (Tableau 7).

Tableau 7 : Répartition des chiens en fonction des tranches d'âge

Tranches d'âges	Positifs	Négatifs	Total	Pourcentage des positifs
Moins de 2 ans	4	4	8	9,09%
De 2 ans a 4 ans	11	11	22	25%
De 4 ans a 6 ans	4	4	8	9,09%
De 6 ans a 8 ans	1	2	3	2,27%
De 10 ans a 12 ans	2	0	2	4,54%
De 14 ans a 16 ans	0	1	1	0.00%
Total	22	22	44	50%

D'après le tableau 7 toutes les tranches d'âge sont frappées par la leishmaniose canine, mais avec des proportions inégales. On remarque que la tranche d'âge 2ans à 4ans est la plus touchés avec 25%, puis la tranche de moins de 2 ans à 6ans avec 9,09%. Ensuit la tranche d'âge de 10 ans à 12ans avec 4,54%. En fin la tranche d'âge le moine touchée est de 6 ans à 8ans avec 2,27% (Figure38).

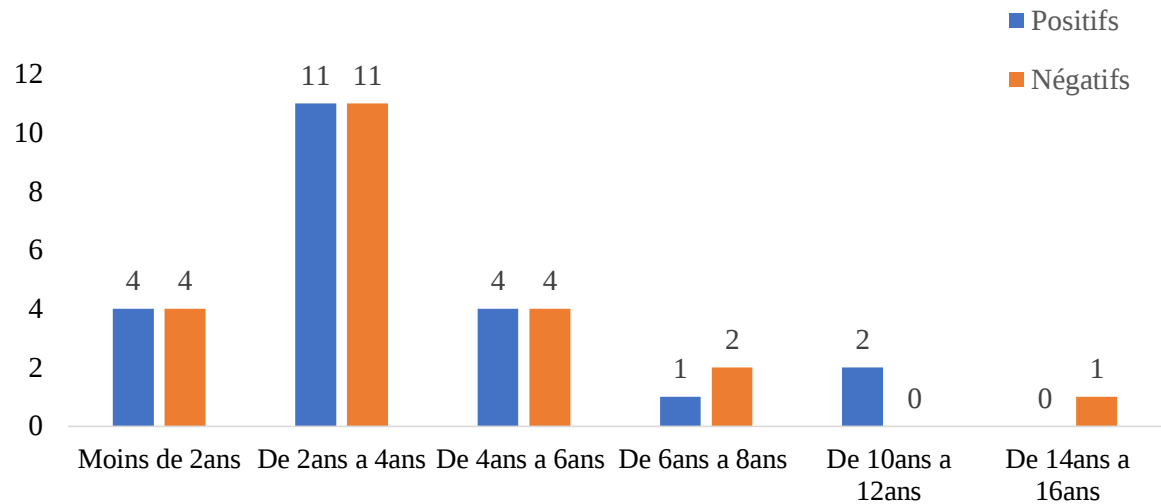


Figure 38- Répartition des chiens selon la tranche d'âge

III.2.5.2. - Répartition des chiens en fonction du sexe

La répartition de la leishmaniose canine en suivant le sexe est consigné dans le tableau 8.

Tableau8– Pourcentage des chiens positifs et négatifs selon le sexe.

Sexe	Positifs	Négatifs	Total	Taux de positifs
Mâle	15	12	27	34,09%
Femelle	7	10	17	15,91%

La répartition des chiens selon le sexe montre que la maladie touche sans distinction entre les deux sexes (Figure39). Cependant la prédominance est pour le sexe masculin avec 34,09%, contre 15,91% pour le sexe féminin.

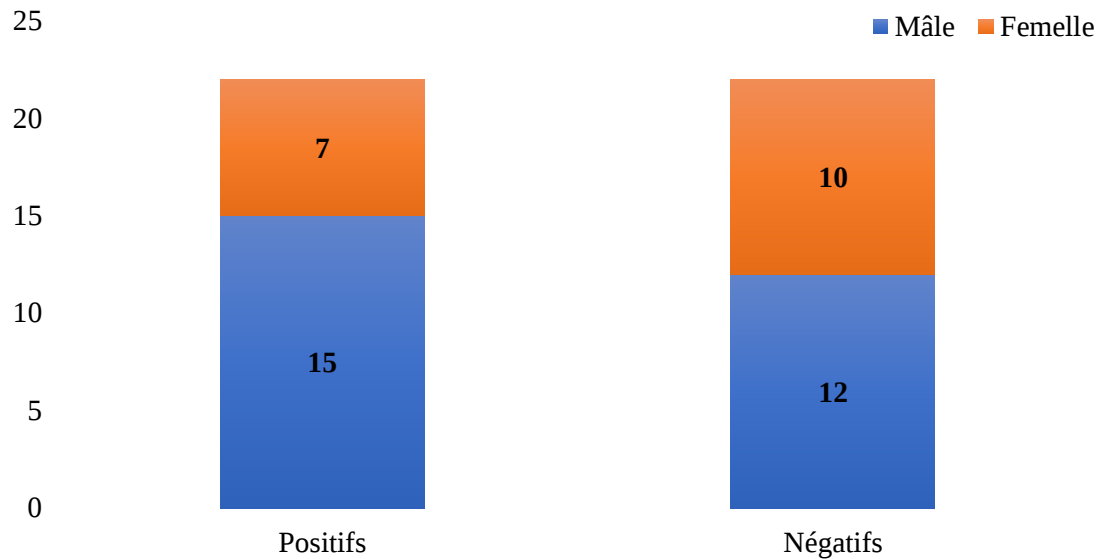


Figure 39 – Répartition des chiens selon le sexe

III.2.5.3. - Répartition des chiens selon la race

La répartition des chiens en fonction de la race est répertoriée dans le tableau 9.

Tableau 9 - Répartition de la leishmaniose en fonction de la race.

Race	Positifs	Négatifs	Total	Taux de positifs
Berger allemand	7	4	11	15,91%
Chien paria	3	5	8	6,82%
Askal	5	2	7	11,36%
Malinois	2	1	3	4,55%
Chien de chasse	0	2	2	0%
Catalburun	0	2	2	0%
Pointer anglais	2	0	2	4,55%
Braque allemand	1	1	2	2,27%
Golden retriever	1	0	1	2,27%
Carea leonés	0	1	1	0%
Chien courant grec	1	0	1	2,27%
Ratier majorque	0	1	1	0%
Courant de transylva	0	1	1	0%
Mountain Cur	0	1	1	0%
Terrier de chasse allemand	0	1	1	0%
Total	22	22	44	50%

Sur la population étudiée qui est composée de 15 races (Figure 40) on observe que les Bergers allemands sont les plus touchés avec une proportion de 15,9%, en deuxième place Askal avec un taux de 11,36%, puis Chien paria avec 6,8%, suivant par les Malinois, et Pointer anglais avec 4,55%, et en terminant par les Braques allemands, Golden retriever et Chien courant grec avec 2,27%.

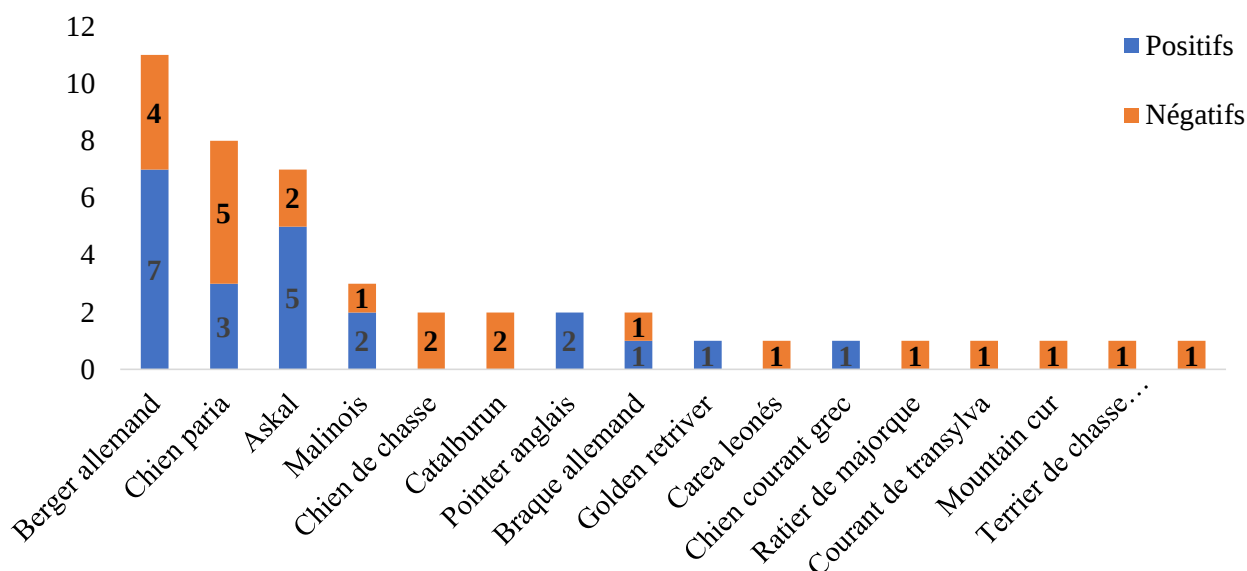


Figure 40 – Répartition des chiens selon la race

III.2.5.4.-Répartition des chiens selon les stations d'études

La Répartition de la leishmaniose selon les stations d'études est consignée ci-dessus dans le tableau 10.

Tableau 10 – Répartition des chiens selon les régions

Région	Positif	Négatif	Totale	Taux de positifs
Boghni	9	7	16	20,45%
Mechtras	2	5	7	4,55%
Ouadhia	5	2	7	11,36%
Taboukirt	2	5	7	4,55%
Tala n zaouche	4	3	7	9,09%
Totale	22	22	44	50%

On note que le taux d'infestation enregistré à Boghni est très important par rapport aux autres régions avec une proportion de 20,45%, en deuxième classe on a Ouadhia qui a

enregistré une proportion de 11,36% et Tala N'Zaouche avec 9,09% enfin Mechtrass et Taboukirt on a eu peu desujets positifs avec une proportion de 4,55% (Figure41).

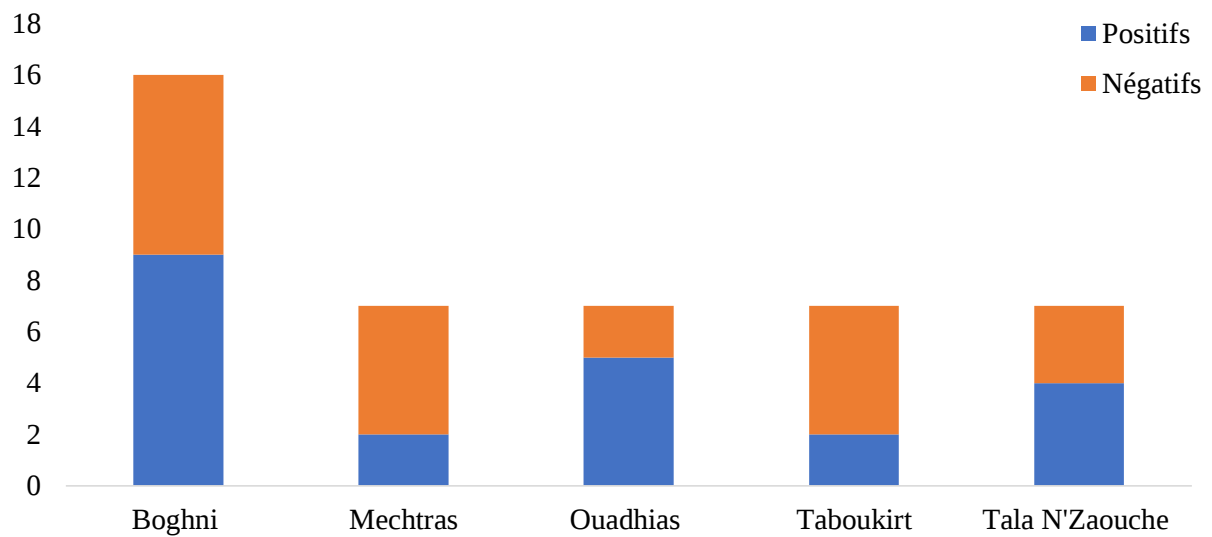


Figure 41 – Répartition des chiens selon les régions

Chapitre IV

Dans ce chapitre nous allons discuter les résultats de capture des phlébotomes et les résultats des prélèvements sanguins des chiens.

IV.1. - Discussion des résultats de capture de phlébotomes

Dans notre étude, nous avons capturé un total de 390 phlébotomes. Parmi eux 312 étaient des femelles, ce qui représente 80% de la population capturée, les 78 individus restants sont des mâles, soit 20% de la population. Ces résultats diffèrent des études précédentes menées par **Mouloua, (2014)**, qui a rapporté un taux de 72,7% de mâles et 27,3% de femelles. De même, les études de **Maouadj et al., (2021)** ont déterminé que le nombre de mâle est quasiment le double de celui des femelles avec 206 individus mâles soit 69,12% contre 88 femelles soit 29,53%. Et aussi les études de **Chemoune et Ailem, (2022)** qui constatant que les espèces mâles sont plus nombreux que les femelles, 81 mâles soit 90% et 9 femelles avec 10%.

IV.2 – Discussion des résultats des prélèvements sanguins chez les chiens

IV.2.1 – Discussion des résultats d'examen direct

La coloration MGG nous a permis de mettre en évidence le parasite au niveau du frottis sous sa forme amastigote, qui est un petit organisme intracellulaire de corps arrondi, trouvé dans les vacuoles du cytoplasme des macrophages et qui n'a pas de flagelle libre. L'organisme a un noyau relativement grand et un kinétoplaste. D'autres auteurs ont trouvé plus de résultats, par exemple **Bouratbine et al., (2005)**, sur 42 frottis canins, 27 ont été révélés positifs avec un taux de 64%.

Ainsi le frottis réalisé à partir de la ponction ganglionnaire a été révélé négatif car le frottis est condensé et on n'a pas pu visualiser la forme amastigote du parasite. Ces résultats sont en désaccord avec les études réalisées par **Taha et al., (2022)**, sur 47 frottis des chiens, 26 ont présenté des formes d'amastigotes dans leurs frottis après examen microscopique, confirmant l'utilité de cette approche pour le diagnostic de la leishmaniose canine, et aussi les études réalisées par **Saridomichelakis et al., (2005)**, qui ont signalé que la spécificité de la ponction ganglionnaire était très élevée et pouvait atteindre 100%, alors que sa sensibilité pouvait varier de 7,8% à 92,6% au nombre de 79 chiens testés.

IV.2.2. - Discussion des résultats d'ensemencement sur milieu NNN et SLC

L'utilisation des cultures est utile non seulement pour confirmer le diagnostic mais aussi pour identifier l'agent causal, la croissance de ces agents est très difficile dans les milieux de cultures et nécessite des repiquages successifs sur d'autres milieux. Dans notre étude aucune culture n'a montré la présence de *Leishmania* sur 50 prélèvements (Prélèvement sanguins et prélèvement ganglionnaire) après un contrôle de 4 semaines. Ces résultats rassemblent avec les résultats trouvés par **Tchoketch, (2020)** aucune culture n'a montré la présence de *leishmania* sur 72 prélèvement. Et on désaccord avec les résultats trouvés par **Mouloua, (2014)** sur 30 prélèvements ensemencés sur milieu NNN et SLC, une seule souche a pu évoluer normalement et a pu être identifiée comme appartenant au zymodème MON-1, et en désaccord avec les résultats trouvés par **Aoun et al., (2003)** 19 ponctions ganglionnaires ensemencent sur milieu NNN et SLC ont été révélés positif et correspondre au zymodème *leishmania infantum* MON-1 et aussi **Bouratbine et al., (2005)** sur 49 couche leucocytaire ensemence sur milieu NNN, 29 positifs avec un taux de 59%.

Les cultures négatives peuvent être expliquées de deux façons principales, Tout d'abord, la contamination qui est un problème majeur, car l'environnement NNN est très riche en nutriments, ce qui favorise la croissance des bactéries et des moisissures; De plus, la croissance du complexe *L. infantum* avec ses différents zymodèmes (MON1, MON-24, MON-34, MON-77, MON-80, MON-269) dans des milieux de culture est difficile, nécessitant des transferts répétés vers d'autres milieux (**Benikhlef et al., 2004**).

IV.2.3. - Discussion des Résultats d'IFI (immunofluorescence indirecte)

Dans notre étude, nous avons testé un ensemble de 50 sérums et nous avons constaté que 5 sérums étaient diagnostiqués comme porteurs d'anticorps anti-*leishmaniens* à une dilution de 1/80, ce qui représente 10% des chiens séropositifs. Ce résultat est similaire à celui trouvé par **Mouloua, (2014)** sur 603 sérums de chiens, 60 ont été positifs avec un taux de 9,95%, de même **Galvez et al., (2020)** des anticorps anti-*leishmania* IgG ont été détectés chez 176 des 1739 chiens soit une séoprévalence de 10,12%, et **Abranche et al., (1983)** sur les 572 sérums de chiens examinés par immunofluorescence indirect, 55 se sont révélés positifs soit 9,6%. De plus, il est proche du résultat de **Deddet, (1977)** un taux de 11,4% des animaux étaient séropositifs, et aussi **Silva et al., (2007)** sur un total de 503 sérums collectés, 62 cas positifs par la technique de l'IFI soit 12,3% et même **Morosetti et al., (2020)** sur un total de 457 chiens examinés pour des anticorps contre *L.infantum*, 63(13,8%) ont été testés positifs,

et **Rami et al., (2003)** qui ont trouvés une séroprévalence de 18,7% sur un total de 257 chiens. Cependant. Nos résultats diffèrent de ceux de **Ait Oudhia et al., (2011)** dans une étude épidémiologique sur la leishmaniose canine dans l'Algérois, trouve une séroprévalence de 25,1% sur un total de 1810 sérums de chiens prélevés et **Belazzoug, et al., (1985)** qui a rapporté un taux de 37,5% des chiens positifs. Mais demeure assez loin de ceux de **Harrat, (2006)** avec un taux de 42,8% de chiens séropositifs, de même **Bouratbine et al., (2005)** sur 40 sérum des chiens testé, 37 sont positifs avec un taux de 93%.et aussi les études réalisent par **Fellah et al., (2014)** sur 61 sérums de chiens contrôlés, 15 ont été positifs soit 24,59%.

IV.2.4. - Discussion des Résultats de la PCR Standard.

Dans notre étude, en plus du diagnostic par immunofluorescence indirecte, considérée comme une méthode très efficace dans le diagnostic de la leishmaniose canine, nous avons utilisé la PCR pour rechercher l'ADN *leishmanien*. Sur les 44 échantillons d'ADN extraits de la couche leucocytaire, nous avons obtenu un résultat positif chez 22 chiens, correspondant à un taux de 50% d'animaux positifs, ce qui est supérieur au taux de 10% obtenu par le test sérologique IFI sur le même échantillon.

Malgré la taille réduite de notre échantillon, ce pourcentage semble cohérent et proche des résultats trouvés par plusieurs auteurs. Par exemple, **Mouloua, (2014)** a constaté que sur 106 chiens, 67 présentaient une PCR positive, soit un taux de 64,2%. Cependant, il est loin des résultats trouvés par **Mary, (1994)**, qui a observé à Marseille, une zone d'endémie de la leishmaniose canine, un taux de 80% de chiens porteurs de l'ADN parasite. De même, **Lachaud et al., (2002)** ont observé une prévalence de 79% lors d'un dépistage de la leishmaniose canine par PCR et aussi **Taha et al., (2022)** ont trouvé que sur 137 chiens testés par PCR, 68% se sont révélés positifs.

Nos résultats sont également supérieurs à ceux trouvés par **Arleana et al., (2013)**. Sur les 430 chiens évalués, l'ADN *leishmania* a été détecté chez 63 chiens, soit un taux de 14,6%, et **Mohand Kaci, (2015)** a dépisté 90 chiens, parmi lesquels 17 sont positifs à la PCR, soit 18,89%, de même **Medkour et al., (2018)** ont testé 214 chiens par la PCR, et seuls 10 chiens sont positifs, soit 4,7%, et **Tchoketch, (2020)**, sur un total de 72 chiens recrutés au niveau de deux wilayas, Alger au Nord et M'sila au Sud-Est, a révélé un diagnostic positif chez 2 chiens canins, soit une fréquence de 2,78%. **Cazan et al., (2020)** dans la même année ont trouvé que 20,1% (30/149) des chiens étaient positifs pour l'ADN *L.infantum*. Selon l'étude de **Bouattour et al., (2021)**, la PCR a révélé une prévalence de 21,2% (64/302) chez les chiens.

IV.2.4.1. - Selon la race

Dans notre étude, nous avons observé que la prévalence de la leishmaniose était plus élevée chez les chiens de race Berger allemand, avec un pourcentage de 15,91%. Cette constatation est cohérente avec les résultats rapportés dans d'autres études antérieures, par exemple, Des chercheurs tels que **Hartrat et al., (1995)** ont signalé une présence significative de cette race parmi les chiens atteints de leishmaniose dans leur échantillon avec un taux de 34%, sur un total de 1223 chiens prélevés, 338 ont été des Berger Allemand, et **Djerbouh, (2006)** a également constaté que la race berger allemand était prédominante parmi les chiens prélevés, avec un taux de 54% sur un total de 305 chiens prélevés et **Miranda et al., (2008)** observé que les races surreprésentées maladie étaient les Berger Allemands avec 13,6%, de même **Ammam, (2009)** a observé que parmi la totalité 59, 17 % des chiens les bergers allemands se sont révélés malades, et **Tchoketch, (2020)** sur 72 prélèvements des chiens deux cas ont été des Berger Allemands.

IV.2.4.2. - Selon le sexe

La population étudiée des chiens dans notre étude comprenait une proportion plus élevée de mâles avec 34,09% que de femelles avec 15,91%. Ces résultats obtenus sont proche de celui rapporté par **Zaffaronni et al., (1999)** qui ont conclu que les chiens mâles sont plus sensibles à la leishmaniose que les femelles, et **Djerbouh, (2006)** avec 65% mâles et 35% femelles. Et aussi **Miranda et al., (2008)** sur un effectif de 390 d'animaux malades 238 ont été des mâles soit 61% et 152 femelles soit 39%, et **Ammam, (2009)** a trouvé une prédominance des mâles avec 56,21% par rapport aux femelles soit 43,78%.

Ces résultats sont aussi cohérents avec les conclusions de **Mohand Kaci, (2015)** son résultat montre que les deux sexes sont touchés d'une façon très inégale avec une prédominance des mâles 74% sur 90 prélèvement, et **Tchoketch, (2020)** a conclu que les mâles auraient un risque plus élevé que les femelles de développer la leishmaniose, sur les 72 prélèvements les deux sexes ont été infectés 1 mâle soit 50% et 1 femelle soit 50%. Nos résultats supérieurs à ceux trouvés par **Rombola et al., (2021)**, ont également observés que les chiens mâles présentaient un risque plus élevé de contracter la leishmaniose, Sur 218 chiens testés, les taux de positivité étaient plus élevés chez les chiens mâles avec 4,90%, cela peut s'expliquer par le fait que les chiens mâles sont souvent utilisés comme chiens de garde et passent plus de temps à l'extérieur que les femelles. Cependant, certains auteurs ne sont pas unanimes quant à l'influence du sexe sur la prédisposition à la leishmaniose. Par exemple, **Cortes et al., (2012)**

n'y a pas trouvé une différence significative entre les mâles et les femelles. Et aussi **Puozzo en (2012)**, le sexe ne semble pas être un facteur prédisposant dans le développement de la maladie.

En revanche dans notre étude, nous pensons que c'est l'importance de l'effectif sexe masculin (27 chiens) qui est largement plus important que l'effectif femelle (17 chiennes) et non pas à la réceptivité de la maladie.

IV.2.4.3. - Selon l'âge

Dans notre étude la prévalence de l'infection est observée chez les jeunes adultes, généralement âgés de 2 à 4 ans avec 25%. Cette observation est soutenue par les résultats de **Djerbouh, (2006)** qui a constaté une prévalence élevée chez les chiens âgés entre 2 et 4 ans, suivis des chiens âgés de 4 à 6 ans, et les résultats de **Miranda et al., (2008)** dont la prévalence la plus élevée de la maladie survenant à l'âge de 2 à 4 ans, et un pic secondaire survenant à sept ans ou plus. De plus l'étude menée par **Ammam, (2009)** a révélé une atteinte des jeunes chiens dont 54,54% étaient dans la tranche d'âge entre 2-3 ans, et les résultats de **Tchoketch, (2020)** sur 72 prélèvements a trouvée 2cas de Lcan dont l'un des deux chiens positifs était de 2ans, et l'autre était âgé de 6ans, de même **Mohand Kaci, (2015)** a remarqué que les chiens jeunes et les adultes sont plus touchés avec 12%, et **Mouloua et al., (2017)**, ont signalé que les chiens âgés de 5 ans et plus sont les plus affectés et présentent une séroprévalence plus élevée que les chiens plus jeunes car les chiens plus âgés ont connu plusieurs périodes d'activité des phlébotomes que les chiens plus jeunes.

Cependant, selon les étude d'**Alvar et al., (2004)** la leishmaniose canine peut affecter des chiens de tout âge, mais la prévalence de l'infection dans certaines tranches d'âge a une distribution bimodale, avec un premier pic chez les chiens < 3ans et un second chez les chiens de 8 à 10ans, et **Ziviènjak et al., (2005)** sur un totale de 233 chiens, dont l'âge était de 13 mois à 5ans et qui représente la catégorie des chiens adultes, 83 chiens se sont avérés positifs, ce nombre important des chiens infectés peut être lié à leur longue période d'exposition aux phlébotomes.

IV.2.4.4. – Selon les régions

La fréquence des chiens PCR positifs varie d'une station à l'autre dans la région de Tizi-Ouzou, et elle ne présente pas de similarités à travers les cinq stations d'étude. À Boghni, le taux le plus élevé de cas de leishmaniose canine a été observé, où 9 chiens sur 16 étaient

PCR positifs, soit 20,45%. D'autres auteurs, comme **Mouloua, (2014)**, ont constaté une prévalence au niveau de la dépression de Dra El Mizan, avec un taux de 16,32%, et un taux maximal de 22,1% relevé à Tizi Gheniff. De même, **Mouloua et al., (2020)** dans le cadre d'une étude portant sur 559 chiens sélectionnés au hasard parmi les différentes strates écologiques de la région de Tizi-Ouzou, ont constaté que la dépression de Dra El Mizan était la plus touchée, avec un taux de 17,12%

Conclusion générale

La leishmaniose est une infection parasitaire extrêmement répandue dans le monde, notamment le pourtour méditerranéen. En Algérie, elle représente un problème majeur de santé humaine et animale et la surveillance de cette maladie à transmission vectorielle demeure primordiale notamment dans la grande Kabylie qui constitue la région la plus touchées par cette maladie. Notre travail a permis d'évaluer la situation épidémiologique de la leishmaniose canine dans la région de Tizi –Ouzou

La première étude portait sur un inventaire de la faune des phlébotomes qui nous a permis d'identifié un total de 390 individus, répartis entre 78 mâles et 312 femelles.

Tandis que la seconde étude, menée sur une analyse de la situation épidémiologique de la leishmaniose canine. Parmi les 50 chiens étudiés, 5 ont été testés positifs par Immunofluorescence indirecte IFI, indiquant une circulation active du parasite dans la population canine ; De plus, 22 chiens ont été testés positifs par PCR standard, confirmant la présence de l'agent pathogène, grâce à cette méthode de détection moléculaire.

Cependant, aucune culture NNN n'a révélé la présence du parasite. Par contre, l'examen direct des échantillons par coloration au MGG a permis d'observer la présence de formes amastigotes, qui sont la forme intracellulaire du parasite dans l'organisme hôte. Ces résultats combinés indiquent clairement la présence active de la leishmaniose canine chez les chiens étudiés. Bien qu'aucune culture NNN n'ait révélé la présence du parasite, cela ne signifie pas nécessairement que les chiens étudiés sont exempts de la maladie, de plus la culture des parasites peut être difficile et dépend de divers facteurs, tels que la qualité de l'échantillon et les conditions de culture. Les résultats positifs obtenus par d'autres méthodes de diagnostic suggèrent que la maladie est présente malgré l'absence de culture NNN positive.

D'après notre étude, la race Berger Allemand était prédominante parmi les chiens atteints de leishmaniose canine dans la région de Tizi-Ouzou en Kabylie. De plus, nous avons observé que la tranche d'âge la plus touchée était de 2 à 4 ans, et que le sexe prédominant parmi les chiens atteints était les mâles, le taux d'infestation enregistré dans la station de Boghni est très important par rapport aux autres stations. Ces informations supplémentaires soulignent certains facteurs de risque potentiels associés à la prévalence de la maladie dans cette population spécifique.

Les résultats de cette étude indiquent la présence active de la leishmaniose canine dans la région de Tizi-Ouzou. La combinaison de chiens séropositifs, de résultats positifs par PCR, d'observation de formes amastigotes et de l'évolution mortelle de la maladie souligne l'importance de prendre des mesures préventives et de mettre en place des stratégies de

contrôle pour protéger la population canine contre cette maladie grave et à prévenir la transmission de la maladie aux êtres humains, renforçant ainsi la santé publique dans la région.

Perspectives :

L'Algérie ainsi que la Kabylie sont connues depuis longtemps comme étant le foyer le plus actif de la leishmaniose canine, Et il est important de maintenir une surveillance épidémiologique régulière de la maladie dans la région de Tizi-Ouzou et dans d'autres régions, cela permettrait de suivre l'évolution de la maladie.

Le contrôle des vecteurs (phlébotomes) qui est essentiel pour prévenir la transmission de la maladie, des études peuvent être menées pour évaluer l'efficacité de différentes méthodes de lutte contre les phlébotomes, telles que l'utilisation de moustiquaires, répulsives ou d'insecticides.

Une approche interdisciplinaire impliquant des vétérinaires, des épidémiologistes, des entomologistes et d'autres experts est essentielle pour une gestion efficace de la leishmaniose canine. Et la collaboration entre les différentes parties prenantes permettra d'échanger des connaissances, de partager des bonnes pratiques et de mettre en œuvre des stratégies intégrées de prévention et de contrôle.

Référence

Bibliographique

1. **Agathe C., (2019)** - Influence de l'environnement sur le cycle de transmission de la leishmaniose cutanée en Guyane, à multi-échelle spatiale. Thèse de Doctorat, Université de Guyane, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, France, 285p.
2. **Allali C. et Djeddar L. (2022)** - Aspects biologiques et diagnostic de la leishmaniose étude comparative : région du Sud (Ouargla) vs région du Nord (Alger). Master académique, Université Kasdi Merbah, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Ouargla, 104p.
3. **Ammam A., (2009)** - Etude de leishmaniose canine dans la wilaya de Tiaret. Magister en Sciences Vétérinaires, Université Ibn Khaldoun de Tiaret, Faculté des Sciences Agronomiques et Vétérinaires, Algérie, 109p.
4. **Ait Oudhia K., Harrat Z., Benikhlef R., Dedet JP., Pratlong F., (2011)** - Canine leishmania infantum enzymatic polymorphism : A review including 1023 strains of the Mediterranean area, with special reference to Algeria. *Acta Tropica* 118(2) 80-86.
5. **Alvar J., Canavate C., Molina R., Moreno J., Nieto J., (2004)** - leishmaniose canine. *Annales de Parasitologie*, 57 1-88.
6. **Abranche P., Lopes F., Silva F M C., Ribeir O M S., Pires C A., (1983)** - Le Kala-Azar au Portugal III Résultats d'une enquête sur la leishmaniose canine réalisée dans les environs de Lisbonne. Comparaison des zones urbaines et rurales. *Annales de Parasitologie*, 58(4), 307-315.
7. **Arleana B P F., Almeida Valéria R F., Sousa Naiani D., Gasparetto Givago F R., Silva Fabiano B., Figueiredo Valéria Dutra Luciano Nakazato Maria F., Madère F., (2013)** - Leishmaniose viscérale canine : approches diagnostique basées sur la réaction en chaîne de la polymérase utilisant différents échantillons biologiques. *Annales Parasitologie*, 76(3) 321-324.
8. **Aoun K et Bouratbine A., (2014)** - Cutaneous Leishmaniasis in North Africa : A review. *Parasite*, 10 14-21.
9. **Aoun K., Diouani M F., Benikhlef R., Bouratbine A., Ben Haj S., Harrat Z., Bel Kaid M., Kilani M., Ben Ismail R., (2003)** – Leishmaniose infantum MON-1 : seul zymodème isolé chez les chiens leishmanies en Tunisie. *Bulletin de la Société Pathologie Exotique*, 96(2) 77-79.
10. **Boudjella H., Benyekhlef L., Ahmed N., Hisham A., Sherif S M G., Saad A., Mohamed A., (2022)** – Etude de nouveaux algorithmes métaheuristiques pour

résoudre des problèmes de répartition de l'environnement économique combinés dynamiques. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 14(9), 5554-81.

11. **Boussaa S., (2008)** - Epidémiologie des leishmanioses dans la région de Marrakech Maroc : effet de l'urbanisation sur la répartition spatio-temporelle des Phlébotomes et caractérisation moléculaire de leurs populations. Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg I, Faculté des Sciences, France, 181p.
12. **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(4), 381-383.
13. **Belazzoug S., (1984)** - Epidémiologie des leishmanioses en Algérie Etude des réservoirs Analyse chimiotaxonomique des parasites. Thèse de Doctorat en Sciences Médicale, Université d'Alger, Faculté des Sciences, 163p.
14. **Belazzoug S Addadi K., Mokrani T., Hafirassou N., Hamrioui B., Belkaid M. (1985)** - La leishmaniose viscérale en Algérie: Etude des cas hospitalisés entre 1975 et 1984. Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale, 65, 329-335.
15. **Bounamous A., (2010)** - Biosystématique et caractérisation par la biologie moléculaire des phlébotomes de l'Est Algérien. Thèse de Doctorat en Biologie Animale, Université Mentouri de Constantine 1, Faculté des Science de la Nature et de la Vie, 302p.
16. **Bachi F., (2006)** - Aspects épidémiologiques et cliniques des leishmanioses en Algérie. La Lettre de l'Infectiologue-Tome XXI. (N° 1), 9-15p.
17. **Bouratbine A., Aoun K., Gharbi M., Haouas N., Zaroui J., Harrat Z., Baba H., Darghouth MA., (2005)** - Données épidémiologiques, cliniques et parasitologiques sur la leishmaniose générale canine en Tunisie. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 98(5) 359-362.
18. **Boulkenafet F., (2006)** - Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Mémoire de Magister, Université de Constantine, Algérie. 191p.
19. **Boudrissa A., Cherif K., Kherrachi I., Benbetka S., Bouiba L., Boubidi S C., Benikhlef R., Arrar L., Hamrioui B., Harrat Z., (2011)** – Extension de leishmania major au Nord de l'Algérie. Bulletin de la Société Pathologie Exotique, 105 30-35.

20. **Boudrissa A., (2014)** - Etude éco-épidémiologique de la leishmaniose cutanée du sud de l'Algérie. Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas-Sétif 1, Faculté des Sciences de la Nature et de Vie, 159p.
21. **Bourdoiseau, G., (2015)** - Le vétérinaire acteur de santé publique : exemple de la leishmaniose canine, zoonose vectorielle. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine, 199, 909-920p.
22. **Belkhelfa R., et Bahia D., (2017)** - Caffeic acid and quercetin exert caspases – independent apoptic effectes on leishmania major promastigotes and reactivate the death of infected phagocytes derived from BALB/c mice. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 7(4), 321, 331.
23. **Benbaara S., et Rezoug G., (2016)** – Etude des lésions dermiques des cas de leishmaniose canine. Thèse de Docteur Vétérinaire, Université Ibn Khaldoun de Tiaret, Institut des Sciences Vétérinaires, 45p.
24. **Bouattour A., Amri A., Belkhiria J A., Rhim A., Fezaa O., Gantier J., M'ghirbi Y., (2021)** – leishmaniose canine en Tunisie prévalence croissante, zones d'infection plus grandes. Revue Scientifique des Maladie Tropicales Négligées, 15(12) 10-1371.
25. **Chemoune S., et Ailem M., (2022)** – L'inventaire des phlébotomes dans la région de Mekla et l'étude des cas de la leishmaniose cutanée diagnostiqués au CHU de Tizi-Ouzou. Mémoire Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Facultés Des Sciences Biologique et Agronomique, 50p.
26. **Clémence L., (2009)** – La leishmaniose canine : ce qui doit savoir le Pharmacien d'officine. Thèse Diplôme de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincare Nancy 1, Faculté de Pharmacie, France, 88p.
27. **Claire A., (2018)** – La leishmaniose canine : Prise en charge et actualités. Diplôme D'état De Docteur En Pharmacie, Université Aix Marseille, Faculté de Pharmacie, France, 100p.
28. **Cortes S., Vaz Y., Neves R., Maia C., Cardoso L., Campino L., (2012)** – Facteurs de risque de leishmaniose canine dans une région méditerranéenne endémique. Parasitol Vétérinaire, 2(4) 96-189.
29. **Cazan C D., Ionica M A., Matei I A., D'Amico G., Munoz C., Berriatua E., Dumitrache M O., (2020)** – Détection de l'ADN et des anticorps de Leishmania infantum contre Anaplasme spp., Borrelia burgdorferi s l. et Ehrlichia canis dans un chenil dans le centre-Sud de la Roumaine. Acta Veterinaria Scandinavica 3(1) 42-62.
30. **Depaquit J., et Léger N., (2017)** - Les phlébotomes (Diptera : Psychodidae :

Phlebotominae). Livre Entomologie Médicale et Vétérinaire, Ed : IRD Éditions, Marseille, 295-320.

31. **Depaquit J., Frédérique M., Léger N., (2009)** – *Phlebotomus (Euphlebotomu) barguesae* n.Sp From Thailand (Diptera-psychodidae). *Parasites et Vectors*, 2(5) 1756-3305.
32. **Dedet J.P., Addadi K., Lannuzel B. (1977)** - Epidémiologie des leishmanioses en Algérie, La leishmaniose viscérale dans le foyer de Grande Kabylie. *Bulletin de la Société Pathologie Exotique*, 70(3), 250- 265.
33. **Djezzar M I., (2006)** - Etude des leishmanioses diagnostiques au centre Hospitalo-Universitaire Ben Baddis Constantine. Thèse de Doctorat en Microbiologie, Université Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Algérie, 119p.
34. **Darghouth M A., (2005)** - Données épidémiologiques, cliniques et parasitologiques sur la leishmaniose générale canine en Tunisie. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 98(5). 359-362.
35. **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(2), 132- 134.
36. **Djerbouh A., (2006)** – Etude de la leishmaniose canine dans la wilaya d'Alger. Mémoire Magistère, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, Algérie, 147p.
37. **Dedet.J. P., (1999)** - Les leishmanioses. Collection Médecine Tropicale, Ed Ellipses AUPELF /UREF, Paris 213-223.
38. **Dedet J. P, Addadi K, Lannuzel B., (1977)** -Epidémiologie des leishmanioses en Algérie, La leishmaniose viscérale dans le foyer de Grand Kabylie. *Bulletin de la Société Pathologie Exotique*, 70(2), 250-265.
39. **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, Faculté des Science Biologique et Agronomique, Algérie, 111p.
40. **Faucher B., (2013)** - Epidémiologie des protozooses du diagnostic a l'éco épidémiologie. Thèse de Doctorat, Université de Marseille, Faculté de Médecine, France, 551p.
41. **François P., (1990)** - Les phlébotomes et les leishmanioses en bolivie. Thèse de Doctorat, Université de Paris-Sud, Spécialité : Entomologie Médicale, France, 251p.
42. **Frahtia B., (2015)** - Détection moléculaire des leishmanioses à partir du genre

phlebotomus (Diptera, psychodidae) tendance vers la régression de la leishmaniose à Constantine. Thèse de Doctorat, option : Entomologie. Université des Frères Mentouri Constantine, 141p.

43. **Fellah H., Doughmi O., Maniar S., El Ouali Lalami A., (2014)** - Etude séro-épidémiologique de la leishmaniose canine au centre du Maroc. Journal Panafrican de Médecine, 19(1), 248-254.
44. **Galvez R., Montoya A., Cruz I., Fernandez C., Martin O., Rocio C., Chicharro C., Miguelanez S., Marino V., Miro G., (2020)** – Latest trends in Leishmania infantum infection in dogs in Spain, Part I : mapped seroprevalences and sand fly distributions. Parasites and vectors, 204(1) 13-21.
45. **Hide M., Anne L B., Franck P., (2007)** - leishmania and the Leishmaniases A parasites Genitic Update and advances in Taxonomy, Epidemiology and Pathogenicity in Humans. Advances In Parasitology 64(1) ,455-458.
46. **Harrat Z., (2006)** - La leishmaniose canine en Algérie. Analyse épidémiologique, écologique et étude du parasite. Thèse Doctorale en Sciences Vétérinaires. Centre Universitaire d'El Tarf, Algérie, 154p.
47. **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, 88(4), 180-184.
48. **Harrat Z., Pratlon G., Benikhlef R., Chaffa N., Lami P., Lefebvre M., Martini A., Rouquainol C., Bendali Braham S., Belkaid M., ET Dedet JP., (1995)** - Identification isoenzymatique de 58 isolats de Leishmania d'origine humaine et canine obtenue en Algérie. Archives de L'institut Pasteur d'Algérie, 60, 167-175.
49. **Harrat Z., et Belkaid M. (2003)** - Les leishmanioses dans l'Algérois. Données épidémiologiques. Bulletin de la Société Pathologie Exotique, 96(3), 212-214.
50. **Kabbout N., (2017)** - Contribution à l'étude bio écologique des insectes d'intérêt médical dans le Nord Est algérien. Thèse de Doctorat, Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie, Algérie, 224p.
51. **Kadjoudj N., (2022)** - Etude bioécologique des insectes vecteurs des maladies parasitaires telles que la leishmaniose et virales à transmission vectorielle dans les régions subhumides et semi-arides. Thèse de Doctorat. Université Abdel Hafid Boussouf Mila, Institut de Science et Technologie, Algérie 228p.
52. **Kilick Kendrick R., (1999)** - The biology and control of phlebotomine sand flies.

clinical dermatology Medical and veterinary Entomology, 17(3) 279-289.

53. **Levine N.D., Corliss J.O., Deroux G., Grain J., Honigberg B.M., (1980)** - A newly revised classification of the Protozoa. *Journal Protozool*, 27(1), 37-58.
54. **Lachaud L., Marchergui-Hammami S., Chabbert E., Jacques D., Jean Pierre D., Patrick B., (2002)** - Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. *Journal of Clinical Microbiology* 40(1) 210–215.
55. **Larbi A A., Rahmane M., (2018)** – Etude épidémiologique rétrospective de la leishmaniose Cutanée en Algérie entre 2010 et 2015. Mémoire de fin d'études, Université Saad Dahlab Blida 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 51.
56. **Maouadj I., Mouloudi N., Mahni C., Abdeslam M., (2021)** - Inventaire des phlébotomes dans les régions de Mekla et Boghni. Mémoire de fin d'études, Université de Médecine Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Faculté de Médecine, 81p.
57. **Mouloua A., (2014)** - Etude éco-épidémiologique de la leishmaniose canine en Kabylie. Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Faculté des Sciences Biologique et Science Agronomique, Algérie, 267p.
58. **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.
59. **Mouloua A., Seklaoui N., Mezai G., Kerrachi I., Bouiba L., Edaikra N., Benikhlef R., Harrat Z., (2020)** - Epidemiological Situation of Canine Leishmaniosis in Kabylia. *Research Article En Veterinary Science*, 5(10) 116-131.
60. **Moumni H., (2015)** - Epidémiologie et diagnostic du laboratoire des leishmanioses au CHU de Tlemcen. Mémoire de Docteur en pharmacie, Université Abou Bekr Belkaid de Médecine, Faculté de Médecine Tlemcen 67p.
61. **Mary C., (1994)** - Immunodiagnostic de la leishmaniose : aspects actuels. *Article Médecine et Armées, (Tropical Médecine)* 22 (1) 55-60.
62. **Mohand Kaci A., (2015)** - La leishmaniose canine à Tizi-Ouzou : A propos d'un essai thérapeutique. Thèse de Docteur Vétérinaire, Université Saad Dahlab de Blida, Institut des Sciences Vétérinaires 83p.
63. **Miranda S., Xavier R., Albert P., Lluís F., Antonio R., (2008)** - Caractérisation du sexe de l'âge et de race pour une population de chiens atteints de leishmaniose canine. *Recherche en Sciences Vétérinaire*, 85(1) 35-38.

64. **Mickael B., Bernard D., Jacques D., (1999)** - Intérêt des techniques de laboratoire dans le diagnostic de la leishmaniose canine. *Revue Française des Laboratoires*, 310(1) 33-38.
65. **Messahel N E., (2022)** - Épidémiologie de la leishmaniose dans l'Est algérien. Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, 116p.
66. **Munstermann L.E., (2019)** - Phlebotomine Sand Flies and Moth Flies (Psychodidae). In *Medical and Veterinary Entomology*, Thied Edition, Ed : Mullen G.R and Durden L., A, 191-212.
67. **Medkour H., Laidoudi Y., Lafri I., Bitan I., Mediannikov O., Davoust B., (2019)** – Canine leishmaniosis and first report of leishmania infantum in the blood of equids in Kabylia (Algeria). *Abstracts / International Journal of Infectious Diseases*, 79(1) 117-118.
68. **Morosetti G., Toson M., Trevisiol K., Idrizi I., Natale A., Lucchese L., Michelutti A., Ceschi P., Lorenzi G., Piffer C., Fiorentino E., Bongiorno G., Gradoni L., (2020)** – Canine leishmaniosis in the Italian northeastern Alps : A survey to assess serological prevalence in dogs and distribution of phlebotomine sand flies in the Autonomous Province of Bolzano – South Tyrol. Italy, *Veterinary Parasitology Regional Studies and Reports*, 21(4) 100-432.
69. **Mady Malheiros B., (2022)** – La recherche et le développement pharmaceutique pour les maladies négligées sous l'angle de la leishmaniose, Rupture ou continuité dans la santé globale. Thèse de Doctorat, Ecole Doctorale de l'EHESS, Centre de Recherche Médecine, Sciences, Santé, Santé Mentale, Société, France, 452p.
70. **Nedjadi M., (2015)** - Etude rétrospective et prospective de la leishmaniose canine. Thèse de Docteur Vétérinaire, Université Ibn Khaldoun de Tiaret, Institut des Science Vétérinaires, 85p.
71. **Oliva G., Roura X., Crotti A., Maroli M., Castagnaro M., Gradoni L., Lubas G., Paltrinieri S., Zatelli A., Zini E., (2010)** - Guidelines for traitement of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association JAVMA*, 236(11) 1192-1200.
72. **Ouissi S., (2012)** - Diagnostic de leishmaniose canine. Thèse de Docteur Vétérinaire, Université ibn khaldoun de Tiaret, 54p.
73. **Prudhomme J., (2015)** - Phlébotomes et écosystèmes : impact des facteurs biotiques et abiotiques sur la structure génétique et phénotypique des populations. Thèse de

Doctorat, Université de Montpellier, France, 258p.

74. **Puoza A., (2012)** – Démodécie chez le chien : étude rétrospective des cas observés à L'ENT. Thèse d'Exercice, Médecine vétérinaire, Ecole National Vétérinaire de Toulouse, France, 73p.
75. **Rami M., Atarhouch T., Soussi M., Cadi T., Benazzou T., Dakkak A., (2003)** – Leishmaniose canine dans le Rif (côte méditerranéenne marocaine) : enquête séro-épidémiologique. Article Parasite, 10(1) 79-85.
76. **Rombola P., Barlozzari G., Carvelli A., Scarpulla M., Iacoponi F., Macri G., (2021).** Seroprevalence and risk factors associated with exposure to *Leishmania infantum* in dogs, in an endemic Mediterranean region. PLoS One 16(1), 1371 1381.
77. **Ramdane, E – (2019),** Etude bio- écologique des Phlébotomes (Diptera, Psychodidae), vecteurs de la Leishmaniose humaine dans la région de Constantine. Thèse de Doctorat, Université des Frères Mentouri, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie Animale Constantine 161p.
78. **Silva OA., Silva PB., Silva OV., Braga GM., Albuquerque Júnior A., Queiros Neto V., Rocha ME., et Silva EF., (2007)** - La leishmaniose viscérale canine dans le Nord-Est du Brésil : aspects épidémiologiques. Bulletin de la Société Pathologie Exotique, 100(1) 49-50.
79. **Saridomichelakis M.N., Mylonakis M.E., Leontides L.S., Koutinas A.F., Billinis C., Kontos V.I. (2005)** - Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 73 (1), 82-86.
80. **Tchoketch Kébir A., (2020)** - Investigation épidémiologique de la leishmaniose canine dans le Nord et le Sud-Est de l'Algérie. Diplôme de Docteur Vétérinaire, Université Saad Dahlab de Blida, Institut des Sciences Vétérinaires, 43p.
81. **Toumi H, et Itim N (2006)** Etude épidémiologique sur la leishmaniose canine dans la région centre. Thèse de Docteur Vétérinaire, Université Saad Dahleb de Blida, Faculté des Sciences Agro-vétérinaires et Biologique, Algérie ,95P.
82. **Taha B., Carmen S., Zait H., Mokhtaria K., Slimani K M., Javier N., Benmouhoub N A., (2022)** - Diagnostic et prévalence de la leishmaniose canine chez le berger de l'Atlas. Parasitologie Vétérinaire : Etude et Rapport Régionaux, 36(1) 100-787.

83. **Taha B., (2022)** – Etude de la leishmaniose canine. Thèse De Doctorat En Sciences Vétérinaires, Université Ibn Khaldoun Tiaret, Institut Des Sciences Vétérinaires, 129p.
84. **W.H.O. (2011)** - La lutte contre les leishmanioses. Rapport de la réunion du comité O.M.S. d'experts de la lutte contre les leishmanioses. Genève, 22 26 Mars 2010. O.M.S. Série de rapports techniques, 949. 228p.
85. **Zaffaroni E., Rubaudo L., Lanfranchi P., and Mignone W., (1999)** - Epidemiological patterns of canine leishmaniasis in Western Liguria (Italy). Veterinaire Parasitol. 81(1) 11 19.
86. **Živičnjak T., Martinković F., Marinculić A., Mrljak V., Kucer N., Matijatko V., Mihaljevic Z., Baric-Rafaj R., (2005)** - A seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniosis among apparently healthy dogs in Croatia. Veterinary Parasitology, 131(1-2) 35-42.
87. **Site**

https://www.drmicrobe.com/fiches/Leishmania_infantum.php

www.dpd.cdc.gov/dpdx/. - Bing images

<https://decoupageadministratifalgerie.blogspot.com>

Adu

Résumé

Dans le cadre de l'étude épidémiologique sur la leishmaniose canine dans la région de Tizi-Ouzou, qui se trouve au Nord-Est de l'Algérie, nous avons entrepris une série d'analyses et de recherches dans différentes stations. Les résultats de l'échantillonnage des phlébotomes réalisé par la méthode des pièges adhésifs a permis l'identification d'un total de 390 individus, répartis entre 78 mâles et 312 femelles. 50 prélèvements canins ont été ensemencés sur milieu NNN et SLC, ont tous démontés négatifs, ainsi la coloration MGG effectuée sur 2 frottis cutanés, a donné un seul résultat positif. Sur l'ensemble des prélèvements canins testés par l'immunofluorescence indirecte, 5 chiens étaient séropositifs avec un pourcentage 10%. Pour confirmer ces résultats, nous avons utilisé la technique de la PCR standard sur 44 échantillons, parmi lesquels 22 chiens ont été diagnostiqués positifs, représentant ainsi 50% de l'ensemble des chiens testés. Nos analyses ont également révélé que les chiens mâles étaient davantage touchés par la maladie, avec un taux d'infection de 34%. La tranche d'âge la plus affectée était celle des chiens âgés de 2 à 4 ans, avec un taux de 25%. En ce qui concerne les races, les Bergers allemands étaient les plus touchés, représentant 15,91% des cas. Enfin, parmi les différentes stations étudiées, il a été observé que la station de Boghni présentait un taux d'infestation plus élevé que les autres, avec un pourcentage de 20,45%.

Mots clés : Phlébotomes ; chien ; Leishmaniose canine ; Immunofluorescence indirecte ; Milieu NNN ; PCR standard ; Région de Tizi-Ouzou.

Abstract

As part of the epidemiological study on canine leishmaniasis in the Tizi-Ouzou region, which is located in the northeast of Algeria, we have undertaken a series of analyzes and research in different stations. The results of the sandfly sampling carried out using the adhesive trap method allowed the identification of a total of 390 individuals, distributed between 78 males and 312 females. 50 canine samples were inoculated on NNN and SLC medium, all were negative, thus the MGG staining carried out on 2 skin smears gave a single positive result. Of all the canine samples tested by indirect immunofluorescence, 5 dogs were seropositive with a percentage of 10%. To confirm these results, we used the standard PCR technique on 44 samples, among which 22 dogs were diagnosed positive, thus representing 50% of all dogs tested.

Our analyzes also revealed that male dogs were more affected by the disease, with an infection rate of 34%. The age group most affected was dogs aged 2 to 4 years, with a rate of 25%. When it comes to breeds, German Shepherds were the most affected, accounting for 15.91% of cases. Finally, among the different stations studied, it was observed that the Boghni station had a higher infestation rate than the others, with a percentage of 20.45%.

Keywords: Sandflies; dog ; Canine leishmaniasis; Indirect immunofluorescence; Middle NNN; Standard PCR; Tizi-Ouzou region.

ملخص

في إطار الدراسة الوبائية لداء الليشمانيات الكلابي بمنطقة تيزي وزو الواقعة شمال شرق الجزائر، قمنا بسلسلة من التحاليل والأبحاث في محطات مختلفة. أتاح نتائج أخذ عينات ذبابة الرمل التي تم إجراؤها باستخدام طريقة المصيدة اللاصقة التعرف على إجمالي 390 فردا، مقسمة بين 78 ذكرا و312 أنثى.

تم تلقيح 50 عينة من الكلاب على وسط NNN و SLC، وكانت جميعها سلبية، وبالتالي فإن صبغ MGG الذي تم إجراؤه على مسحتين من الجلد أعطى نتيجة إيجابية واحدة. من بين جميع عينات الكلاب التي تم اختبارها بواسطة التآلق المناعي غير المباشر، كانت 5 كلاب إيجابية المصل بنسبة 10%. ولتأكيد هذه النتائج، استخدمنا تقنية PCR القياسية على 44 عينة، من بينها 22 كلبا تم تشخيص إصابتهم بالفيروس، مما يمثل 50% من جميع الكلاب التي تم اختبارها.

وكشفت تحليلاتنا أيضا أن الكلاب الذكور كانت أكثر تأثرا بالمرض، حيث بلغت نسبة الإصابة بها 34%. وكانت الفئة العمرية الأكثر إصابة هي الكلاب من عمر 2 إلى 4 سنوات بنسبة 25%. عندما يتعلق الأمر بالسلالات، كان الرعاة الألمان هم الأكثر تضررا، وهو ما يمثل 15.91% من الحالات. وأخيرا، من بين المحطات المختلفة التي تمت دراستها، لوحظ أن محطة بوغني كانت لديها نسبة إصابة أعلى من المحطات الأخرى، بنسبة 20.45%.

الكلمات المفتاحية: ذبابة الرمل؛ كلب؛ داء الليشمانيات الكلابي. التآلق المناعي غير المباشر؛ وسط نن؛ معيار PCR؛ منطقة تيزي وزو.