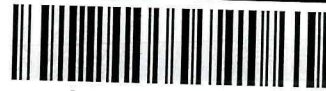




République Algérienne démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur



873THV-2

Et

De la recherche scientifique  
Université-SAAD DAHLAB-Blida

**Institut des sciences vétérinaires**



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention de diplôme de docteur vétérinaire

Thèse:

**Etude clinique du test de diagnostique rapide  
de la leishmaniose <<speed leish>>**

Présenté par:

- SADDEK Walid
- JABALLAH Mehdi

Membres de jury :

- Président : Dr. BELALLA R.....MAA USDB
- Promoteur: Dr. DJOUDI M.....MAA USDB
- Examineur: Dr. AKLOUL K.....MAB USDB

**Promotion : 2013/2014**

## Remerciements

Nous remercions tout d'abord **ALLAH** le tout puissant qui nous a fourni l'aide et la confiance pour réaliser ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à notre promoteur **Dr. DJOUDI Mustapha** pour son aide, ses conseils et ses remarques qui nous ont permis de présenter notre travail dans sa meilleure forme.

Nous remercions également tous les enseignants qui ont contribué à notre formation durant notre cursus universitaire.

Nous remercions enfin les membres de jury pour avoir accepté d'évaluer notre travail.

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma très chère et douce **mère**, Mon très cher **père** pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué; avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'ils ont consenti à mon égard, pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance.

Pour mes chers frères :

**Hamada, Bachir, Thameur et Mahed Cherif**

Pour mes chères sœurs:

**Zohra et Aicha**

A toute ma famille.

Pour mes très chers amis :

MOUFKI Yousef, THLEIDJI Baizid, BENMHAMED Ayoub, ABDELSALEM Abed El Rahman, HAZERCHI Samir, KHALDI Thameur, KHADIR Khaled, FEDDA Abed El Nour, BATTACHE Oussama, GESEUB Mohamed, BOUKER Adel, BENSIDI Ali, GASMI Sofiane, DJABALLAH Adam, BITOUR Mounir, MEBAREKIA Mouloud, HAMMOUDI Mehdi.....

A toute la promotion des 5<sup>ème</sup> années vétérinaires : 2013-2014

**Et a tous ceux qui ne cessaient de me demander :**

**« Et ta thèse ? »**

**SADDEK Walid**

## Résumé

La leishmaniose est une maladie parasitaire qui constitue un véritable problème de santé publique dans plusieurs pays dont l'Algérie

L'expression clinique de la leishmaniose est polymorphe et donc difficile à diagnostiquer.

La thérapeutique de leishmanioses n'a connu que des changements limités depuis nombreuses années.

Pour notre thème, nous avons mené un travail dont l'objectif était de faire une présentation de cette maladie chez le chien et les moyens disponibles pour son diagnostic surtout les tests rapides. Qui ont fait ressortir l'efficacité de tels tests sur un effectif réduit (4 chiens dont un positif).

**Les mots clés: Leishmaniose, leishmania infantum, zoonose, diagnostic rapide, kit, Speed Leish.**



## **Abstract**

Leishmaniasis is a parasitic disease that is a real problem for public health in many countries including Algeria.

The clinical expression of leishmaniasis is polymorphic and therefore difficult to diagnose.

The treatment of leishmaniasis has had only limited changes since many years.

For our theme, we conducted a work whose aim was to make a presentation of this disease in dogs and the means available for its diagnosis especially rapid tests.

**Keywords: leishmaniasis, leishmania infantum, zoonosis, fast diagnosis, Speed Leish.**

## موجز

الليشمانيا مرض طفيلي بحيث يشكل خطر حقيقي على الصحة العامة في كثير من البلدان من بينها الجزائر. إن أعراض داء الليشمانيا متعددة الأشكال، مما يشكل صعوبات في التشخيص. إن التطور العلاجي لداء الليشمانيا لم يعرف سوى بعض التغييرات الطفيفة منذ سنوات طويلة. في هذه الأطروحة حاولنا العمل على التعريف بهذا المرض لدى الكلاب ودراسة الوسائل المتاحة من أجل الكشف عن هذا المرض خاصة وسائل التشخيص السريعة.

الكلمات المفتاحية: الليشمانيا, leishmania infantum , zoonose, تشخيص السريع.

## Listes des figures :

<b>Figure n°1:</b> Distribution dans l'Ancien Monde de la Leishmaniose viscérale (Zone hachurée) et aires d'extension des taxons <i>Leishmania donovani</i> et <i>Leishmania infantum</i> .....	4
<b>Figure n°2:</b> Taxonomie de <i>Leishmania</i> .....	4
<b>Figure n°3:</b> Forme promastigote.....	5
<b>Figure n°4:</b> Forme amastigotes dans un macrophage.....	5
<b>Figure n°5:</b> Cycle biologique de <i>Leishmania</i> spp (Centers for Disease Control and Prevention-Leishmaniasis).....	6
<b>Figure n°6:</b> Photographie de <i>Phlebotomus perniciosus</i> .....	8
<b>Figure n°7:</b> Schéma morphologique d'un phlébotome mâle adulte.....	8
<b>Figure n°8:</b> Répartition et fréquences en Languedoc de <i>Phlebotomus ariasi</i> et <i>P. perniciosus</i> en fonction de l'altitude et des étages de végétation.....	9
<b>Figure n°9:</b> Dans la leishmaniose canine, les lésions cutanées autour des yeux sont fréquentes et plus ou moins marquées.....	19
<b>Figure n°10:</b> Chien atteint d'une forme cutanée classique de leishmaniose. Des lésions cutanées sont présentes sur tout le corps.....	19
<b>Figure n°11:</b> Forme grave de leishmaniose canine avec présence d'importantes ulcérations cutanées.....	19
<b>Figure n°12:</b> Chien admis à la consultation.....	31
<b>Figure n°13:</b> Chien admis à la consultation.....	32
<b>Figure n°14:</b> Chien présentant des lésions cutanées.....	32
<b>Figure n°15:</b> Photo personnel d'un chien suspect.....	33
<b>Figure n°16:</b> Prélèvement sanguin.....	34
<b>Figure n°17:</b> Centrifugeuse.....	34
<b>Figure n°18:</b> Obtention du sérum.....	34
<b>Figure n°19:</b> Matériels utilisés.....	35
<b>Figure n°20:</b> Réalisation de FLG.....	35
<b>Figure n°21 :</b> Principe du test.....	36
<b>Figure n°22:</b> Présentation des kits.....	39
<b>Figure n°23:</b> Chien n°2 s'est révélé négatif.....	41
<b>Figure n°24:</b> Test d'IFI « résultat négatif ».....	41
<b>Figure n°25:</b> Chien n°3 s'est révélé positif.....	42
<b>Figure n°26:</b> Test d'IFI « résultat positif ».....	42

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Symptômes observés par Bourdeau (306 cas).....	13
<b>Tableau II:</b> Symptômes observés par Dénerolle (125 cas).....	14
<b>Tableau III:</b> Résultats des chiens testés par 3 méthodes.....	40



## Liste des abréviations :

**LV** : Leishmaniose viscérale

**LCS** : Leishmaniose cutanée sporadique du nord

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**FLG** : Formo-leuco-gélification

**IFI** : Immunofluorescence indirecte

**FNS** : Formule et numération sanguin

**IPA** : Institut Pasteur d'Algérie

**VP** : vrai positif

**VN** : vrai négatif

**FP** : faux positifs

**FN** : faux négatifs

**VPP** : valeur prédictive positive

**VPN** : valeur prédictive négative

**ELISA**: Enzym-linked immunosorbent assay.

## Glossaire

**Alopécie** : Perte totale de poils pouvant être localisée, diffuse ou généralisées sous-jacents.

**Hyperkératose** : Augmentation de l'épaisseur de la couche cornée de l'épiderme, d'où une apparence rugueuse de la lésion.

**Nodule** : Lésion solide, surélevée, de plus d'1 cm de diamètre envahissant les couches les plus profondes de la peau, voire les organes.

**Onychogriphose** : Allongement de la longueur des ongles

**Papule** : Petite lésion surélevée de consistance solide à la palpation, souvent de couleur rouge ou rosée.

**Pustule** : Petite lésion surélevée de l'épiderme, bien circonscrite, fluctuante, remplie de pus.

**Squames** : Fragments issus de la couche cornée.

**Ulcères** : Mise à nue du derme, induisant la formation d'une cicatrice (s'il y a guérison).

## SOMMAIRE

Remerciements.....	I
Dédicace .....	II
<b>Partie bibliographique</b>	
Introduction .....	1
<b>Chapitre I: Généralités.....</b>	<b>2</b>
I. Historique .....	2
II. Généralités .....	2
II.1. Définition.....	2
II.2. Importance.....	3
II.2.1. Médicale.....	3
II.2.2. Economique.....	3
II.2.3. Sociale.....	3
III. Étude du parasite .....	4
III.1. Taxonomie .....	4
III.2. Morphologie du parasite.....	5
III.2.1. Promastigote.....	5
III.2.2. Amastigote.....	5
III.3- Cycle du développement.....	5
IV- Etude du vecteur.....	7
IV.1. Définition et taxonomie.....	7
IV.2. Morphologie.....	7
IV.3. Biologie du phlébotome.....	8
IV.3.1. Habitat.....	8
IV.3.2. Activité.....	10
IV.3.3. Nutrition.....	10
IV.3.4. Cycle évolutif.....	10
IV.4. Les espèces vectrices de leishmaniose infantum présente en Algérie.....	11
IV.4.1. Répartition et caractéristique.....	11
V. Etude de réservoir de la leishmaniose en Algérie .....	11
VI. Epidémiologie de la leishmaniose.....	12
VI.1. Réceptivité et sensibilité.....	12
VI.1.1. Espèce hôte.....	12
VI.1.2. Age et race.....	12

VI.2. Mode de transmission.....	12
VI.2.1. Transmission vectorielle.....	12
VI.2.2. Transmission non vectorielle.....	12
<b>Chapitre II: Les manifestations cliniques et expérimentales de la leishmaniose....</b>	<b>13</b>
I. Symptômes.....	13
I.1. Symptômes généraux.....	14
I.1.1. Amaigrissement.....	14
I.1.2. Anémie.....	15
I.1.3. Hyperthermie.....	15
I.2. Symptômes viscéraux.....	15
I.2.1. Adénomégalie.....	15
I.2.2. Splénomégalie.....	15
I.2.3. Hépatomégalie.....	15
I.2.4. Insuffisance rénale.....	15
I.3. Symptômes cutanéomuqueux.....	16
I.3.1. Chancre d'inoculation.....	16
I.3.2. Dépilations.....	16
I.3.3. Troubles de la kératogénèse.....	16
I.3.4. Ulcérations.....	17
I.3.5. Nodules.....	17
I.3.6. Atteinte des muqueuses.....	17
I.3.7. Signes oculaires.....	17
I.4. Autres signes : l'atteinte nerveuse et osseuse.....	18
I.5. Remarque.....	18
II. DIAGNOSTIC.....	20
II.1. Mise en évidence directe des leishmanies.....	20
II.1.1. Microscopie.....	20
II.1.2. Polymerase Chain Reaction (PCR).....	20
II.1.3. Culture.....	21
II.2. Mise en évidence indirecte des leishmanies.....	21
II.2.1. Méthodes non spécifiques.....	21
II.2.1.1. Hématologie.....	21
II.2.1.2. Biochimie.....	21
II.2.1.3. Formoleucogélification (FLG).....	22



II.2.2. Méthodes spécifiques.....	22
II.2.2.1. IFI.....	22
II.2.2.2. ELISA.....	23
II.2.2.3. Western Blot.....	23
II.2.2.4. Tests rapides.....	23
III. Pronostic.....	24
IV. Traitement.....	24
IV.1. Recommandations et réflexions avant la mise en place d'un traitement.....	24
IV.2. Les traitements utilisés.....	25
IV.3. Perspectives thérapeutiques.....	26
V. Prophylaxie.....	26
V.1. Sanitaire.....	26
V.2. Médicale.....	27
V.2.1. Les antiparasitaires externes.....	27
V.2.2. Les vaccins.....	27
<b>Partie expérimentale</b>	
I. Objectif du travail.....	29
II. Matériel et méthodes.....	29
II.1. Matériels.....	29
II.1.1. Matériels utilisés.....	29
II.1.2. Animaux d'étude.....	30
II.2. Méthode.....	33
II.2.1. Prélèvement sanguin.....	33
II.2.2. Obtention du sérum.....	33
II.2.3. Réalisation de la Formo-leuco-gélification.....	34
II.2.4. Séro-floculation.....	35
II.2.5. Principe du SPEED LEISH.....	35
III. Résultats.....	39
IV. Discussion.....	42
V. Conclusion.....	44
VI. Recommandations.....	45

## **Annexes**

### **Références bibliographiques**

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## Introduction :

Les leishmanioses représentent un groupe de maladies parasitaires d'expression clinique variée. L'importance des leishmanioses dans le monde est illustrée par le nombre annuel de nouveaux cas qui se chiffre entre 1,5 à 2 millions de cas (30). L'Algérie qui compte parmi les pays les plus exposés est concernée par trois formes cliniques sévissant à l'état endémique : la leishmaniose viscérale (LV), la leishmaniose cutanée sporadique du nord (LCS) et la leishmaniose cutanée zoonotique. La leishmaniose viscérale infantile et la LCS se répartissent sur toute la partie nord du pays et leur distribution géographique correspond à celle de la leishmaniose canine. Bien que leur fréquence varie d'une région à l'autre, il est cependant important de noter que le foyer de la Grande Kabylie regroupe à lui seul près de 50 % de cas recensés (40). Cette affection qui touche habituellement des enfants malnutris, vivant en zone rurale, affecte depuis quelques années de plus en plus de sujets n'ayant jamais quitté les grandes zones urbaines. Ce phénomène d'urbanisation de la maladie, constaté à Alger même, serait lié, d'une part, au déplacement, à cause de l'insécurité, de milliers de citoyens venant des zones rurales pour s'installer en ville et, d'autre part, à la dégradation de l'environnement, à la prolifération de chiens malades errants et, enfin, à la multiplication des gîtes de phlébotomes. Par ailleurs, l'expansion de la métropole vers la banlieue entraînerait un rapprochement des citoyens des foyers sauvages d'infection, augmentant ainsi le risque d'infection. À la suite de la notification du premier cas de leishmaniose canine à Alger par les frères SERGENT en 1910 (71), plusieurs enquêtes ont été réalisées dans le but de préciser la fréquence et l'évolution de cette zoonose dans la capitale du pays (25, 39, 50, 51, 62, 72). Le présent travail s'inscrit dans la continuité de ces enquêtes.

L'identification des leishmanies a longtemps constitué un problème car leur morphologie et leur pouvoir pathogène ne permettaient pas de les classer. Initialement basée sur des critères écobio-écologiques puis immunologiques, la classification des leishmanies utilise aujourd'hui des marqueurs d'ADN. Cependant, elle est encore arbitraire et discutée (1).

C'est la troisième maladie la plus importante dans le monde entier au niveau humain ! Notre étude, étudiera dans une première partie les moyens mis à la disposition du vétérinaire pour confirmer ou infirmer une leishmaniose. Dans une deuxième partie, nous évaluerons un kit commercial destiné au diagnostic de la leishmaniose canine : le Speed Leish® réalisable par le vétérinaire en 20 minutes au sein de sa clinique.

**Chapitre I :****I-Historique :**

La leishmaniose est connue depuis l'Antiquité des médecins persans et indiens comme en témoigne le nom donné à la maladie humaine de Kala-azar (fièvre noire) qui désigne la leishmaniose viscérale indienne. La première observation des leishmanies est réalisée par Cunningham en 1885. Elles sont redécouvertes par la suite en 1891 par Firth. Mais elles ne sont incriminées comme étant responsables de la leishmaniose qu'en 1903 de façon simultanée par Leishman et Donovan (34). En 1908, Nicolle et Comte, à l'institut Pasteur de Tunis décèlent les mêmes protozoaires chez le chien et démontrent expérimentalement la transmission possible de l'homme au chien. Ils font de cette affection une maladie commune à l'homme et à d'autres mammifères ouvrant ainsi la voie aux recherches épidémiologiques. C'est en 1921 que le rôle vecteur des phlébotomes est découvert, grâce aux travaux des frères Sergent. La transmission des leishmanies par piqûre de phlébotome infecté en laboratoire est décrite en 1941 par Adler et Ber.

**II. Généralité :****II.1. Définition :**

La leishmaniose est une protozoose infectieuse, inoculable, exceptionnellement contagieuse due au développement et à la multiplication, dans les cellules du système des phagocytes mononuclés, d'un flagellé du genre *Leishmania*, transmis par l'intermédiaire de Psychodidés appartenant au genre *Phlebotomus* (12).

**La leishmaniose, une maladie grave et répandue**

La leishmaniose est une maladie mortelle qui touche le chien, espèce très sensible, mais aussi l'Homme et d'autres mammifères.

Elle se transmet par des **piqûres répétées d'insectes appelés Phlébotomes**.

Chez le chien, la distinction entre les leishmanioses viscérale, cutanée ou cutanéomuqueuse n'a pas lieu d'être, car il s'agit chez cette espèce d'une leishmaniose générale, intéressant tout l'organisme. (12). Elle est largement répandue à la surface du globe et la leishmaniose à *Leishmania infantum* est dans l'Ancien Monde principalement présente en Afrique Equatoriale et du Nord, sur le pourtour méditerranéen et en Asie. (8).



**II.2. Importance :****II.2.1. Médicale :**

L'importance médicale de la leishmaniose canine est liée au fait qu'elle affecte de nombreux chiens en zone d'enzootie, d'autant plus que la prévalence et l'incidence de cette maladie augmentent depuis plusieurs années (sa fréquence est passée de 11.4% à 15.19% au cours d'une enquête dans l'algérois, réalisée à l'institut Pasteur d'Algérie). L'existence de porteurs asymptomatiques, la durée d'incubation parfois très longue, son expression protéiforme et parfois l'absence de séroconversion rendent le diagnostic difficile pour le vétérinaire praticien.

Il s'agit d'une maladie mortelle chez le chien non traité. Et lorsque le traitement est mis en place, les résultats restent aléatoires et des effets secondaires pour l'organisme de l'animal sont fréquemment observés. (12)

**II.2.2. Economique :**

Les frais en vue de l'établissement du diagnostic sont non négligeables d'autant qu'il est parfois nécessaire de réaliser plusieurs examens complémentaires pour obtenir un diagnostic de certitude.

Le traitement est coûteux et associe:

- d'une part le traitement spécifique : il faut environ compter pour un chien de 20kg, la première année (association de Glucantime® à raison de 75mg/kg deux fois par jour pendant 21 jours et de Zyloric® à raison de 15 mg/kg deux fois par jour toute l'année) puis les années suivantes si l'animal ne présente pas de rechutes. (43) (44)

- et d'autre part les traitements symptomatiques en raison du mauvais état général ou de l'atteinte particulière d'un organe. Il peut donc être nécessaire de mettre en place un soutien rénal, des traitements cutanés lors de séborrhée importante, des traitements oculaires en cas d'uvéite... (54)

Une fois le traitement mis en place le suivi médical est indispensable, il repose sur des analyses hémato-biochimiques régulières et des suivis sérologiques. La mise en place de mesures prophylactiques a également un coût mais qui reste relativement limité notamment lors d'utilisation de collier dont l'efficacité est d'environ cinq mois.

**II.2.3. Sociale :**

C'est une zoonose majeure responsable d'une maladie grave et parfois mortelle chez l'homme. Le chien est le réservoir principal de la leishmaniose viscérale humaine.

III. Etude du parasite :

III.1. Taxonomie :

*Leishmania donovani infantum* est un protozoaire de la Classe des Flagellés, Famille des Trypanosomatidés, du Genre *Leishmania* (34).

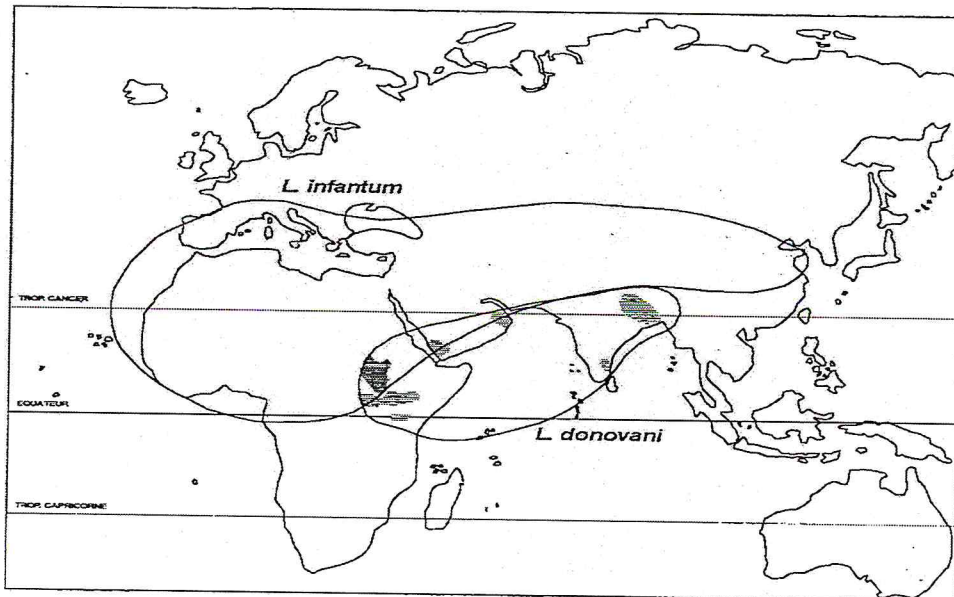


Figure n°1: Distribution dans l'Ancien Monde de la Leishmaniose viscérale (Zone hachurée) et aires d'extension des taxons *Leishmania donovani* et *Leishmania infantum* (27)

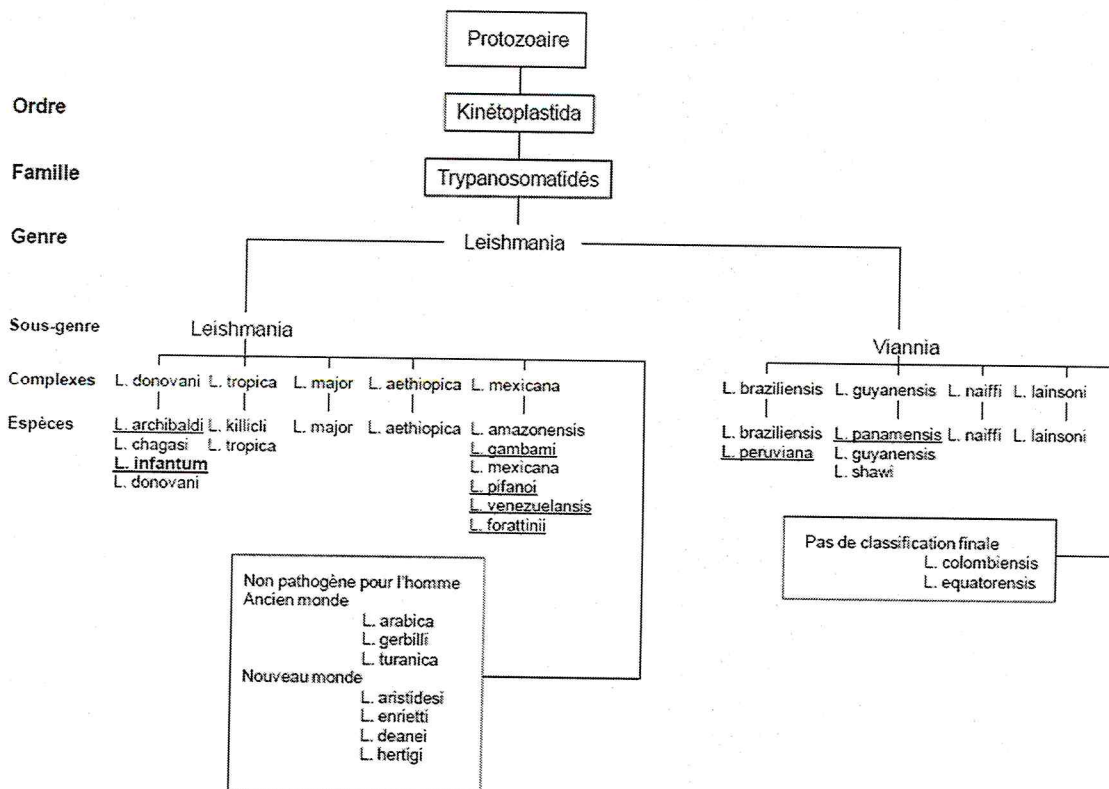


Figure n°2: Taxonomie de *Leishmania* (Le classement des espèces soulignées est ou a été controversé) (1)



### III.2. Morphologie du parasite :

Les leishmanies sont des **protozoaires flagellés** se présentant sous **deux aspects morphologiques** distincts, chez le vertébré et le vecteur invertébré.

#### III.2.1. Promastigote : (Figure n<sup>o</sup>3)

Fusiforme, allongée, elle mesure 15 à 20  $\mu\text{m}$  de longueur et est munie d'un flagelle développé avec une portion libre importante. La membrane ondulante est absente et un kinétosome est en position postéro-nucléaire et qui est uniquement présente chez le vecteur et en culture.

#### III.2.2. Amastigote : (Figure n<sup>o</sup>4)

Apparaît sous une forme dépourvue de flagelle donc arrondie ou ovoïde, de 3-4  $\mu\text{m}$  de diamètre, avec un noyau volumineux, un kinétosome punctiforme. Le flagelle strictement intra-cytoplasmique est appelé rhizoplaste. Elle est intracellulaire chez les sujets parasités, elle est présente dans les vacuoles parasitophores, au sein des cellules du système des phagocytes mononuclés (macrophages, histiocytes, cellules de Küppfer et monocytes). Ce parasite est donc largement dispersé dans l'organisme de l'hôte et est retrouvé dans la peau, les nœuds lymphatiques, les cellules souches de la moelle osseuse et divers organes tels que le foie et la rate mais très peu dans le sang. (12)



Figure n<sup>o</sup>3: Forme promastigote

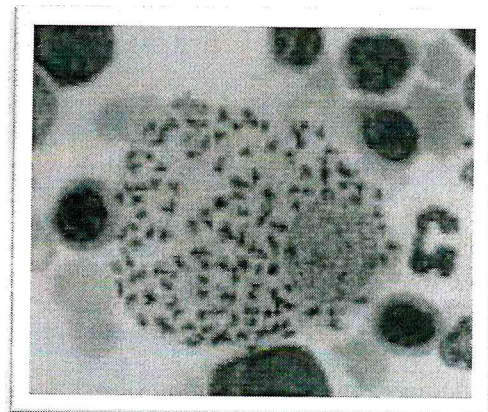


Figure n<sup>o</sup>4: Forme amastigote dans un Macrophage

### III.3. Cycle du développement :

En résumé : le cycle commence par la piqûre d'un hôte parasité par un phlébotome et se termine par l'inoculation de formes infectantes à un hôte réceptif par ce même phlébotome.

Les leishmanies sont ingérées par un phlébotome femelle au moment du repas sanguin sous la forme amastigote hébergée dans les vacuoles parasitophores des macrophages de la lymphe dermique.

Ces cellules éclatent lors de l'ingestion et libèrent les leishmanies. Le repas sanguin est enveloppé par la membrane péritrophique sécrétée par les cellules intestinales. Les leishmanies se multiplient une à deux fois sous la forme amastigote par scissiparité puis se transforment en promastigotes, (il semblerait que le sang des vertébrés contienne des facteurs inhibant la transformation en promastigote et que les phlébotomes produisent une enzyme protéolytique qui détruirait ces facteurs). (27) (12)

La membrane péritrophique se rompt par l'action d'une enzyme produite par le parasite et libère les leishmanies qui se rendent dans leur lieu de multiplication vers l'intestin médian abdominal et s'y fixent à l'aide de leur flagelle.

Elles migrent ensuite dans l'intestin médian thoracique et deviennent très infectantes pour les hôtes. Elles s'accumulent ensuite dans la valve stomodéale séparant l'intestin médian et antérieur. (27) (12)

Le phlébotome infesté présente une modification dans le fonctionnement de son tube digestif, la valve séparant l'œsophage et l'intestin disparaît ce qui permet la régurgitation lors du repas suivant et l'infection d'un nouvel hôte par les leishmanies. (12)

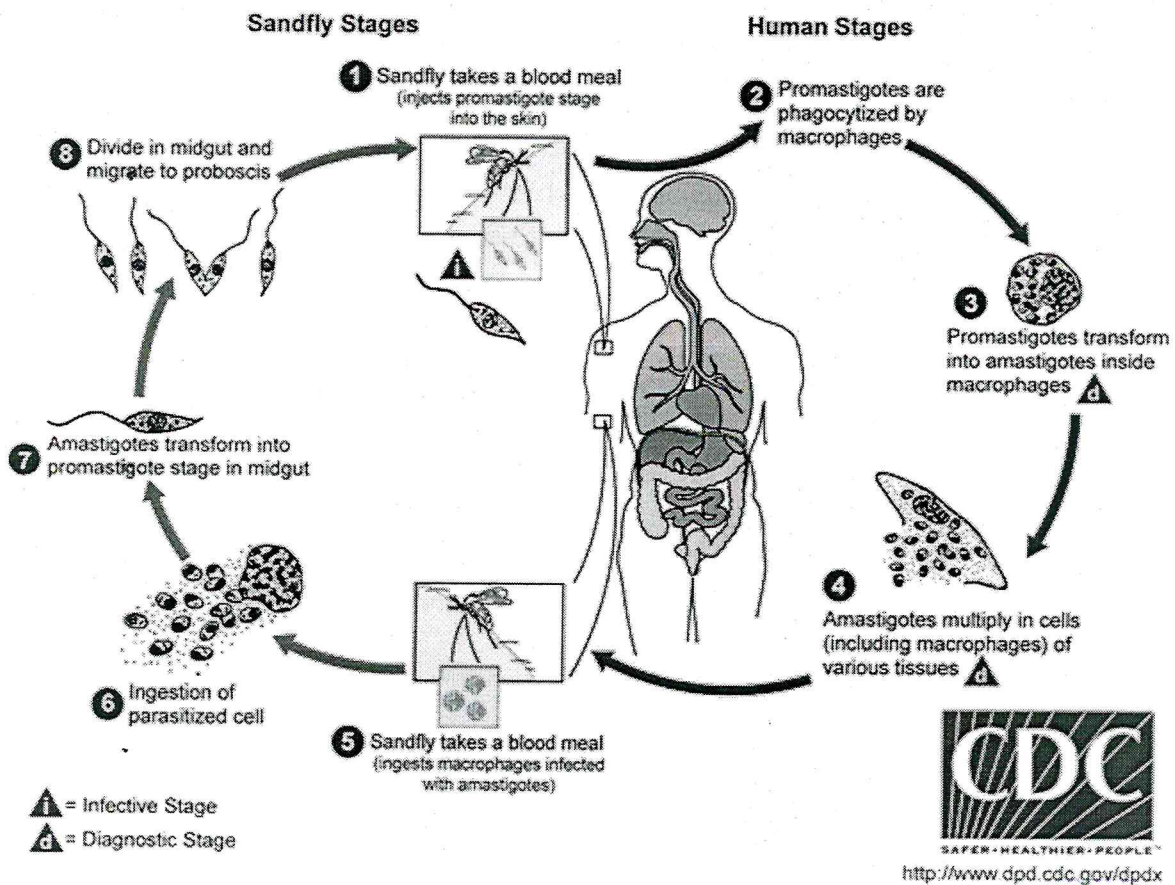


Figure n°5: Cycle biologique de *Leishmania* spp (Centers for Disease Control and Prevention-Leishmaniasis).



#### IV. Etude du vecteur :

##### IV.1. Définition et Taxonomie :

Les seuls vecteurs de leishmaniose établis avec certitude sont les phlébotomes. Le phlébotome est un insecte diptère, nématocère, de la famille des Phlébotomidés.

Les phlébotomidés sont divisés en 3 sous-familles. Seuls deux sous-familles jouent un rôle en matière de leishmaniose : les Phlébotominés, localisés à l'Ancien Monde, et les Lutzomynés, localisés à l'Ancien et au Nouveau Monde.

On distingue différentes espèces de phlébotomes, dont l'importance dans la transmission de la leishmaniose canine varie selon la région autant à l'échelle mondiale que nationale (55). Le phlébotome femelle. Il est très répandu dans tous les pays méditerranéens et surtout en Amérique latine.

Les pays méditerranéens particulièrement concernés sont :

- Portugal
- Espagne
- France
- Italie
- Grèce
- Malte
- Turquie
- Israël
- Egypte
- Tunisie
- Maroc
- Algérie
- Libye

Dans ces pays, la " saison " phlébotomes dure de mai à septembre, voire octobre lorsque l'été se prolonge.

##### IV.2. Morphologie :

Le phlébotome (figure n°4) est un moustique de petite taille, environ 2 à 4 mm, très velu, lancéolé, bossu et de couleur jaunâtre. Ses ailes sont aussi très velues dressées en forme de V au repos (12). Sa faible dimension, sa pâleur et son vol silencieux fait qu'il est rarement remarqué et il est actif la nuit (56).



Figure n<sup>o</sup>6: Photographie de *Phlebotomus perniciosus* (Issue du site diptera.info)

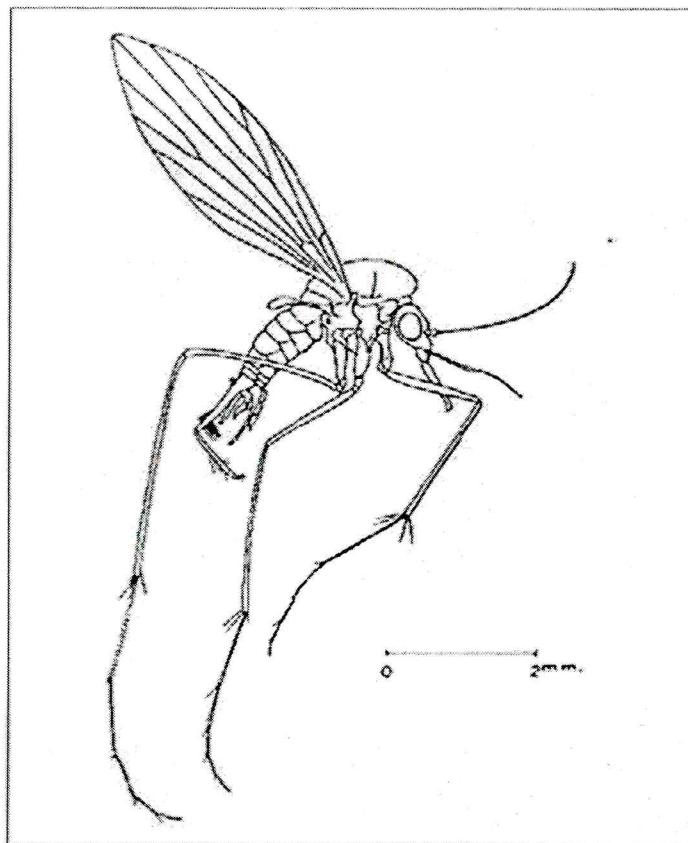


Figure n<sup>o</sup>7: Schéma morphologique d'un phlébotome mâle adulte (66)

### IV.3. Biologie du phlébotome :

#### IV.3.1. Habitat :

Dans la journée, les adultes vivent dans des recoins obscurs où ils trouvent une humidité suffisante et une température constante comme dans des crevasses rocheuses des terriers de rongeurs, des caves humides, les abris du bétail, les herbes hautes, les troncs d'arbre... (65) (46)

Il faut noter que les conditions de température et d'altitude définies pour une espèce de Phlébotomes sont différentes lorsque l'on change de latitude car la végétation se modifie aux mêmes altitudes ce qui influe sur la biologie du vecteur. (64). Ces paramètres sont à prendre en compte lorsque l'on essaie de prédire l'extension de la zone d'activité du vecteur et de la maladie. Les larves de phlébotomes sont détriticoles et affectionnent particulièrement les crottes de lapin. On a donc tendance à les trouver dans les bois, les terriers, ou les clapiers.

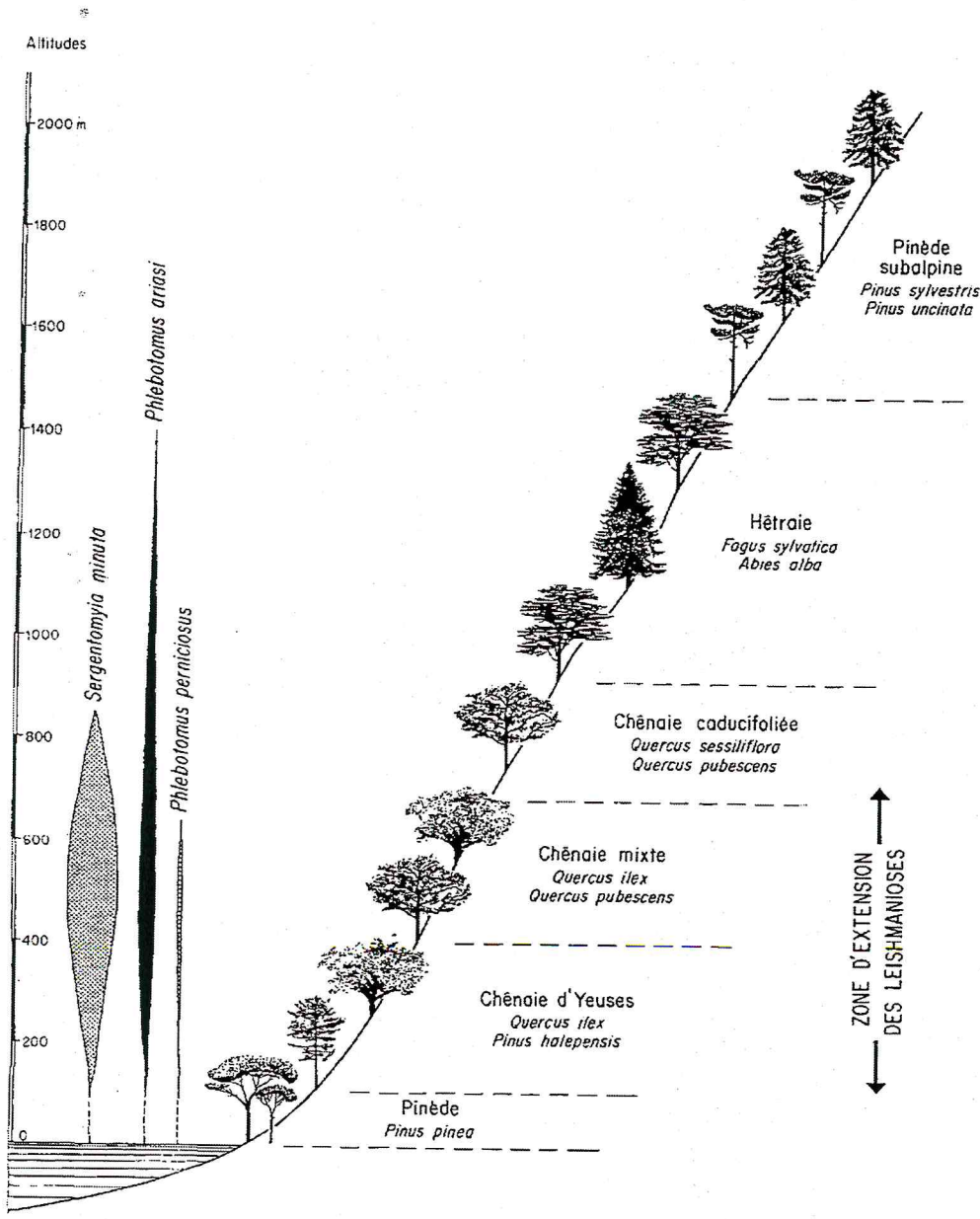


Figure n°8: Répartition et fréquences en Languedoc de Phlebotomus ariasi et P. perniciosus en fonction de l'altitude et des étages de végétation (27)



**IV.3.2. Activité :**

Leur activité est plutôt crépusculaire et estivale, la survie hivernale étant assurée par les stades larvaires en diapause. Elle repose sur la recherche du sang. Les déplacements nécessaires pourraient atteindre 1 km dans des conditions idéales (12).

**IV.3.3. Nutrition :**

Les femelles se nourrissent sur les mammifères essentiellement les chiens et les canidés sauvages (zones les moins velues : oreilles, museaux), les oiseaux, les reptiles. Le repas sanguin dure de 30 secondes à 5 minutes jusqu'à ce que l'estomac soit complètement rempli, le repas peut être interrompu et le phlébotome repique le même hôte ou un hôte différent.

Les repas sanguins sont indispensables à la maturation des œufs mais les femelles peuvent aussi se nourrir comme les mâles de jus sucrés contenant du fructose qu'ils trouvent dans les végétaux et les miellats de pucerons. Il est d'ailleurs possible que le fructose soit indispensable à la maturation des leishmanies. (27) (47)

Le phlébotome est infestant 15 jours environ après le repas qui l'a contaminé et le reste toute sa courte vie. (8)

**IV.3.4. Cycle évolutif :**

La copulation a lieu au début du stade adulte, elle se produit le soir ou le matin. La maturation des œufs s'effectue simultanément avec la digestion du sang. Il y a environ 100 œufs par femelle. La ponte a lieu 5-10 jours après la copulation dans des milieux humides à température relativement constante et proche de matières organiques nécessaires à la nutrition des stades larvaires (33) comme les terriers, les décombres, la couche supérieure des sols meubles, les fissures des murs. La nymphose se fait dans un lieu moins humide et la nymphe donne l'adulte 7-10 jours plus tard. La durée du cycle de développement est de 35 à 60 jours selon les conditions climatiques. (27) (65) La durée de vie des femelles varie de 2 semaines à 2 mois, en fonction de la température et de l'hygrométrie (plus celles-ci sont élevée plus elles vivent longtemps). (27)

En Algérie, du fait des températures basses en hiver, il existe une phase d'adaptation hivernale qui intéresse la dernière génération dont le développement est stoppé au 4ème stade larvaire : c'est la diapause hivernale, qui dure environ d'octobre à mars. Ces larves donneront au printemps la première génération dont l'émergence est déclenchée par l'élévation de température dont le seuil est de 18-20° (27) (65). Si l'on assiste à une augmentation des températures, cette diapause pourrait se raccourcir et les périodes de transmission du parasite pourraient être modifiées.

#### IV.4. Les espèces vectrices de leishmaniose infantum présente en Algérie :

##### IV.4.1. Répartition et caractéristique :

Les espèces incriminées dans la transmission sont *Phlebotomus larroussius perniciosus*, Newstead, 1911, *Phlebotomus phlebotomus papatasi*, Scapoli, 1786 et *Phlebotomus larroussius perfiliewi*, Parrot, 1930.

L'Algérie est divisée du Nord au Sud en cinq zones bioclimatiques distinctes : humide, subhumide, semi-aride, qui correspondent aux hauts plateaux et à l'Ouest algérien, aride et saharienne, qui représentent 70% du pays.

*Phlebotomus perniciosus* et *Phlebotomus perfiliewi* sont rencontrés au Nord du pays dans la zone bioclimatique subhumide. Dans la zone steppique aride pullule *Phlebotomus papatasi*, qui s'adapte bien au climat, il est également présent dans la zone semi-aride du Nord-Ouest algérien.

#### V. Etude de réservoir de la leishmaniose en Algérie :

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

En Algérie, la leishmaniose viscérale admet le chien comme réservoir, depuis les travaux des frères Sargent en 1910 (71). Plus tard, Dedet et al. en 1977 (26), ont montré que 11.4% des chiens de la Grande Kabylie étaient atteints. Ce rôle de réservoir n'a été admis que par déduction, et ce sont les travaux de Belazzoug et al. (1984-1985 et 1987)(3-5) qui ont confirmé le rôle joué par cet animal et fait la corrélation entre foyer de leishmaniose canine et leishmaniose viscérale humaine.

La leishmaniose canine concerne tout le territoire national avec une prévalence qui varie d'une région à une autre. Sa fréquence est passée de 11.4% (26) à 15.19% (5) et, au cours d'une enquête plus récente dans l'Algérois, réalisée à l'institut Pasteur d'Algérie, cette fréquence était de 36.5% (6). Parmi les chiens séropositifs, 25% étaient asymptomatiques.

Le réservoir de la leishmaniose cutanée zoonotique est représenté essentiellement par deux rongeurs sauvages gerbillidés. Le premier découvert est naturellement infesté par *L. major* au niveau du foyer de M'sila, le *Psammomys obesus* (2), et le second, *Meriones shawi*, au niveau du foyer de Ksar chellala (4).

Concernant le variant enzymatique de la leishmaniose cutanée, le chien, fortement suspecté, est confirmé comme réservoir (27).



**VI. Epidémiologie de la leishmaniose :****VI.1. Réceptivité et sensibilité :****VI.1.1. Espèces hôtes :**

La leishmaniose atteint l'homme, le chien et certains carnivores comme le renard (29) et le chacal, des cas de leishmaniose équine et Féline (75) ont été décrits.

Dans certains pays (Espagne, Italie), des leishmanies ont été mise en évidence chez le rat noir (55), d'autres cas sont réceptifs comme les bovins, les ovins ou les caprins (12).

Le chien, réservoir domestique :

La notion de réservoir désigne une espèce qui assure le maintien d'une population d'agent pathogène dans des conditions naturelles.

Au départ, le réservoir primaire était les mammifères comme les rongeurs ou les canidés sauvages. Cependant, avec le processus croissant d'urbanisation du cycle zoonotique, les animaux domestiques ont joué un rôle de plus en plus important (24).

Le chien constitue le principal réservoir, le renard n'étant qu'un réservoir secondaire (29).

**VI.1.2. Age et race :**

La leishmaniose peut atteindre les chiens de tout âge (29), les adultes sont plus touchés (74) mais la manifestation de la maladie est moins grave par rapport aux chiens de jeune âge.

Aucune prédisposition raciale n'est prouvée dans la leishmaniose canine ,

Une étude de Denerolle a montré une incidence chez le boxer plus importante par rapport à la population de référence.

En Algérie, une étude de Mejdoubi en 1979 a montré une prédisposition des races locales.

**VI.2. Mode de transmission :****VI.2.1. Transmission vectorielle :**

Que soit chez l'homme ou le chien, la transmission des leishmanies se fait par la piqûre d'un moustique hématophage femelle phlebotomus sp (18).

**VI.2.2. Transmission non vectorielle :**

Les leishmanies peuvent être transmises par transfusion sanguine ou par partage de seringues infectées chez les toxicomanes (58).

La transmission par contact direct est impossible du fait que les leishmanies ne résistent pas dans le milieu extérieur (12).

Une étude de Silva et coll en 2009 a montré qu'une transmission par voie vénérienne de *leishmania chagasi* proche de *leishmania infantum* est possible.

Une autre forme de transmission non vectorielle est la transmission verticale, le fœtus s'infecte durant la gestation ou à la naissance, en 2005 une étude (67) a montré qu'une transmission transplacentaire de *leishmania infantum* était possible chez des chiens de race beagle infectés expérimentalement.

**Chapitre II :****I. Symptômes :**

Il existe un tableau clinique classique bien connu par tous les vétérinaires :  
Chien apathique, couvert de squames amantiacées aux ganglions lymphatiques hypertrophiés.  
Malheureusement les chiens leishmaniens présentent rarement un tableau si complet.

Il est en effet difficile de poser un diagnostic clinique car la leishmaniose est une maladie protéiforme et il existe des formes surprenantes de leishmanioses qualifiées d'atypiques.

Le caractère protéiforme de la leishmaniose est très bien illustré par les études de Dénerolle (28) et de Bourdeau (9).

**Tableau I:** Symptômes observés par Bourdeau (306 cas).

	Sans réponse	Rare	Fréquent	très fréquent
Amaigrissement	19.6	8.9	53.9	9.5
Anémie	30.3	36.9	28.1	4.6
Hyperthermie	31.7	52.5	13.1	2.3
Epistaxis	27.4	39.9	27.1	5.2
Alopécie localisée	25.1	10.4	34.0	30.4
Squamosis	18.3	3.3	24.8	53.6
Ulcération	25.1	13.7	38.7	22.5
Adénopathies	16.0	3.6	27.8	52.6
Troubles oculaires	29.4	31.0	35.6	3.9
Troubles rénaux	27.5	23.5	38.9	10.1
Troubles digestifs	33.0	54.5	9.5	2.9
Splénomégalie	26.5	17.3	43.8	12.4
Autres	74.8	10.1	9.8	5.2

**Tableau II:** Symptômes observés par Dénerolle (125 cas).

Manifestations	Nombre de cas/125	Pourcentage	Nombre de cas/100 (Slappendel)
Symptômes cutanés	102	81.6	89
Squamosis	84	67.2	
Ulcères	41	32.8	
Nodules	21	16.8	
Pustulose	2	1.6	
Dermatofibrose	2	1.6	
Pyodermite secondaire	35	28	
Symptômes généraux*	84	67.2	70
Adénopathie	89	71.2	90
Insuffisance rénale	29 dont 5 IRA	23.2	32
Splénomégalie	21	16.8	15
Epistaxis	13	10.4	37
Algies	8	6.4	0.8
Uvéites	6	4.8	
Ostéite 3 <sup>ème</sup> phalange	5	4	
Hyperviscosité sanguine	3	2.4	
Diarrhée hémorragique	2	1.6	12.5
Purpura	2	1.6	
Conjonctivite nodulaire	2	1.6	
Stomatite ulcéreuse	1	0.8	

\*fièvre. Amaigrissement. Fatigué. Diminution de l'appétit.

### I.1. Symptômes généraux :

Selon Dénerolle, ils sont présents dans 67.2% des cas (28).

#### I.1.1. Amaigrissement :

Il est très fréquent, correspond à une amyotrophie (état différent de la maigreur) s'intensifiant avec l'aggravation de la maladie pouvant aboutir à la cachexie. Cette amyotrophie est particulièrement notable au niveau des fosses temporales (muscles crotaphites) ce qui confère au chien leishmanien un aspect sénile.



**I.1.2. Anémie :**

Une anémie est parfois mise en évidence lors de l'examen par la pâleur des muqueuses, elle sera confirmée par la réalisation d'une hématologie.

**I.1.3. Hyperthermie :**

Elle est modérée (39°C-39.5°C), fugace et intermittente donc rarement décelée.

**I.2. Symptômes viscéraux :**

Ils sont une conséquence directe de l'atteinte du système réticulo-histocytaire(SRH).

**I.2.1. Adénomégalie :**

L'adénomégalie est le symptôme le plus fréquent (71.2% selon Denerolle(28)). Elle est généralisée mais touche principalement les ganglions poplités, pré-scapulaires, sous maxillaires et rétro pharyngiens (10). Les ganglions sont durs lisses, mobiles et indolores ce qui facilite leur ponction.

**I.2.2. Splénomégalie :**

La splénomégalie est plus discrète chez le chien que chez l'homme, la rate peut être douloureuse à la palpation.

**I.2.3. Hépatomégalie :**

Elle est rarement détectée lors de la consultation, elle est cependant fréquente à l'examen post-mortem.

**I.2.4. Insuffisance rénale :**

L'atteinte rénale est une conséquence de la réponse immunitaire, elle s'explique par le dépôt de complexes immuns sur la membrane basale des glomérules provoquant ainsi une glomérulonéphrite.

Cliniquement l'insuffisance rénale se traduit par une anorexie, une polyurie-polydipsie, des vomissements, elle doit être évaluée par les dosages sanguins de l'urée et la créatinine qui représente une valeur pronostique. Cela est d'autant plus important que les traitements aggravent notoirement cette insuffisance rénale.



### **I.3. Symptômes cutanéomuqueux :**

#### **I.3.1. Chancre d'inoculation :**

Le chancre d'inoculation correspond au point de piqure du phlébotome(76). On l'observe sous forme d'une lésion érythémato-papuleuse quelques mois après la piqure. Cette lésion est éphémère : la papule grossit (pouvant atteindre 2 cm) puis s'ulcère avant de disparaître. Le chancre d'inoculation est à rechercher préférentiellement au niveau de la face : chanfrein, truffe ou face interne des oreilles c'est à dire sur les zones faiblement recouvertes de poils lieu de prédilection pour la piqure du phlébotome. Tout chien présentent ce type de lésion en zone d'endémie doit être surveillé : lors d'une étude menée par dénerolle (28), les sérologies des 4 chiens ayant présenté un chancre d'inoculation ne se sont révélées positives.

Qu'après disparition de la lésion et apparition des premiers signes cliniques, ils ont été fréquemment observés (37) (53) dans une étude menée par Dye and coll (32).

#### **I.3.2. Dépilations (35):**

Elles sont progressives et diffusés, elles donnent au pelage un aspect mité. Elles sont localisées essentiellement à la tête avec apparition de lésions symétriques autour des yeux (on parle de lunettes) et sur le bord libre des oreilles, ou aux zone de peau reposant sur des saillies osseuses (coude, jarret). Ces zones alopeciques sont prurigineuses et peuvent se généraliser.

#### **I.3.3. Troubles de la kératogénèse :**

L'hyperkératose orthokératosique se traduit par un épaissement de la couche cornée de l'épiderme donnant à la peau un aspect cartonné à l'origine de lésions pseudo crouteuses au niveau du chanfrein, des coussinets plantaires et de la truffe qui devient sèche, fendillée et dépigmentée.

L'hyperkératose parakératosique est à l'origine du furfuramantiacé, c'est à dire de la production de squames brillantes de taille variable intéressant tout le corps ou seulement les zones dépilées.

On observe également une poussée exagérée des griffes ou onychogriphose (20) qui peut s'accompagner d'œdème ou d'infiltration interdigitée. Ces ongles trop longs peuvent gêner la démarche du chien. Les griffes du chien leishmanien sont beaucoup plus friables contrairement à celles du chien qui ne les use pas par simple manque d'exercice.

**I.3.4. Ulcérations (35) :**

Il peut s'agir de simples exulcérations ou de véritables ulcères, on les observe essentiellement aux zones de saillies osseuses, aux régions interdigitées et à la truffe. Ces ulcères ne cicatrisent pas. Leur importance ne se situe pas au niveau de leur fréquence mais au niveau du risque zoonotique qu'ils comportent : ils saignent facilement et laissent sourdre une lymphange chargée de leishmanies rendant la contamination directe théoriquement possible même si elle n'a pas été observée.

**I.3.5. Nodules (38):**

Observés en particulier sur le thorax et les lombes des chiens de race à poils courts (boxer, pointer, braque), ils sont indolores volumineux et déforment l'aspect de l'animal, ils peuvent croître rapidement pour ensuite régresser spontanément. Ils concernent le tissu conjonctif sous cutané. Après excision, l'analyse histopathologique révèle l'existence de leishmanies extrêmes nombreuses dans les histiocytes. Il a été mis en évidence une relation entre les manifestations cutanées du chien leishmanien et son statut immunologique : les chiens présentant une dermatite alopecique montrent un contrôle efficace de la maladie contrairement aux chiens présentant de tels nodules.

**I.3.6. Atteinte des muqueuses :**

Les muqueuses sont le siège d'inflammations plus ou moins discrètes entraînant des éternuements (rhinite), de la toux (trachéite, bronchite), de la diarrhée (entérite) pouvant aller jusqu'aux ulcères responsables d'épistaxis, d'entérite hémorragique, ou bien d'hématurie. Ces hémorragies (en particulier l'épistaxis) peuvent constituer à elles seules le motif de consultation.

**I.3.7. Signes oculaires :**

Les atteintes oculaires sont assez fréquentes, leur polymorphisme a très bien été décrit dans les travaux de Roze (69). Elles concernent surtout le segment antérieur. La conjonctivite est presque toujours de règle, elle est intense (forte hyperhémie), elle peut être nodulaire chez le boxer ou succulente (chemosis important) et dans ce cas bilatérale. La membrane nictitante peut porter des granulomes riches en parasites pathognomoniques de la leishmaniose. La kératite peut être superficielle ou stromale. Elle est rarement isolée :

Elle est fréquemment le siège d'hémorragie rétinienne. Des complications de kérato-conjonctivite sèche, de pigmentation cornéenne, de surinfection et d'hypertonie en cas d'iritis sont fréquentes. L'analyse de l'humeur aqueuse révèle une protidémie élevée et une hypergammaglobulinémie comparables à celle observée dans le sérum, par contre il n'y a aucun lien entre l'évolution clinique des troubles oculaires et le titre d'anticorps séreux contrairement à ce qui se passe dans les formes cutanées. Après le traitement les signes oculaires persistent ou régressent lentement. Le praticien devra porter une attention particulière à toute aggravation des signes oculaires signalant une rechute précoce.

#### **I.4. Autres signes : l'atteinte nerveuse et osseuse :**

Les articulations peuvent être le siège de lésions de polyarthrite et une prolifération périostée traduite par une augmentation de la radio opacité intramédullaire est possible sur les os longs et plats. Des troubles moteurs de parésie, voire de paralysie des nerfs périphériques (crural, sciatique et poplité) ont été décrits par Cabassu (20).

#### **I.5. Remarque :**

A la vue de ce catalogue de symptômes il serait bon de se demander si ces symptômes sont réellement dus à une leishmaniose et ne proviennent pas de l'affaiblissement du chien alors plus réceptif aux affections secondaires, pour parler de symptôme de leishmaniose, il faudrait observer une guérison par le traitement spécifique de la leishmaniose.

Même si tous les symptômes cités précédemment, couvrent pratiquement tous les motifs de consultation d'une journée de consultation même en zone d'endémie, ils sont loin d'évoquer systématiquement au praticien en première intention une leishmaniose.

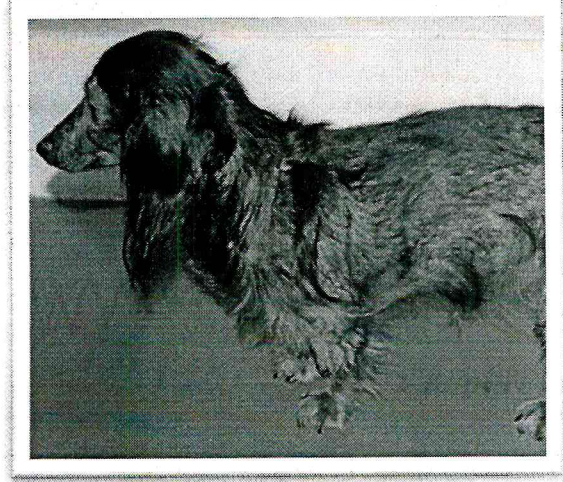
Les symptômes faisant suspecter une leishmaniose en première intention sont les suivants : **l'amaigrissement, l'anémie, l'adénomégalie, l'insuffisance rénale chez un jeune chien, le chancre d'inoculation, les dépilations (lunettes), les troubles de la keratogénèse (furfur, onychogriphose), enfin les ulcérations.**



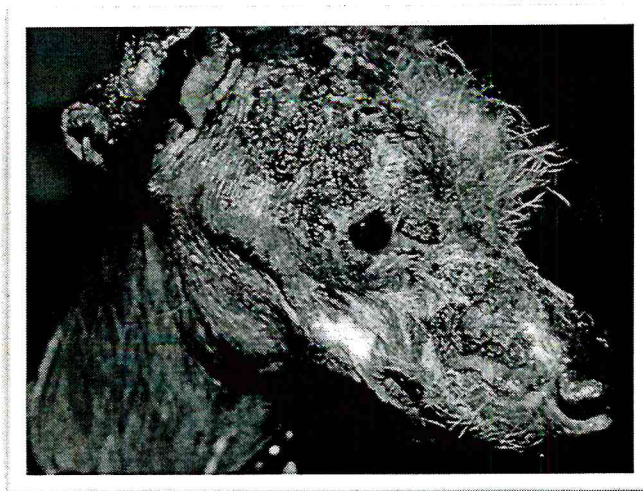




**Figure n<sup>o</sup>9:** Dans la leishmaniose canine, les lésions cutanées autour des yeux sont fréquentes et plus ou moins marquées.



**Figure n<sup>o</sup>10:** Chien atteint d'une forme cutanée classique de leishmaniose. Des lésions cutanées sont présentes sur tout le corps.



**Figure n<sup>o</sup>11:** Forme grave de leishmaniose canine avec présence d'importantes ulcérations cutanées.



## II. Diagnostic :

### II.1. Mise en évidence directe des leishmanies :

#### II.1.1. Microscopie :

Les parasites intra-monocytaires sont recherchés après fixation à l'alcool et coloration par la technique de May-Grünwald-Giemsa de calques cutanés, d'adénogrammes ou de myélogrammes. Les parasites présents dans le cytoplasme sont de forme ronde ou ovale et mesurent de 1.5 à 3 µm sur 2.5 à 5 µm. (48) (7).

Cette méthode est réalisable au cabinet par le vétérinaire praticien un peu expérimenté et permet en cas de mise en évidence du parasite de confirmer très simplement et rapidement le diagnostic. Malheureusement sa sensibilité est faible (60%) (60).

Il convient de privilégier, en cas d'adénomégalie, la ponction de ganglion qui est la technique la plus sensible et l'absence d'adénomégalie, de réaliser une ponction de moelle osseuse. La sensibilité décroît ensuite si l'observation se fait à partir d'une ponction d'un nodule cutané à l'aiguille fine, d'un frottis conjonctival, d'une biopsie cutanée. (41)

La probabilité d'observer les leishmanies est plus importante en début d'évolution de la maladie, la charge parasitaire est, en effet, plus élevée car la multiplication est plus intense, elle est ensuite limitée du fait de la réponse immunitaire de l'organisme. (41)

#### II.1.2. Polymerase Chain Reaction (PCR) :

C'est une méthode très sensible (97%) (48). Elle met en évidence l'ADN de *Leishmania*, même présent en faible quantité, dans les ponctions ganglionnaires ou de moelle. C'est la technique de choix pour l'établissement de la parasitémie.

Elle nécessite des équipements sophistiqués et est très sensible aux contaminations, elle est donc réalisée uniquement dans des laboratoires spécialisés. Il faut tout de même retenir que 80% des chiens asymptomatiques vivant en zone d'enzootie peuvent présenter de l'ADN de *Leishmania* dans la peau et les muqueuses mais seulement 10% dans les ganglions. (60)

L'inconvénient de cette technique est qu'elle ne fait pas la différence entre les leishmanies vivantes et l'ADN leishmanien résiduel, il est préférable de l'utiliser pour confirmer le diagnostic et non dans le cadre d'un suivi thérapeutique. (41)

**II.1.3. Culture :**

Le parasite est cultivé dans le milieu de Nicolle-Novy- Mac Neal à partir d'un prélèvement. C'est la méthode de référence, mais elle nécessite quelques semaines d'incubation. Elle n'est réalisée que par les laboratoires de recherche. (60)

La rate, les nœuds lymphatiques et la moelle osseuse sont les prélèvements de choix à la mise en culture.

En pratique, la culture n'est plus utilisée du fait du trop long délai d'incubation et des contaminations microbiologiques éventuelles mais est indispensable pour définir les zymodèmes et éventuellement caractériser d'autres espèces.

**II.2. Mise en évidence indirecte des leishmanies :****II.2.1. Méthodes non spécifiques :****II.2.1.1. Hématologie :**

La leishmaniose peut entraîner des modifications de l'hémogramme, elles ne sont pas toujours observées mais on peut parfois noter :

- Une anémie arégénérative normochrome normocytaire et /ou une thrombocytopénie
- Une leucocytose avec granulocytose en début de maladie
- Une leucopénie plus tardive
- Une monocytose (fréquemment)
- Des troubles de la coagulation, les temps de saignement et de coagulation sont souvent augmentés. (60) (7) (45)

**II.2.1.2. Biochimie :**

Les protéines totales sont souvent augmentées en général leur taux est supérieur à 80g/L. Leur électrophorèse met en évidence un pic bêta3-gamma. Une hyperglobulinémie est présente associée à une hypoalbuminémie dans plus de 90% des cas. Le rapport albumine sur globuline peut être un paramètre intéressant dans le cadre du suivi thérapeutique, il augmente progressivement. (60) (45)

Les paramètres rénaux peuvent également être affectés. Ils sont à évaluer et à suivre en cours de traitement car les antimoniés sont néphrotoxiques. (60)

Le bilan hépatique peut mettre en évidence une augmentation des transaminases. (60)

Les résultats des examens hématologiques et biochimiques permettent de formuler un pronostic et d'instaurer le traitement le mieux adapté. (41)

### II.2.1.3. Formo-leuco-gélification (FLG) :

Il s'agit d'un test qui traduit la forte concentration du sérum en protéines (dont les globulines) en les faisant précipiter sous forme visible en ajoutant quelques gouttes de formol au sérum. La prise en masse et l'opalescence traduisent cette hyperglobulinémie.

### II.2.2. Méthodes spécifiques :

#### II.2.2.1. IFI :

C'est la technique de référence répertoriée par l'OIE (Office International des Epizooties). Elle est utilisée dans les études épidémiologiques, en pratique clinique ainsi qu'en suivi de traitement (52). Elle utilise des formes promastigotes de culture comme antigène (Speed Leish®) et fait appel à des réactifs spécifiques d'espèce (anti-IgG de chien). La lecture du test est manuelle. Il n'existe a priori pas de réactions croisées avec d'autres protozoaires.

L'IFI est sensible et spécifique. La sensibilité est de l'ordre de 95 % (mais varie selon les publications de 21,6 % (73) à 100 % (21)) et la spécificité est considérée comme très bonne (63). La séroconversion est généralement rapide chez le chien (en moyenne trois semaines).

L'antigène est constitué par une suspension de formes promastigotes déposés en plots sur une lame. Les anticorps présents dans le sérum (mais aussi dans le liquide céphalo-rachidien ou dans l'humeur aqueuse) du chien malade vont se fixer sur ces formes promastigotes à différentes dilutions, ce qui permet d'établir le titre du sérum testé. Les lames sont ensuite traitées par un composé fluorescent se fixant sur les immunoglobulines canines.

Le seuil est fixé par le laboratoire, mais il est habituellement de 1/80 ou 1/100. Le titre obtenu doit bien évidemment être réinterprété par le vétérinaire en fonction du contexte épidémiologique et clinique du chien.

Une sérologie négative ne permet pas d'exclure définitivement l'hypothèse d'une leishmaniose. Un animal en début de contamination ou ayant une immunité cellulaire solide peut se révéler faussement négatif.

Une sérologie positive a une excellente valeur diagnostique chez un animal malade. Cependant, il existe en zone d'endémie un nombre non négligeable de porteurs asymptomatiques. Cette fréquence de séropositivité est accrue en période d'activité des phlébotomes, c'est-à-dire d'avril à octobre (25 % des chiens sains en Espagne par exemple) (63).



### II.2.2.2. ELISA :

C'est une méthode quantitative et une technique qui a l'avantage d'être automatisable contrairement à l'IFI. La lecture est objective. Elle est très sensible et utilisée principalement dans le cadre d'études épidémiologiques (car permet de diagnostiquer un grand nombre d'échantillons) (63).

Les antigènes (extrait protéique de cultures de promastigotes) sont fixés sur un support en polystyrène. Après incubation avec le sérum à tester, on révèle la réaction par une antiglobuline couplée avec des enzymes. L'ajout d'un substrat chromogène à cette enzyme révèle la réaction (48). Le titrage en anticorps du sérum est réalisé par mesure de la densité optique, puis converti en unités par analogie avec un sérum canin étalon.

### II.2.2.3. Western Blot :

C'est une méthode qualitative très spécifique qui offre l'intérêt de détecter les anticorps spécifiques d'antigènes de *Leishmania infantum* préalablement séparé des autres par électrophorèse.

Le principe du Western Blot est identique à celui d'une technique ELISA, mais au lieu d'utiliser comme substrat un antigène donné, on effectue l'examen sur une bande de cellulose sur laquelle a migré l'extrait antigénique. On peut ainsi mettre en évidence la présence d'anticorps dirigés contre des antigènes différents.

Ce test qui n'apporte rien en routine car très bien corrélé avec l'IFI peut être utilisé pour lever un doute face à des résultats d'examens discordants (+4). Il est, en effet, très sensible et permet de dépister la présence d'anticorps chez les porteurs asymptomatiques.

Le Western Blot n'est pas applicable en routine car il demande une grande technicité, prend du temps et coûte cher. Son utilisation est limitée à la recherche ou préconisé lors de suspicion de leishmaniose féline.

### II.2.2.4. Tests rapides :

Le Speed Leish® méthode immuno-chromatographique, le Snap Leish® (Iddex) méthode immuno-enzymatique, le Witness Leishmania® (Synbiotics) méthode immuno-chromatographique. Le Speed Leish® présente la meilleure sensibilité (93.1%), alors que le Snap Leish® présente une meilleure spécificité (100%).



L'examen se fait à partir de sérum, de plasma ou de sang total. La positivité correspond à l'apparition d'une bande ou d'un point en plus du témoin positif. Ces tests font appel à une réaction entre les anticorps présents dans le sérum du malade et des peptides obtenus à partir du surnageant d'une culture de parasites.

Ce sont donc des tests à utiliser de préférence chez des chiens présentant des signes cliniques évoquant la leishmaniose. Un chien dont le résultat est positif et cliniquement atteint sera déclaré malade. Sans signes cliniques, le chien peut être simplement un porteur asymptomatique (19).

Ces tests sont rapides, très utiles en urgence par exemple (lors d'insuffisance rénale grave) et réalisables par le praticien, mais semblent moins sensibles lors d'infection mixte (19).

### **III. Pronostic :**

La guérison clinique est possible mais pas parasitologique avec le traitement préconisé en médecine vétérinaire, en effet, même si tous les tests sont négatifs quelques leishmanies persistent dans les nœuds lymphatiques qui constituent un « tissu refuge ».

Des guérisons parasitologiques ont cependant été observées avec un traitement à base d'amphotéricine B en solution lipidique. (49)

Le suivi de l'animal est essentiel et les symptômes annonciateurs d'une rechute doivent être décrits précisément au propriétaire : abattement, ulcères cutanés, épistaxis, squamosis. Il est conseillé de faire une visite de contrôle au minimum 2 fois par an accompagnée d'un bilan hématologique (FNS, biochimie, électrophorèse des protéines) et d'un contrôle sérologique selon une méthode quantitative précise toujours réalisée dans le même laboratoire afin de pouvoir comparer les résultats. (14)

### **IV. Traitement :**

#### **IV.1. Recommandations et réflexions avant la mise en place d'un traitement :**

Avant d'envisager un traitement le vétérinaire doit informer le propriétaire du caractère zoonotique de la maladie en lui précisant que :

- la transmission se fait quasi-exclusivement lors de piqûre d'un phlébotome infesté.
- la transmission chien-homme est suspectée et décrite, elle peut avoir lieu par contact avec des lésions ulcérées d'où s'échappent la lymphes mais que ce type de transmission reste exceptionnel.

- en zone d'endémie, euthanasier le chien ne protégera pas les propriétaires du fait de l'importance du réservoir constitué par les chiens aux alentours et des réservoirs naturels. (17)

L'euthanasie sera tout de même recommandée s'il existe dans l'entourage du chien des sujets immunodéprimés (ayant subi une greffe, atteints du sida ou d'une maladie chronique, traités avec des corticoïdes à fortes doses) (16).

Il est également légitime de se demander si le fait de traiter un animal hors zone d'endémie ne risque pas de faire apparaître un nouveau foyer, si le vecteur est présent dans cette région. (49)

Il faut ensuite prendre en considération le pronostic c'est-à-dire les chances de guérison clinique et les risques de complications possibles. Pour éclairer le propriétaire dans sa prise de décision, le vétérinaire apprécie :

- l'état clinique de l'animal,
- l'ancienneté de la maladie (première manifestation et précocité du diagnostic ou rechute)
- le titre sérologique
- la numération formule : une leucopénie due à une lymphopénie ainsi qu'une anémie sévère sont le signe d'une leishmaniose ancienne,
- les analyses biochimiques et notamment les paramètres permettant d'apprécier la fonction rénale (urémie et créatinémie). En effet les produits leishmanicides sont néphrotoxiques, il est donc difficile d'envisager un traitement si la maladie a déjà induit une glomérulonéphrite. (13)

#### IV.2. Les traitements utilisés :

Le traitement préconisé actuellement est l'**association** : (14)

- **d'antimoniote de méglumine**(Glucantime®) à la dose de 100mg/kg/j, tous les jours par voie sous cutanée pendant 3-4 semaines. Certains auteurs recommandent une dose de 75 mg/kg deux fois par jour pour maintenir un taux sérique plus élevé et plus constant. (49)
- **de l'allopurinol** (Zyloric®) à la dose de 30mg/kg/j en deux prises tous les jours par voie orale pendant toute la vie de l'animal.

Ce protocole apporte de bons résultats mais n'est pas totalement satisfaisant du fait notamment de la toxicité de l'antimoniote de méglumine et des échecs thérapeutiques parfois rencontrés.



Il semblerait que certaines souches de leishmanies soient résistantes à l'antimoniote de méglumine. Il est donc nécessaire de poursuivre les recherches. (16) (49) (70)

Il existe d'autres traitements comme l'amphotéricine B, l'aminosidine et la miltéfosine dont l'usage doit être réservé au milieu hospitalier humain (recommandation de l'OMS), pour éviter l'apparition de résistances. (16)

#### **IV.3. Perspectives thérapeutiques :**

Des essais d'immunothérapie ont été tentés avec des résultats encourageants malgré le faible nombre d'animaux testés. Des antigènes d'excrétion-sécrétion de promastigotes (AgESP) administrés à des animaux leishmaniens (n'ayant jamais reçu de traitement ou dont le traitement a conduit à un échec), ont induit une réponse immunitaire à l'origine d'une destruction massive des parasites avec une amélioration clinique importante dans les 15 jours. On note une diminution du titre d'anticorps et une augmentation significative du pouvoir leishmanicide des monocytes. Il n'y a pas eu de rechute plus de 2 ans plus tard. Cette étude constitue une base intéressante en vue du développement d'autres thérapeutiques et du développement d'un vaccin chez l'animal comme chez l'homme. (15)

L'administration de marbofloxacin à la dose de 2 mg/kg par jour pendant 28 jours a montré des résultats prometteurs, la charge parasitaire des animaux testés a diminué de plus de 80%, aucune rechute n'a été observée dans les neuf mois qui ont suivis. Ce traitement pourrait être intéressant pour les insuffisants rénaux notamment. Des études complémentaires vont être menées. (68)

#### **V. Prophylaxie :**

##### **V.1. Sanitaire :**

La lutte contre les phlébotomes est difficile. Il est souvent conseillé de rentrer les chiens au crépuscule, période d'activité maximale de ces insectes. Ce n'est cependant pas une méthode sûre car *Phlebotomus perniciosus* est endophile, les chiens ne sont pas protégés dans les habitations.

De plus, l'utilisation de moustiquaires est sans effets car ces insectes sont de taille inférieure à leur maillage. Traiter l'intérieur des maisons avec des insecticides tels que la deltaméthrine (le traitement de l'extérieur est illusoire), en utilisant de diffuseurs anti-moustiques (11) et mettre en place des rideaux imprégnés d'insecticide limitent l'infestation des habitations par les phlébotomes endophiles. (46)



Il faut également veiller à limiter les niches et les abris favorables aux phlébotomes aux stades larvaires et adultes autour des zones d'habitation : (46)

- éviter les eaux stagnantes et les zones humides dans les jardins
- enduire les murs, les abris du bétail avec de la chaux
- détruire les déchets organiques avec de la chaux

## V.2. Médicale :

### V.2.1. Les antiparasitaires externes :

Ces mesures ont pour but de tuer le parasite ou d'empêcher la piqûre. En France trois produits disponibles sur le marché ont fait l'objet des recherches : (16)

- Scalibor® : collier à base de deltaméthrine mis sur le marché par Intervet® et dont l'efficacité a été démontrée sur le terrain et en laboratoire. Il porte l'indication « lutte contre les phlébotomes » et ce pendant 5 mois (31). Ce collier éviterait 96% des piqûres de phlébotomes.
- Duowin® pulvérisation : spray à base de pyriproxifène et de perméthrine commercialisé par les laboratoires Virbac®, pour lesquels seuls des essais de laboratoire ont été réalisés. Il ne porte pas l'indication « lutte contre les phlébotomes ». (31)
- Advantix® : spot on à base d'imidaclopride et de perméthrine, commercialisé par Bayer®, pour lequel ont été réalisés des essais de laboratoires uniquement. Il porte l'indication « lutte contre les phlébotomes ». Pour être efficace contre *Phlebotomus perniciosus* et *Phlebotomus papatasi* il est nécessaire de répéter l'application toutes les 2 à 3 semaines selon la pression d'infestation. (31) (36) (57)

### V.2.2. Les vaccins :

Il existe actuellement un vaccin commercialisé au Brésil, le Leishmune® à base d'une fraction d'une protéine de surface de *Leishmania donovani* purifiée (Fucose Mannose Ligand : FML) avec comme adjuvant de la saponine. Il empêche la survenue des signes cliniques et interdit la présence du parasite dans le derme ; par conséquent il bloque la transmission. De plus, il a été démontré que les anticorps prélevés par la femelle phlébotome au cours de son repas sanguin bloqueraient certaines phases de développement des leishmanies dans le vecteur et réduiraient ainsi son pouvoir infectant. (61) (23) (59)

Pour le moment il n'est malheureusement pas possible de distinguer un animal vacciné d'un animal malade, mais des recherches sont en cours. (16) (23)

D'autres vaccins sont à l'étude :

- Le CaniLeish® qui inhibe l'apparition des signes cliniques uniquement. C'est un vaccin à base antigènes d'excrétion-sécrétion de promastigotes (AgESP) avec comme adjuvant du muramyl dipeptide (MDP). L'antigène utilisé est le même que dans le traitement par l'immunothérapie évoquée plus haut. Les résultats obtenus dans le cadre d'une étude de terrain (randomisée, en double aveugle) concluent à l'efficacité de ce vaccin qui induit une immunité protectrice en zone d'enzootie chez des chiens de propriétaires pendant un an. (42)
- D'autres à base de leishmanies tuées, d'extrait de salive de phlébotome et adjuvés de saponine qui ne sont qu'en phase I des expérimentations mais semblent prometteurs. (22)

**PARTIE  
EXPERIMENTALE**



## **Partie expérimentale**

---

### **I. Objectif et but de travail:**

La leishmaniose canine est la première zoonose en Algérie à cause de son caractère endémique, c'est une maladie protéiforme ce qui rend son diagnostic clinique compliqué et nécessite dans la plupart des temps des examens complémentaires qui font appel à des structures spécialisées comme l'IPA.

Dans cette partie, on essaye d'évaluer l'efficacité des tests rapides dans le diagnostic de cette maladie, par rapport à la méthode de référence (IFI) dans le diagnostic de la leishmaniose.

### **II. Matériel et méthode:**

Le travail s'est réalisé sur des sérums de chiens au nombre de quatre (4) qui présentaient des signes cliniques rendant la suspicion de leishmaniose impérative vu le contexte épidémiologique, les chiens étaient âgés de plus de 2 ans, nous n'avons pas tenu compte du sexe et de la race.

Tous les prélèvements ont été testés au niveau de la clinique de l'institut vétérinaire de Blida par 2 méthodes :

- FLG (test d'orientation)
- Speed Leish (test rapide)

#### **II.1. Matériel:**

##### **II.1.1. Matériels utilisés:**

- Seringues jetables, des tubes secs et porte tube
- Centrifugeuse
- Formol 10%
- Eau distillée
- Les kits de test rapide

## Partie expérimentale

---

### II.1.2. Animaux d'étude:

L'étude a été menée de janvier à mai 2014 sur des chiens reçus en consultation, suspects cliniquement d'être atteints par la leishmaniose.

#### ➤ Chien n°1 :

Age : 1 an

Sexe : Male

Race : cane corso

Autres renseignements : le chien présente des lésions cutanées (chute de poils)

On note aussi la présence de tiques



Figure n°12: chien admis à la consultation

#### ➤ Chien n°2 :

Age : 2ans

Sexe : male

Race : berger allemand

Autres renseignements : le chien présente des lésions cutanées (chute de poils), un allongement des onglons et des signes de vieillissements

Il vit dans le milieu extérieur (une ferme) en contact direct des insectes.



## Partie expérimentale

---



Figures n<sup>o</sup>13 : chien admis à la consultation

➤ Chien n<sup>o</sup>3 :

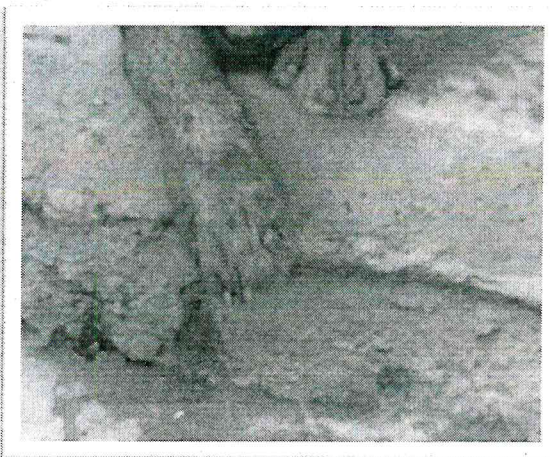
Age : 6ans

Sexe : femelle

Race : rottweiler

Autres renseignements : le chien vit dans un milieu extérieur (un jardin)

Il présente un tableau clinique qui oriente vers la suspicion à la leishmaniose.



Figures n<sup>o</sup>14 : chien présentant des lésions cutanées



## Partie expérimentale

---

➤ **Chien n°4:**

Age : 2 ans

Sexe : male

Race : berger allemand

Autres renseignements : amaigrissement, anorexie et une fatigue.



Figures n°15: photo personnelle d'un chien suspect



## Partie expérimentale

---

### II.2. Méthode :

#### II.2.1. Prélèvement sanguin :

Le prélèvement est effectué au niveau de la veine radiale, à l'aide d'une seringue 5ml. Le sang est recueilli dans un tube sec stérile. Mettre les tubes remplis du sang à température ambiante.

#### II.2.2. Obtention du sérum :

Après un délai de repos de 30 min, jusqu'à ce qu'il soit parfaitement coagulé, le sang est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes. Dans le cas d'une centrifugation pratiquée avant la coagulation une seconde centrifugation est parfois nécessaire, la fibrine ayant tendance à se fixer aux parois du tube. Après centrifugation, le surnageant constitué par le sérum est prélevé.



Figure n°16: Prélèvement sanguin



Figure n°17: centrifugeuse

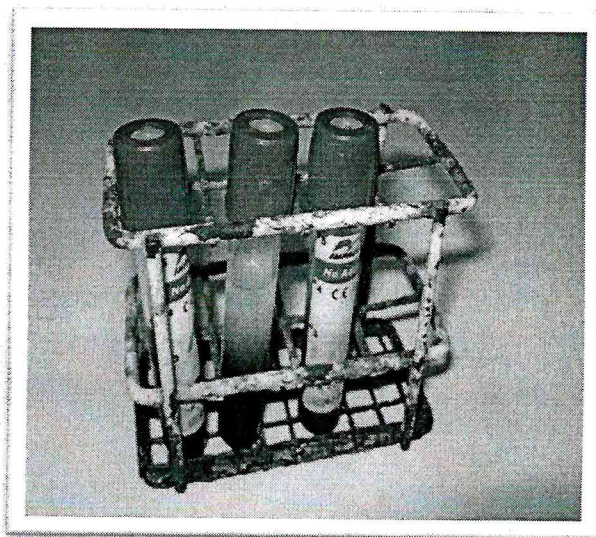


Figure n°18: obtention du sérum



## Partie expérimentale

---

### II.2.3. Réalisation de la Formo-leuco-gélification: «test d'orientation»

En ajoute 2-3 gouttes de formol à 10% à 1ml de sérum de chien suspect. La gélification et l'apparition d'une opalescence du sérum dans un délai de 30 minutes traduisent l'hyperglobulinémie. Ce test peut être mise en œuvre au chevet du malade, mais il n'est pas spécifique et peut être positif lors de maladies infectieuses ou parasitaires.

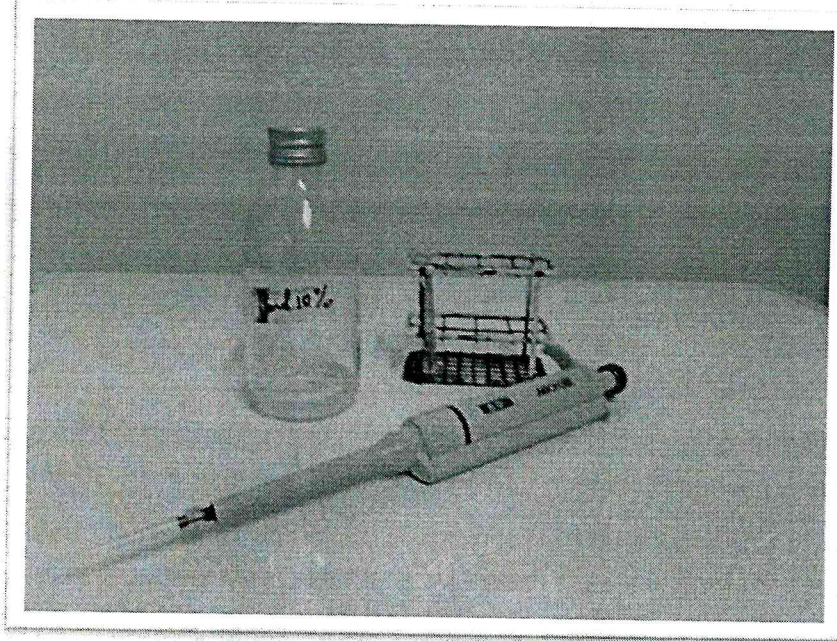


Figure n°19: Matériels utilisés

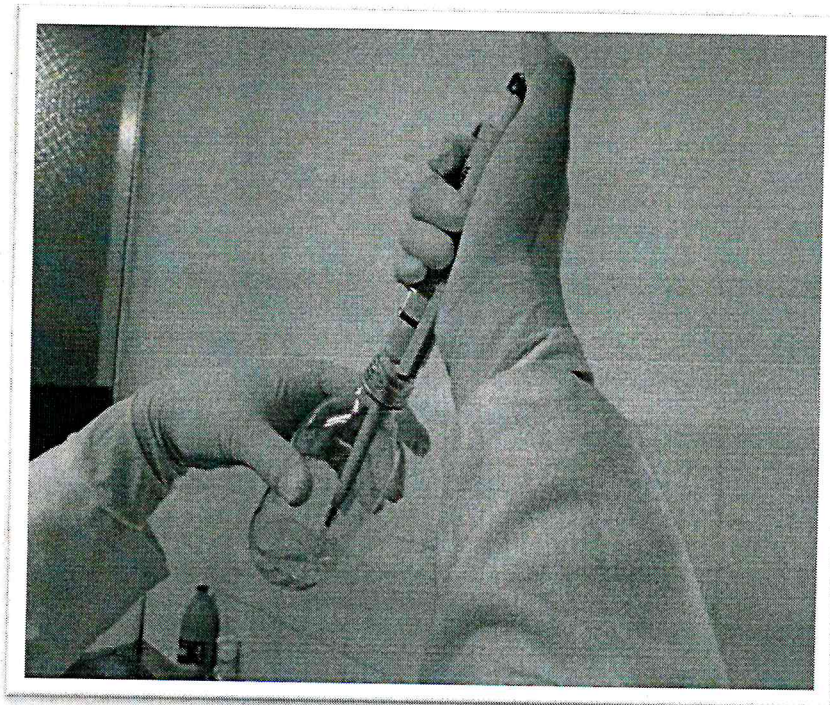


Figure n°20: Réalisation de FLG



## Partie expérimentale

### II.2.4. Séro-floculation :

Technique fiable et utile en cas de doute, pas de relation titre et état clinique, pas de chute importante après un traitement efficace.

\*Séro-floculation 20 gouttes de l'eau distillée + 2 gouttes de sérum.

### II.2.5. Principe du SPEED LEISH :

Le speed leish est un test qualitatif rapide, basé sur le principe de l'immuno-chromatographie sur membrane permettant la mise en évidence des anticorps anti-*Leishmania infantum* chez le chien.

L'antigène utilisé est un extrait protéique d'antigène purifié de promastigote (antigène de paroi).

Pour chaque test, il suffit de déposer une goutte d'échantillon (sérum, plasma ou sang total avec anticoagulant (EDTA ou héparine)) dans les puits échantillon. Après dépôt de l'échantillon, les particules colorées du conjugué se lient aux anticorps anti-*Leishmania infantum* présents dans le prélèvement. Ce complexe conjugué/anticorps anti-*Leishmania infantum* ainsi formé migre par capillarité sur la membrane. Ils sont capturés par des antigènes spécifiques de *Leishmania infantum* immobilisés sur la membrane, formant par accumulation de particules colorées une bande test de couleur rose. Le mélange continue de migrer sur le support jusqu'à l'extrémité de la membrane où les particules colorées restantes forment une bande de contrôle rose qui confirme la bonne réalisation du test.

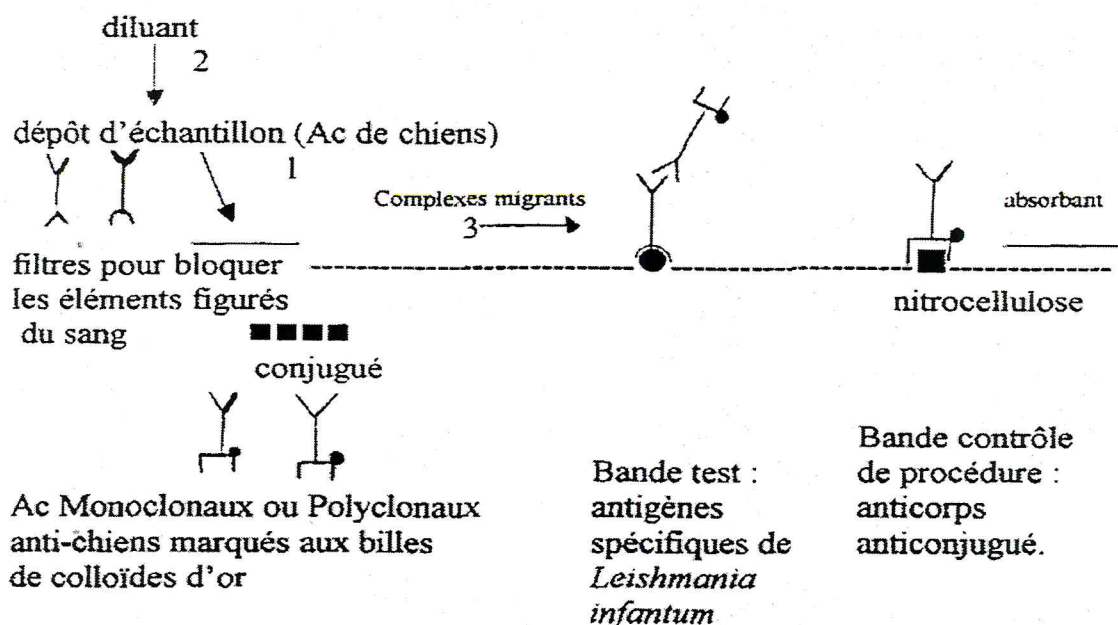


Figure n°21 : Principe du test.

## Partie expérimentale

---

Le but de Speed Leish était d'obtenir un test de « screening » de ce fait il a été réglé avec un seuil de détection bas : entre 1/50 et 1/100 à l'IFI.

### ➤ Protocole opératoire :

#### Pour chaque test prévoir:

1 cellule test, 1 pipette à usage unique et le flacon de réactif.

Utiliser les réactifs à température ambiante.

Ne jamais mélanger des réactifs de lots différents.

#### 1/ Dépôt de l'échantillon :

Sérum, plasma, sang total avec anticoagulant (EDTA ou héparine) : à l'aide d'une pipette à usage unique maintenue en position verticale, **déposer 1 goutte** d'échantillon dans chaque puits échantillon.

#### 2/ Dépôt du réactif :

- Ajouter le réactif immédiatement après le dépôt de l'échantillon. Maintenir le flacon de réactif en position verticale et **ajouter 5 gouttes** de réactif dans le puits échantillon.

- Si la migration ne débute pas dans les 2 minutes, **ajouter 2 gouttes supplémentaires** de réactif dans le puits échantillon.

#### 3/ lecture et interprétation des résultats:

Lire le résultat au bout de **20 minutes de migration** :

- Un **TEST NEGATIF** fait apparaître **1 bande rose** dans la fenêtre de lecture (bande contrôle).



## Partie expérimentale

---

- Un **TEST POSITIF** fait apparaître 2 bandes roses bien distinctes dans la fenêtre de lecture (bande test + bande contrôle).



L'apparition d'une bande test après seulement 15 minutes de migration permet de conclure à un test positif. Toute coloration même légère de la bande test doit être considérée comme un résultat positif.

-L'absence de la bande de contrôle rend le test invalide.



### ➤ **Recommandations :**

#### • **Stabilité/Conservation :**

- 24 mois à température ambiante à partir de la date de fabrication. La date de péremption est indiquée sur le kit et sur chaque sachet de cellule test.
- Stocker à température ambiante, entre +2°C et +30°C. Eviter d'exposer le test à de trop fortes températures ou à des températures inférieures à 0°C.

#### • **Echantillons :**

- Les échantillons de sérum, plasma ou sang total avec anticoagulant doivent être à température ambiante au moment de leur utilisation.
- Conservation des échantillons jusqu'à 24 heures : conserver sérum, plasma ou sang total avec anticoagulant à température ambiante.
- Conservation des échantillons jusqu'à 72 heures : conserver sérum ou plasma entre +2°C et +8°C (réfrigérateur). La conservation du sang total avec anticoagulant plusieurs heures entre +2°C et +8°C peut conduire à des hémolyses partielles non visibles à l'œil nu, qui peuvent rendre le test plus difficile à interpréter.



## Partie expérimentale

- Au-delà de 72 heures, conserver sérum et plasma à -20°C. Ne jamais congeler un échantillon de sang total.

### • Précautions de manipulation :

- Pour obtenir une migration correcte de l'échantillon placer la cellule test sur une surface plane et horizontale.

- Afin de standardiser la quantité d'échantillon nécessaire pour chaque test, utiliser uniquement les pipettes présentes dans le coffret.

- Pour un dépôt correct de l'échantillon et du réactif, maintenir le flacon compte-gouttes de réactif et la pipette en position verticale.

### • Autres Recommandations :

- Durant la réalisation du test, la fenêtre de lecture peut montrer une très légère coloration rose qui n'a aucune conséquence sur la qualité du résultat.

- **Ne pas mélanger les réactifs de lots différents.**

- Laisser les réactifs venir à température ambiante avant utilisation.

- Utiliser une nouvelle pipette à usage unique pour chaque test.

Ces recommandations constituent un guide, aucune méthode de diagnostic ne pouvant prétendre être précise à 100%. Ce test a pour but d'aider le vétérinaire praticien dans le diagnostic de la leishmaniose canine par la détection des anticorps anti-*Leishmania infantum*.

L'interprétation du test par le vétérinaire devra toujours tenir compte des commémoratifs, de l'examen clinique de l'animal et des résultats d'éventuels autres examens complémentaires.

Le diagnostic final reste la prérogative et la responsabilité du vétérinaire traitant.

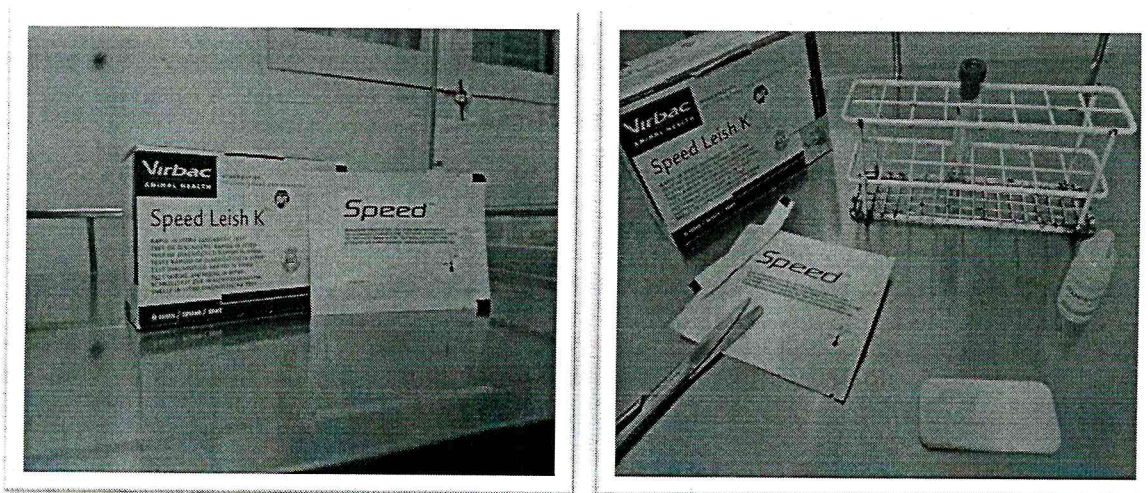


Figure n° 22: présentation des kits

## Partie expérimentale

---

### III. Résultats:

L'évaluation d'un test de Speed Leish passe par le calcul quatre paramètres fondamentaux(77) :

-**La sensibilité** qui est la capacité d'une méthode à distinguer avec une probabilité définie 2 résultats, plus une méthode est sensible moins il y a de faux négatifs (FN). On la calcule ainsi : **sensibilité = VP/ (VP+FN)**.

-**La spécificité** qui représente pour une méthode la qualité de l'élimination de l'interférence des autres anticorps présents dans le prélèvement, elle traduit la capacité d'une méthode à éliminer les faux positifs. Elle est donné par : **spécificité = VN/(VN+FP)**.

-**La valeur prédictive positive (VPP)** qui est la probabilité qu'un animal présentant un test positif soit réellement malade on la calcule ainsi : **VPP=VP (VP+FP)**.

-**la valeur prédictive négative (VPN)** qui est la probabilité qu'un animal présentant un test négatif ne soit pas malade. On la calcule ainsi : **VPN=VN (VN+FN)**.

Les paramètres intéressants à connaître par le clinicien sont les VPP et VPN.

On va distinguer 4 cas de figure :

- **Les chiens dits vrais positifs** : VP sont des animaux malades et ayant un test sérologique positif ou pour lesquels les leishmanies ont été identifiés.
- **Les vrais négatifs** : VN sont des animaux non malades et présentant un test sérologique négatif.
- **Les faux positifs** : FP sont des chiens aux sérums positifs au Speed Leish et négatifs par la technique d'IFI.
- **Les faux négatifs** : FN sont des chiens aux sérums négatifs au Speed Leish mais malades (positifs par la technique d'IFI ou chez lesquels les parasites ont été mis en évidence).

Le faible effectif de chiens, ne nous a pas permis une véritable étude statistique.

L'estimation de ces paramètres se fait soit par rapport :

- à la méthode de FLG.
- à la méthode de référence : l'IFI.



## Partie expérimentale

Les chiens suspects \ Tests	FLG	SPEED LEISH	IFI
Chien n°1	-	-	-
Chien n°2	-	-	-
Chien n°3	+	+	+
Chien n°4	-	-	-

Tableau III : Résultats des chiens testés par 3 méthodes.

Chien n°2:

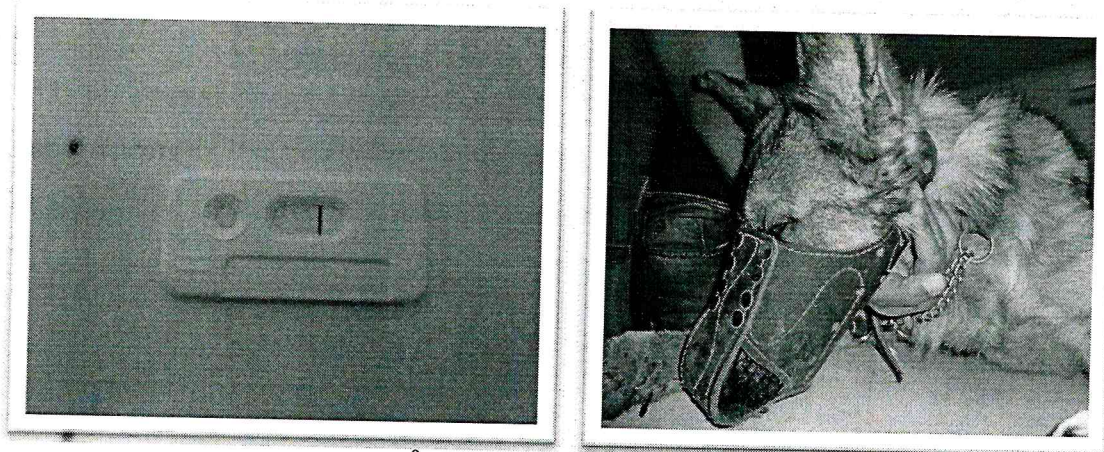


Figure n°23: chien n°2 s'est révélé négatif

INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE  
tél: (02) 67.23.44 / 65.25.11

Service Parasitologie  
Mycologie

RESULTAT D'ANALYSE  
Numéro : LC264/2014

Matricule (à rappeler pour tout nouvel examen): LC264 / 2014

Nom et Prénom : CHIEN Prop. BOUSSARDI  
Sexe : Masculin

Age : 2 Ans

Demandeur: MEDECIN TRAITANT

Prélevement: SANGUIN

Pvt reçu le: 18/05/14

LABORATOIRE DIAGNOSTIC

Examens : IMMUNOLOGIQUE LEISHMANIOSE CANINE

IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE : NEGATIF

Figure n°24 : Test d'IFI « résultat négatif »



## Partie expérimentale

Chien n°3

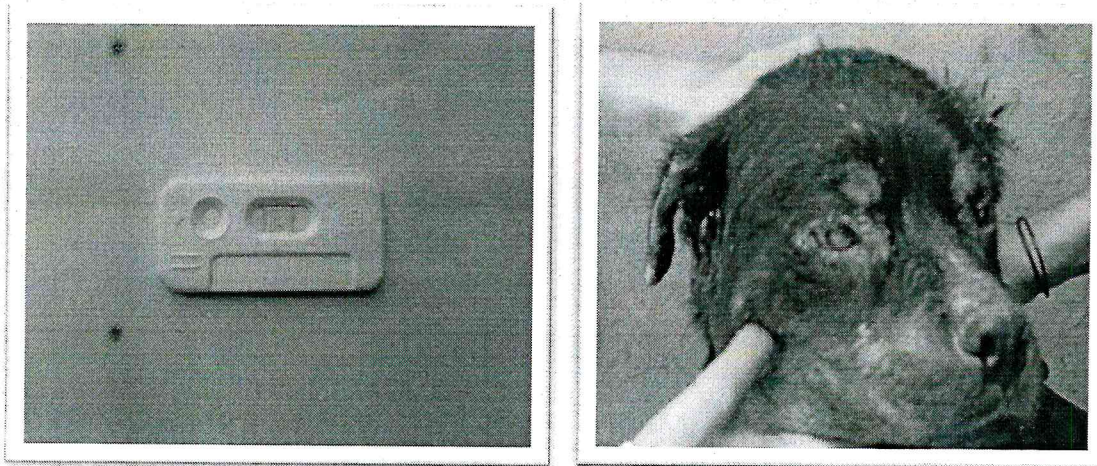


Figure n°25: chien n°3 s'est révélé positif

INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE  
tél: (02) 67.23.44 / 65.25.11

Service Parasitologie  
Mycologie

RESULTAT D'ANALYSE  
Numéro : LC415/2014

Matricule : (à rappeler pour tout nouvel examen): LC415/2014

Nom et Prénom : CHIENNE ZENDA Prop. GUESSOUM FOUAD  
Sexe : Féminin Age : 6 Ans

Détenteur: MEDECIN TRAITANT

Prélèvement: SANGUIN

Pvt reçu le: 18/05/14

DIAGNOSTIC

Examens : IMMUNOLOGIQUE LEISHMANIOSE CANINE

IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ; POSITIF \* 1/320e

Figure n°26 : Test d'IFI « résultat positif »

## Partie expérimentale

---

### Discussion :

Le Speed Leish est un test qualitatif, rapide facile à utiliser parfaitement réalisable lors d'une consultation.

Avec sa spécificité élevée il se révèle un bon test de dépistage, le praticien va pouvoir l'utiliser pour confirmer ou éliminer l'hypothèse de leishmaniose

Il faut également ajouter que le Speed Leish présente une très bonne sensibilité (98 %) et une spécificité (100%) si on tient compte du nombre réduit de chiens qui ont été testés parmi lesquels un seul parmi tout le panel qui s'est révélé être positif, cependant un deuxième cas malgré la forte suspicion ainsi que les signes cliniques qu'il a présenté caractéristiques à la leishmaniose s'est aussi révélé négatif.

Après avoir testé ces sérums des chiens par le Speed Leish des analyses au niveau de l'institut pasteur avec l'IFI ont été réalisés. Cette dernière (l'IFI) qui est une méthode de référence nous a permis de confirmer la fiabilité de test dans tout les cas éprouvés

Il est à noter que le cas où il y'avait une forte présomption de leishmaniose pourrait être une éventuelle ehrlichiose qu'on ne pourra malheureusement pas diagnostiquer avec certitude par manque de moyens.

Malgré la ressemblance entre la leishmaniose et l'ehrlichiose qui souvent peuvent coexister dans une zone d'enzootie leishmanienne le diagnostic différentiel grâce au Speed Leish est très fiable.

Le Speed Leish est un test utilisable dans le cadre d'une consultation de routine pour assurer les propriétaires de chiens en zone d'endémie et de les informer sur les moyens prophylactiques existants.

Une étude de JEAN CHENE et BOURDOISEAU(78) sur 122 échantillons de sérums et de plasmas canins prélevés en zones d'enzootie et en zones indemnes françaises

Les résultats de ce test ont été comparés aux résultats obtenus grâce à l'immunofluorescence indirecte (IFI), considérée comme méthode de référence pour le diagnostic sérologique de l'infection par *Leishmania infantum* chez le chien, les échantillons ont été répartis en 4 groupes selon leur titre sérologique déterminé en IFI (a, b, c et d)

Les 35 échantillons négatifs (Groupe A) ont montré des résultats identiques avec les 2 méthodes.

Sur les 24 échantillons du groupe B, 22 ont donné un résultat avec chacune des 2 méthodes positif

## **Partie expérimentale**

---

Et 2 échantillons présentant une faible sensibilité de Speed Leish k. Tous les échantillons des groupes C et D (43 + 20) ont présenté un résultat positif en IFI et en technique immunochromatographique.

La sensibilité du test rapide Speed Leish k a été calculée 20 pour chaque groupe B, C et D. Pour le groupe B, la sensibilité est de 92% (22 échantillons sur 24). Pour les groupes C et D, la sensibilité obtenue est de 100% (63 échantillons sur 63).

RIVO et COLL(79) ont réalisé une étude sur 300 sérums de chiens toscans (vivant en zone d'endémie) comparant le Speed Leish a l'IFI ils ont obtenu une sensibilité de 93% et une spécificité de 97%

Ils ont considéré la réaction douteuse négative. Selon eux, les réponses douteuses au Speed Leish peuvent semer le doute chez les utilisateurs peu expérimentés.

Les docteurs BERGEAUD, LAUMONIER et GROS ont chacun obtenu une sensibilité de 100%, de spécificités respectives de 84.6%, 76% et 81%.

Dans la zone d'endémie, il est préférable de ne pas passer à côté d'une leishmaniose, on choisira donc un test sensible.

Hors de la zone d'endémie, le praticien aura besoin de confirmer son hypothèse, il choisira un test spécifique et aura volontiers recours aux tests de laboratoire.



### Conclusion

L'évaluation du Speed Leish a été réalisée sur un nombre de chien réduit, le Speed Leish avec une spécificité très élevée (100%) et une bonne sensibilité (98%) est un bon test de diagnostic facilement réalisable par le praticien au sein de sa clinique.

Malgré l'effectif réduit de 4 chiens, le test a montré son efficacité surtout lorsqu'il a été comparé à la méthode de référence IFI, cela suggère une étude plus approfondie avec un effectif plus riche afin d'étayer nos résultats.

Le Speed Leish est le test rapide de choix dans les zones d'enzootie leishmanienne où il y'a une coexistence avec l'ehrlichiose, dont le diagnostic fût impossible par manque de moyen.

Le but de ce travail a été surtout d'éprouver l'efficacité d'un tel matériel.

### Recommandations

Nous recommandons fortement l'utilisation des kits de diagnostic rapide pour leur efficacité prouvée; ces kits représentent un gain de temps non négligeable.

Le frein que représente le prix qui reste inaccessible (environ 5000 DA pour une boîte de 6 tests) de ce matériel devrait être discuté entre praticiens et autorités concernées.

La leishmaniose étant la première zoonose en Algérie, le dépistage rapide des réservoirs connus doit être une priorité en zone d'endémie, afin d'adopter les mesures prophylactiques.

# ANNEXES



INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE  
Tél: (02) 67.23.44 / 65.25.11

Service Parasitologie  
Mycologie

RESULTAT D'ANALYSE  
Numéro : LC415/2014

Matricule : (à rappeler pour tout nouvel examen): LC415/2014

Nom et Prénom : CHIENNE ZENDA Prop. GUESSOUM FOUAD  
Sexe : Féminin Âge : 6 Ans

Demandeur : MEDECIN TRAITANT

Prélevement : SANGUIN

Fvt reçu le: 18/05/14

— DO D I A G N O S T I C — DO —

Examens : IMMUNOLOGIQUE LEISHMANIOSE CANINE

IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ; POSITIF + 1/320e

Commentaire/Interpretation:

\*  
\*  
\*

Alger Le : 21/05/2014  
Le Chef de Laboratoire  
Institut Pasteur d'Algérie

Dr F. ABIDAT  
Maître Assistant en  
Parasitologie Mycologie

Annexe 1: Test IFI « Résultat positif ».

INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE  
tél: (02) 67.23.44 / 65.25.11

Service Parasitologie  
Mycologie

RESULTAT D'ANALYSE  
Numéro : LC264/2014

Matricule : (à rappeler pour tout nouvel examen): LC264 / 2014

Nom et Prénom : CHIEN Prop. BOUSSADI

Sexe : Masculin

Age : 2 Ans

Demandeur: MEDECIN TRAITANT

Prélèvement: SANGUIN

Pvt reçu le: 18/05/14

— D I A G N O S T I C —

Examens : IMMUNOLOGIQUE LEISHMANIOSE CANINE

IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ; NEGATIF

Commentaire/Interpretation:

\*  
\*  
\*

Alger Le : 21/05/2014

Le Chef de Service et Directeur  
Institut Pasteur d'Algérie

Dr F. ABIDAT

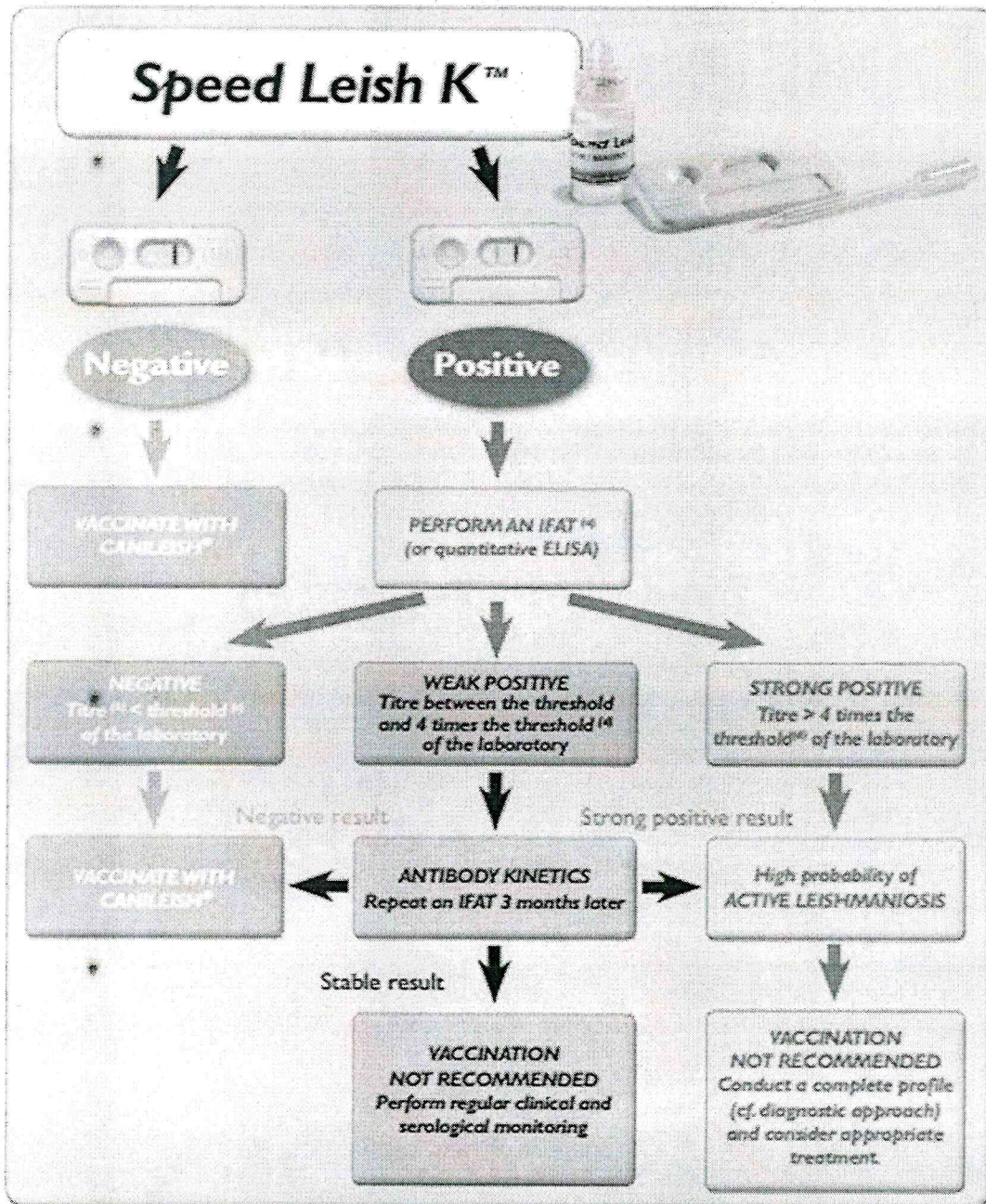
Maître Assistant en  
Parasitologie Mycologie

Annexe 2: Test IFI « Résultat négatif ».



# Speed Leish K™

Use for pre-vaccination screening of leishmaniosis in those animals at risk of previous exposure (ie already travelled to regions of risk)

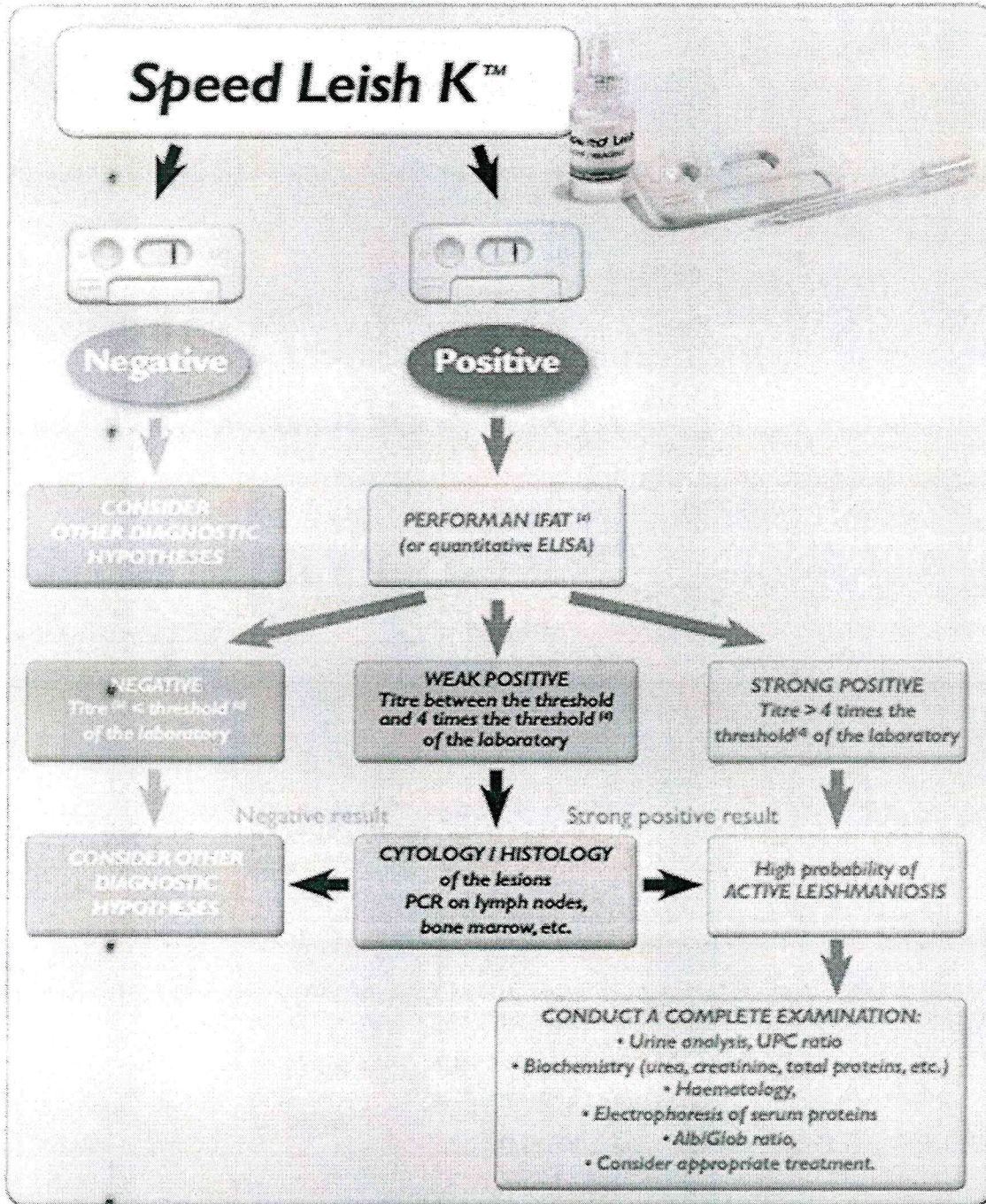


IFAT: Immunofluorescent-Antibody Test  
 (4) Titre always a multiple of the sample to show fluorescence  
 (5) Threshold: first dilution of the sample considered a positive by the laboratory  
 (6) For example, if the positivity threshold is = 1/200, a titre of 1/800 would be considered as a "Strong positive".



# Speed Leish K™

Use for the diagnosis of leishmaniasis\*\*



\*\* In the presence of clinical signs

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **BANULS A.L., HIDE M., PRUGNOLLE F. (2007).** Leishmania and the leishmaniasis: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. *Adv. Parasitol.*, 64, 6-8.
2. **BELAZZOUG S.** Le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de M'sila (Algérie), infestation naturelle de «*Psammomys obesus*» (rongeur, gerbillide). *Bull Soc Pathol Exot* 1983;76:146-9.
3. **BELAZZOUG S.** La leishmaniose en Algérie à travers l'identification isoenzymatique des souches. *Coll Inter Tax Phy des Leishmania*, Montpellier 1984:397-400.
4. **BELAZZOUG S.** Découverte d'un *Meriones shawi* (rongeur, gerbillide) naturellement infesté par *Leishmania* dans le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de Ksar chellala (Algérie). *Bull Soc Pathol Exot* 1986;79:630-3.
5. **BELAZZOUG S.** La leishmaniose canine en Algérie. *Magh Veter* 1987;3:(13): 11-3.
6. **BELKAID M, HARRAT Z.** La leishmaniose en Algérie. Mise au point. *Rev Med Phar* 1997:46-6.
7. **BLAISE, H.** Comment diagnostiquer la leishmaniose canine. *Le Point Vétérinaire*. 2007, Vol. 270, 37, pp. 54-59.
8. **BONGIORO, G, et al.** Host preferences of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy. *ActaTropica*.2003, Vol. 88, pp. 109-116.
9. **BOURDEAU P., GROULADE P. (1988).** Résultats de l'enquête sur la leishmaniose. *Prat. Méd. Chir.Med. Anim. Comp.*, 23(5), 5-10.
10. **BOURDEAU P., (1996).** Eléments pratiques du diagnostic de la leishmaniose canine. *PoinVet.*, 15(72) : 4-50.



11. **BOURDOISEAU, G.** La Leishmaniose Canine. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Service de Parasitologie : Lyon : Rhône Mérieux, 1993.

12. **BOURDOISEAU, G.** *Parasitologie clinique du chien*. Créteil : NEVA, 2000. pp. 325-362.

13. **BOURDOISEAU, G et DENEROLLE, P.** Traitement de la leishmaniose canine : actualités. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 2000, Vol. 151, 5, pp. 395-400.

14. **BOURDOISEAU, G.** Traitement de la leishmaniose canine : données actuelles, procédure et protocole de consensus (hors immunothérapie). *Leishmaniose canine : Surveillance, diagnostic, traitement, prophylaxie. Résumés*. Lyon : Société Française de Parasitologie, 2004.

15. **BOURDOISEAU, G, et al.** La leishmaniose canine à *Leishmania infantum* : essais d'immunothérapie. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 2004, Vol. 157, 1, pp. 63-67.

16. **BOURDOISEAU, G.** Actualités - la leishmaniose canine à *Leishmania infantum*, points de confirmation et d'interrogation. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*. Février-Avril 2007, pp. 49-54.

17. **BOURDOISEAU, G, DENEROLLE, P et CHABANNE, L.** La leishmaniose du chien en question. *Le Point Vétérinaire*. 2008, Vol. 285.

18. **BOURDOISEAU G., FRANC M. (2008).** *Leishmaniose canine et féline*. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), *Vétérinaire, Médecine générale*, 1350.

19. **BIANCHI D. (2002).** Les tests rapides de diagnostic de la leishmaniose canine. *Nouv. Prat. Vét.*, 7, 71-72.

20-**CABASSU J.P., GERVAIS P., SEGURET N., 1998.** Manifestations cliniques de la leishmaniose canine. *Prat. Med. Chir. Med. Anim. Comp.*, 23, 29-33.

21. CIARAMELLA P., OLIVA G., DE LUNA R., GRADONI L., AMBROSIO R., CORTESE L., SCALONE A., PERSECHINO. (1997). A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet. Rec.*, 141, 539-543.
22. CORDEIRO GIUNCHETTI, R, et al. A killed *Leishmania* vaccine with sand fly saliva extract and saponin adjuvant displays immunogenicity in dog. *Vaccine*. Janvier 2008, Vol. 26, pp. 623-638.
23. DANTAS-TORRES, F. Leishmune® vaccine : The newest tool for prevention and control of canine visceral leishmaniosis and its potential as a transmission-block. *Veterinary Parasitology*. May 2006, Vol. 141, pp. 1-8.
24. DANTAS-TORRES F. (2007). The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis*. *Vet.Parasit.*, 149, 139-146.
25. DEDET J P, ADDADI K & PASCAL R - Epidémiologie des leishmanioses en Algérie: 2- fluctuation saisonnière de la leishmaniose canine à Alger. *ArchInst Pasteur Algérie*, 1973, 51 , 195-201.
26. DEDET JP. ADDADI K, LANNUZEL B. épidémiologie des leishmanioses en Algérie : la leishmaniose viscérale dans le foyer de Grande Kabylie. *Bull Soc Pathol Exot* 1977;70:250-65.
27. DEDET, J-P. Les Leishmanioses. Paris : Ellipses, 1999.
- 28-DENEROLLE P., (1996). Leishmaniose canine : difficultés du diagnostic et du traitement (125 cas). *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 31(2), 137-145.
29. DENEROLLE P. (2003). La leishmaniose : données actuelles en France. *Point vét.*, 236, 46-48.

30. **DESJEUX P** - Leishmaniasis: public health aspects and control.

*ClinDermatol*, 1996, 14, 417-423.

31. Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires et des produits de santé animale. Ruel  
Malmaison : Point Vétérinaire, 2007. p. 1807.

32-**Dye C., Vidor E., and Dereure J., 1993.** Serological diagnosis of leishmaniosis : on  
detecting infection as well as disease. *Epidemiol. Infect.*, 103, 647-656.

33. **ELDBRIDGE, B F et EDMAN, J D.** *Medical Entomology, A Textbook on Public Health  
and Veterinary Problems Caused by Arthropods.* Dordrecht / Boston / London : Kluwers  
Academic Publishers, 2000.

34. **EUZEBY J. (1986).** Protozoologie médicale comparée, Vol. I : Généralités –  
sarcostigophores (Flagellés, Rhizopodes) – Ciliés, 212-313., Ed.coll.M.Merieux, Lyon,  
463p.

35-**FERRER L., RABANAL R., FONDEVILLA D., RAMOS J.A., DOMINGO M.**  
(1988). Skin lesions in canine leishmaniasis. *J. Small Anim. Pract.*, 29 : 381-388.

36. **FERROGLIO, E, POGGI, M et TRISCIUGLIO, A.** Evaluation of 65% Permethrin  
Spot-on and Deltamethrin impregnated Collars for Canine *Leishmania infantum* Infection  
Prevention. *Zoonoses and Public Health.* 2008, Vol. 55, pp. 145-148.

37-**FISA R., GALLEGRO M., RIERA C., AISA M.J., VALLAS D., Serra T., De  
COLMENARES M.,** Serologic diagnosis of canine leishmaniasis by DOT-ELISA. *J. Vet.  
Diagn.*, 9 : 50-55.

38-**FONDEVILLA D., VILAFRANCA M., FERRER L., 1997.** Epidermal  
immunocompetence in canine leishmaniasis. *Vet. Immunol.Immunopathol.*, 56 : 319-327.

39. **HARRAT Z, BENKHERROUF K, TAHARBOUCHT Z, BENDALI-BRAHAM  
S, YAH T & HAMRIOUI B** - La leishmaniose canine urbaine.  
*ArchInst Pasteur d'Algérie*, 1995, 60, 157-165.



40. HARRAT Z, HAMRIOUI B, BELKAID M & TABET-DERRAZ O - Point actuel sur l'épidémiologie des leishmanioses en Algérie. *Bull Soc Pathol Exot*, 1995, 88, 180-184.
41. HUBERT, B. Comment diagnostiquer la leishmaniose canine. *Le Point Vétérinaire*. Novembre 2006, pp. 70-73.
42. HUGNET, C, et al. Résultats de la vaccination contre la leishmaniose canine (*Leishmania infantum*) en zone d'enzootie. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 2006, Vol. 159, 2, pp. 129-132.
43. HUSSON, M C. Monographie GLUCANTIME 1,5MG/5ML SOL INJ EN AMPOULE. *BANQUE DE DONNEES SUR LE MEDICAMENT THERIAQUE*. [En ligne] CNHIM, 9 Avril 2004. [Citation : 11 Novembre 2008.] <http://www.theriaque.org/InfoMedicaments/home.cfm>.
44. HUSSON, M C. Monographie ZYLORIC 300 MG, COMPRIME. *BANQUE DE DONNEES SUR LE MEDICAMENT THERIAQUE*. [En ligne] CNHIM, 9 Avril 2004. [Citation : 11 Novembre 2008.] <http://www.theriaque.org/InfoMedicaments/home.cfm>.
45. KECK, N. Diagnostic de laboratoire de la leishmaniose canine. *Leishmaniose Canine : Surveillance, diagnostic, traitement, prophylaxie. Résumés*. Lyon : Société Française de Parasitologie, 2004.
46. KILLICK-KENDRICK, R. The Biology and Control of Phlebotomine Sand Flies. *Clinics in Dermatology*. 1999, 17, pp. 279-289.
47. KILLICK-KENDRICK, R et KILLICK-KENDRICK, M. *Biology of sand fly vectors of Mediterranean canine Leishmaniasis*. Barcelona, Spain: Proceeding of International Canine Leishmaniasis Forum, Canine Leishmaniasis: an update, 1999. pp. 26-31.
48. LAMOTHE, J, GAUDRAY, C et ZARKA, P. Diagnostic de la leishmaniose canine. *Pratique Médicale et Chirurgicale des Animaux de Compagnie*. 2004, Vol. 39, pp. 41-46.
49. LAMOTHE, J et RIBOT, X. Leishmanioses : actualités. *Bulletin de la société des vétérinaires praticiens français*. 2004, pp. 37-43.

50. **LEMAIRE G, SERGENT E & LHERITIER A** - Recherche sur la leishmaniose du chien d'Alger. *Bull Soc Pathol Exot*, 1913, 6, 579-581.
51. **LOUFRANI G** - *les caractères épidémiologiques du Kala-azar dans le monde. Contribution à l'étude de la leishmaniose du chien à Alger*. Thèse de doctorat Pharmacie, Alger, 1949, 94 pp.
52. **MAIA C., CAMPINO L. (2008)**. Methods for diagnosis of canine Leishmaniasis and immune response to infection. *Vet. Parasito.*,158, 274-287.
- 53-**Manciati F., FALCONE M.L., GIANNELI C., POLI A.,1995**. Comparison between an enzyme-linked immunosorbent assay using a detergent-soluble *Leishmania infantum* antigen and indirect immunofluorescence for the diagnosis of canine Leishmaniosis. *Vet. Parasitol.*, 59 : 13-21.
54. **MARTINEZ, H.** Incidences économiques de la leishmaniose canine. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*. Numéro Spécial Leishmaniose 1988, pp. 129-131.
55. **MARTY P., LE FICHOUX Y. (1988)**. Epidémiologie de la leishmaniose dans le Sud de la France. *Prat. Méd. Chir. Anim. Cie*. Numéro spéciale leishmaniose, 5, 11-15.
56. **MARTY P., POMARES-ESTRAN C., HASSEINE L., DELAUNAY P., HAAS H., ROSENTHAL E. (2009)**. Actualités sur les leishmanioses en France. *Archives de pédiatrie*,16, 96-100.
57. **MIRO, G, et al.** Evaluation of the efficacy of topically administered combination of imidaclopridanpermethrin against *Phlebotomus perniciosus* in dog. *Veterinary Parasitology*. 2007, Vol. 143, pp. 375-379.
58. **OWENS S.D., OAKLEY D.A., MARRYOTT K., HATCHETT W., WALTON R., NOLAN T.J., NEWTON A., STEURER F., SCHANTZ P., GIGER U. (2001)**. Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English foxhounds to anemic dogs, *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, 219(8), 1078-1083.

59. **PALATNIK-DE-SOUSA, C B.** Vaccine for leishmaniasis in the fore coming 25 years. *Vaccine*. Janvier 2008, Vol. 26, pp. 1709-1724.
60. **PAPIEROK, G-M.** Diagnostic biologique de la leishmaniose canine et perspectives. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*. Janvier-Mars 2002, pp. 65-68.
61. **PARRA, L E, et al.** Safety trial using Leishmune® vaccine against canine visceral leishmaniasis in Brazil. *Vaccine*. 2007, Vol. 25, pp. 2180-2186.
62. **POUL J** - Sur la fréquence de la leishmaniose canine à Alger et sur la valeur diagnostique de la formol-gélification. *ArchInst Pasteur Algérie*, 1950, 28, 449-456.
63. **PRELAUD P. (2001).** Sérologie leishmaniose. *Prat. Méd. Chir. Ani. Comp.*, 36, 371-372.
64. **RIOUX, J-A et DE LA ROCQUE, S.** Climats, leishmanioses, tripanosomoses. [Auteur du livre] **F RODHAIN.** *Changements climatiques, maladies infectieuses et allergiques. Annales de l'Institut Pasteur/Actualités*. Paris: Elsevier, 2003, pp. 41-62.
65. **RIPERT, C.** *Epidémiologie des maladies parasitaire, tome 1 : Protozooses*. Cachan : Editions Médicales Internationales, 1996.
66. **RODHAIN F., PEREZ C. (1985).** Chapitre 5: Les phlébotomes: systématique, biologie, importance médicale. In: *Précis d'entomologie médicale et vétérinaire*, Maloine, Paris, 157-175.
67. **ROSYPAL A.C., TROY G.C., ZAJAC A.M., FRANCK G., LINDSAY D.S. (2005).** Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected Beagle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 227, 1266-1269.
68. **ROUGIER, S, et al.** Efficacy of different treatment regimens of marbofloxacin in canine visceral leishmaniosis : A pilot study. *Veterinary Parasitology*. 2008, Vol. 153, pp. 244-250.
- 69-**Roze M., 1988.** La leishmaniose et l'oeil. *Prat. Med. Chir. Med. Anim. Comp.*, 23(5) : 49-55.



70. **SARIDOMICHELAKIS, M N, et al.** Periodic administration of allopurinol is not effective for the prevention of canine leishmaniasis (*L.infantum*) in endemic areas. *VeterinaryParasitology*. Avril 2005, Vol. 130, pp. 199-205.
71. **SERGEANT ED & SERGEANT ET** - Kala-azar. Existence de la leishmaniose chez les chiens d'Alger. *Bull Soc PatholExot*, 1910, 3,510-511.
72. **SENEVET G** - Sur la fréquence de la leishmaniose canine à Alger et ses variations saisonnières. *Bull Soc PatholExot*, 1912, 5,89 - 91 .
73. **SILVA F.L., RAQUEL G.O., SILVA T.M.A., XAVIER M.N., NASCIMENTO E.F., SANTOS R.L. (2009)**. Veneral transmission of canine visceral leishmaniasis. *Vet. parasit.*, 160, 55-59.
74. **SLAPPENDEL R.J. (1988)**. Canine leishmaniasis, a review based on 95 cases in the Netherlands. *Vet. Q.*, 10, 1-6.
75. **VENET B., (2006)**, la leishmaniose féline : dépistage en région toulousaine. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 124p.
- 76-**VIDOR E., DEREURE J., PRATLONG F. (1991)**. Le chancre d'inoculation dans la leishmaniose canine à *Leishmania infantum*. Etude d'une cohorte en région cévenole. *Prat. Méd. Chir. Med. Anim. Comp.*, 26(2), 133-137.
- 77-**GARNIER F.,1996**. Biochimie Clinique, interpretation des reultats. Cours de 2<sup>0</sup> année.
- 78- **CHENE J. , CHABANNE L. , MORLET J., BOURDOISEAU G.** Comparison of a rapid immunochromatographic test (Speed® Leish K , BV T) with immunofluorescence assay for the detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in dogs. In Proceedings of the 2nd International Congress on Canine Leishmaniasis. Pisa, Italy, 17-18 April 2010.

79- RIVO G., POGGI M., MIGNONE W., MANCIATI F., 2000. Immunomigrazione nella diagnosi sierologica della leishmaniosi canina : prova comparativa con l'immunofluorescenza indiretta. *Veterinaria*, anno 14, n<sup>o</sup> 2, agosto 2000 : 61-64.