

UNIVERSITE BLIDA-1

Institut des Sciences Vétérinaires

MEMOIRE DE MAGISTER

en sciences vétérinaires

Spécialité : Epidémiologie animale

**EPIDEMIOLOGIE DE LA LEISHMANIOSE CHEZ LE
CHIEN ET L'HOMME A BEJAIA**

Par

Djamel TAHIR

Devant le jury composé de :

R. KAIDI	Professeur, U. de Blida-1	Président
K.RAHAL	Professeur, U. de Blida-1	Examineur
F.GHALMI	M.C.A. ENV d'El-Harrach	Examinatrice
K. BENACHOUR-OUMOUNA	M.C.A. Université de Médéa	Promotrice
Z. HARRAT	Directeur de recherche, IPA	Co-Promoteur

Blida, Juin 2014

RESUME

La leishmaniose est une maladie parasitaire largement répandue dans le monde. En l'absence de prophylaxie et de traitement adéquats le taux de létalité est souvent élevé. Ce dernier s'observe surtout dans les pays pauvres où la maîtrise de la lutte anti vectorielle est précaire souvent couplée à un diagnostic tardif ou inexistant.

Une étude épidémiologique des leishmanioses humaine et canine a été menée à Béjaïa, région connue pour être endémique. Les objectifs de cette étude étaient d'estimer les tendances épidémiologiques spatio-temporelles des leishmanioses humaines ainsi que la prévalence de la leishmaniose canine. La description des caractéristiques épidémiologiques et cliniques de la maladie était de mise afin de parfaire notre analyse.

Pour ce faire, nous avons analysé, de façon rétrospective, tous les cas de leishmanioses viscérale et cutanée recensés en dix ans (de 2003 à 2012), colligés au niveau de la direction de la santé et de la population de la wilaya de Béjaïa. Par la suite, nous avons mené une étude sérologique transversale sur la leishmaniose canine. L'échantillon a été sélectionné à l'aide d'un sondage stratifié, puis à deux degrés. Un autre échantillon composé de chiens capturés par la fourrière canine a été constitué. Ainsi, tous les échantillons de sérums ont été analysés par la technique d'Immunofluorescence Indirecte (IFI) à un seuil de positivité de 1/80. Une fiche de renseignement sur les chiens sélectionnés a été systématiquement remplie.

Afin d'enrichir notre étude, il a été nécessaire d'analyser la composition du peuplement phlébotomien dans la région d'étude (Bejaïa) en plus d'une identification des espèces de leishmanies. À cet effet des pièges huileux ont été installés au niveau de trois sites différents, et des prélèvements biologiques au niveau des ganglions et du sang ont été systématiquement réalisés. Ces derniers ainsi que les phlébotomes capturés ont été réservés pour une étude moléculaire par PCR et PCR-RFLP.

Les résultats ont montré que durant cette dernière décennie, 141 cas ont été recensés, soit un taux d'incidence de 1,44 par 10⁵ habitants. Au niveau national, la wilaya de Béjaïa vient au 6^{ème} rang en termes de leishmaniose viscérale. La majorité des patients (79,43%) avait un âge inférieur à 5 ans. Le ratio du sexe masculin était de 1,31. Enfin, la carte de distribution géographique des cas a montré que la partie Sud de la wilaya était la plus touchée.

Quant à la leishmaniose canine, sur un total de 511 chiens prélevés, trois niveaux de séroprévalence ont été identifiés soit 0,08 ± 0,06 dans la strate littorale ; 0,10 ± 0,04 dans la strate sub-littorale et 0,15 au niveau de la fourrière canine. Les chiens âgés de plus de 8 ans ont fourni la prévalence la plus élevée (29,41%). La race et le sexe ne semblent jouer aucun rôle dans l'infection ($p= 0,32$ et $0,37$), alors que l'activité du chien pourrait constituer soit un facteur délétère, soit un facteur protecteur. L'adénomégalie était le signe le plus fréquent (20,16%), alors que le portage asymptomatique était évalué à 39,28%.

Les résultats de l'étude du vecteur (phlébotome) montrent que sur 93 spécimens capturés, deux espèces de phlébotomes ont été identifiées. Il s'agit de *Phlebotomus perniciosus* (95,86%), vecteur de la leishmaniose vésicale et *Sergentomyia minuta* (4,30%), espèce herpétophile. Aucun vecteur de leishmaniose cutanée sporadique n'a été identifié.

L'étude moléculaire par PCR quant à elle a montré que les phlébotomes femelles capturés n'étaient pas porteurs d'ADN leishmanien. Par contre la PCR-RFLP appliquée sur des prélèvements biologiques appartenant à des chiens leishmaniens a permis de mettre en évidence l'espèce causale : *Leishmania infantum*.

Mots clés

Leishmaniose, homme, chien, épidémiologie, phlébotomes, IFI, PCR-RFLP, Béjaïa.

RESUME (en Arabe)

SUMMARY

Leishmaniasis is a world wide expanding parasitic disease which incidence is usually enhanced with poverty and low life standard. Because of their incapacity to contain the vector life cycle usually coupled to a late diagnosis and an inadequate treatment these affected countries are ineluctably in pray of a high lethal prognosis.

In order to investigate the leishmaniasis epidemiological evolution of the human disease in time and space, as well as its prevalence in canine specie; an epidemiological study has been conducted in Bejaia, well known as being an endemic district.

The goal of this study was to retrace the epidemiologic design of the disease and to reports the clinical and epidemiological characters observed among these investigations in human and dogs.

For This matter, all positive cases of both cutaneous and visceral leishmaniases registered by Bejaia's public health direction, during the decade between 2003 and 2012. have been promptly analyzed. Later on a transversal serological study on affected dogs has been conducted.

The sample has been selected according to a stratified survey, followed by a double stage sampling. Furthermore a dog pound sampling was added to our study in order to diversify our selection.

Thus, all sera samples were analyzed by the technique of Indirect Immunofluorescence (IFI) at a threshold of positivity 1/80. A detailed information form of selected dogs was systematically completed.

All along this investigation the sandfly population has been captured by oily traps and identified using the PCR and PCR-RFLP methods respectively. These latter have been also applied to lymph node and blood collected samples in order to recognize the main leishmanias species present among the dogs affected population.

The results have shown that during the last decade, 141 positive cases have been registered with an incidence rate of 1,44 per 10⁵ resident.

In term of recurrence of the disease, visceral leishmaniasis comes in the sixth place and thus in the district of Béjaia. Whereas the great majority of patient were under the age of five (79, 43%) the male sex ratio was around 1,31.

According to the map showing the geographic distribution of positive cases, the south part of the district was the most affected.

Regarding the canine leishmaniasis our study conducted on 511 dogs revealed three levels of seroprevalence ; 0,08 ± 0,06 in the coastal strip ; 0,10 ± 0,04 in the sub-coastal region and finally 0,15 in the dogs pound. Dogs older than 8 years have provided the highest prevalence (29.41%). Race and gender appear to play no role in catching (developing) the infection (p = 0.32 and 0.37 respectively), while the activity of the dog could be either a deleterious or a protective factor. The adenomegaly was the most observed symptom (20.16%), while asymptomatic carriage was much more significant and estimated at 39,28%.

Among all collected sandfly (93) only two species have been identified. It concerns mainly *Phlebotomus perniciosus* (95, 86%), vector of the visceral leishmaniasis and *Sergentomyia minuta* (4, 30%), herpétophile specie. Nevertheless, none of the species implicated in the cutaneous form has been found.

Molecular analysis by PCR showed that captured female sandflies did not carry leishmanien DNA. On the other hand, the PCR-RFLP applied to biological samples from infected dogs, was expressing the DNA of the main etiological species known as *leishmania infantum*.

Keywords

Leishmaniasis, human, dog, epidemiology, sandfly, IFI, PCR -RFLP, Béjaia.

REMERCEMENTS

A Madame K. Benachour-Oumouna

Maître de Conférences à l'Université de Médéa, qui m'a permis de réaliser ce travail, pour son encouragement, sa disponibilité ainsi que pour les efforts qu'elle a consenti pour la correction de mon mémoire. Veuillez trouver ici le témoignage de mon affection et de mon estime.

A Monsieur Z. Harrat

Directeur de recherche et Chef de Service du Laboratoire d'Eco-Epidémiologie Parasitaire et Génétique des Population (Institut Pasteur d'Algérie) d'avoir co-encadré ce travail. Sa disponibilité, son soutien et ses conseils m'ont permis de réaliser ce mémoire. Il m'a permis de découvrir d'autres horizons scientifiques au cours de mon stage dans son laboratoire.

A Monsieur R. Kaidi

Professeur à l'université Saad Dahleb de Blida, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury, qu'il trouve ici l'expression de ma parfaite reconnaissance et mes vifs remerciements.

A Monsieur K. Rahal

Professeur à l'université Saad Dahleb de Blida, qui m'a fait l'honneur de faire partie de mon jury, et de juger mon travail. Sincères remerciements.

A Madame F. Ghalmi

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'El-Harrach, pour avoir bien voulu examiner mon travail. Sincères remerciements.

A toute l'équipe de recherche du laboratoire d'Eco-Epidémiologie Parasitaire et Génétique des Population, notamment **Ghania, Tahar, Assia, Sihem, Kamel et Rafik**. Je vous remercie infiniment pour votre gentillesse, votre amitié et pour votre aide précieuse.

A l'Institut Pasteur d'Algérie qui a contribué à la réalisation de cette étude en m'offrant un stage d'un an au sein de l'un de ses laboratoires, et en mettant tous les moyens nécessaires à ma disposition.

A Monsieur M. Oumouna

Professeur à l'Université de Médéa, pour son encouragement, sa disponibilité et sa précieuse aide.

A Monsieur M.A. Bekara

Doctorant épidémiologiste à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, pour son aide précieuse, pour sa disponibilité, d'avoir toujours répondu à mes questions infinies. Je lui suis infiniment reconnaissant.

A Monsieur B. Davoust

Enseignant épidémiologiste à l'université de Marseille, de m'avoir envoyé une documentation riche et d'avoir toujours répondu à mes nombreux mails.

A Monsieur K. Mazri

Médecin spécialiste des maladies Parasitaires et Mycosiques au CHU Khellil Amrane de Béjaïa, pour son aide précieuse.

A Monsieur A. DRIS

Inspecteur vétérinaire de la wilaya de Béjaïa, de m'avoir facilité l'accès pour la réalisation des prélèvements.

A Mademoiselle Y. REDJAL

Vétérinaire étatique de la wilaya de Béjaïa, pour sa précieuse aide dans la réalisation des prélèvements. Je lui suis infiniment reconnaissant.

Aux responsables des APC des communes étudiées de m'avoir facilité l'accès aux différents villages et localités.

A tous les vétérinaires de la wilaya de Béjaïa qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de cette enquête.

Aux populations de Béjaïa sans qui ce travail n'aurait pu voir le jour. Merci pour votre coopération, votre sympathie, et pour votre bienveillance.

DEDICACE

A mes parents

Pour l'enfance merveilleuse qu'ils m'ont offerte ainsi que pour leurs encouragements.

Avec tout mon amour

A mes frères et sœurs

Pour tous les bons moments passés ensemble et pour tous ceux à venir.

Pour leur soutien, leur aide et leur sourire.

A mes cousins et cousines

Avec toute ma tendresse.

A mes oncles, notamment Mouloud

Avec tout mon respect.

A tous mes amis de langue date notamment ceux que j'ai connus au lycée
CHABANE Amar d'Aokas :

Nabil, Takfarinas, Fouzia, kahina, Sonia, et Ryma

Pour leur bonne humeur, leur gentillesse et pour tous nos fous rires partagés.

A mes amis que j'ai connus à la fac :

Sofiane, Lounis, Hamza, Hanane, Kawthar, Fatah, Madjid, Amine, Djamel, Laid...

A Monsieur KALEM A. et toute sa famille

Avec tout mon respect

A tous les enseignants de l'Institut des Sciences Vétérinaires Blida-1,
notamment Mr. TRIKI-YAMANI R., Mr. GHARBI S. et Mme. GHOURI I.

TABLE DES MATIERES

RESUME.....	1
REMERCIEMENTS.....	7
TABLE DES MATIERES.....	10
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	15
INTRODUCTION	23
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	25
CHAPITRE 1 : RAPPELS SUR LES LEISHMANIOSES HUMAINE ET CANINE.....	25
1.1. Définition.....	25
1.2. Historique.....	26
1.3. Importance.....	27
1.3.1. Médicale.....	27
1.3.2. Sanitaire.....	27
1.3.3. Economique.....	28
1.4. Etiologie.....	29
1.4.1. Le parasite.....	29
1.4.1.1. Taxonomie.....	29
1.4.1.2. Morphologie.....	33
1.4.1.3. Biologie	35
1.4.1.4. Cycle parasitaire.....	35
1.4.2. Les vecteurs.....	38
1.4.2.1. Définition et morphologie.....	38
1.4.2.2. Biologie.....	41
1.4.2.2.1. Habitat.....	41
1.4.2.2.2. Nutrition.....	41
1.4.2.2.3. Cycle évolutif.....	42
1.4.3. Les réservoirs de parasites.....	43
1.4.3.1. Les animaux comme réservoirs.....	43
1.4.3.1.1. Le chien comme réservoir domestique et principal.....	43
1.4.3.1.2. Le chat comme réservoir occasionnel.....	44
1.4.3.1.3. Les canidés sauvages en tant que réservoirs selvatiques.....	45
1.4.3.1.4. Les rongeurs comme réservoirs.....	45
1.4.3.2. L'homme en tant que réservoir.....	47
CHAPITRE 2 : EPIDEMIOLOGIE DES LEISHMANIOSES.....	49
2.1. Définition et développement de l'épidémiologie.....	49
2.1.1. Définition.....	49
2.1.2. Les objectifs de l'épidémiologie.....	49

2.1.3. Types d'enquêtes épidémiologiques.....	50
2.1.3.1. L'épidémiologie descriptive.....	50
2.1.3.2. L'épidémiologie analytique.....	51
2.1.3.3. L'épidémiologie expérimentale.....	51
2.1.3.4. L'épidémiologie théorique.....	51
2.1.4. Mesures en épidémiologie.....	51
2.1.4.1. Mesures de base.....	52
2.1.4.1.1. Proportion.....	52
2.1.4.1.2. Ratio.....	52
2.1.4.1.3. Cote.....	52
2.1.4.1.4. Indice.....	52
2.1.4.1.5. Taux.....	52
2.1.4.2. Les principaux indicateurs épidémiologiques.....	53
2.1.4.2.1. Prévalence.....	53
2.1.4.2.1. Incidence	53
2.2. Epidémiologie des leishmanioses humaine et canine.....	54
2.2.1. Epidémiologie descriptive.....	54
2.2.1.1. Répartition Mondiale des leishmanioses humaine et canine.....	54
2.2.1.2. Incidence mondiale des leishmanioses humaines.....	57
2.2.1.3. Prévalence mondiale de la leishmaniose canine.....	57
2.2.1.4. Répartition géographique en Algérie.....	59
2.2.1.5. Incidence des leishmanioses humaines en Algérie.....	62
2.2.1.6. Prévalence de la leishmaniose canine en Algérie.....	63
2.2.2. Epidémiologie analytique.....	63
2.2.2.1. Espèces responsables des leishmanioses.....	63
2.2.2.2. Modes de transmission.....	64
2.2.2.3. Facteurs de risque.....	65
2.2.2.3.1. Pour l'homme.....	65
2.2.2.3.2. Pour l'animal (chien).....	67
2.2.2.3.2.1. Facteurs intrinsèques.....	67
2.2.2.3.2.2. Facteurs extrinsèques.....	69
2.3. Changement climatique et évolution de la leishmaniose.....	70
CHAPITRE 3 : ETUDE CLINIQUE ET DIAGNOSTIQUE.....	72
	72
3.1. Pathogénie.....	73
3.2. Manifestations cliniques.....	73
3.2.1. Chez l'homme.....	76
3.2.2. Chez le chien.....	81
3.3. Diagnostic.....	81
3.3.1. Chez l'homme.....	82
3.3.2. Chez le chien.....	82

3.3.2.1. Diagnostic épidémioclinique.....	82
3.3.2.2. Diagnostic de laboratoire.....	82
3.3.2.2.1. Diagnostic direct	82
3.3.2.2.2. Diagnostic indirect	87
3.3.2.2.3. Exploration de l'immunité cellulaire : Test de Monténégro.....	92
3.3.2.3. Diagnostic différentiel.....	92
3.3.2.3.1. Chez l'homme.....	92
3.3.2.3.2. Chez le chien.....	93
3.4. Pronostic.....	94
3.4.1. Chez l'homme.....	94
3.4.2. Chez le chien.....	95
CHAPITRE 4 : TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE.....	96
4.1. Traitement des leishmanioses chez l'homme.....	96
4.1.1. Traitement de la leishmaniose viscérale.....	96
4.1.1.1. Molécules de première intention.....	96
4.1.1.2. Molécules de deuxième intention.....	99
4.1.2. Traitement de la leishmaniose cutanée.....	102
4.2. Traitement chez le chien.....	103
4.2.1. Traitement symptomatique.....	103
4.2.2. Traitement spécifique.....	104
4.3. Prophylaxie.....	106
4.3.1. Prophylaxie des leishmanioses humaines.....	106
4.3.1. Prophylaxie de la leishmaniose canine.....	107
4.3.1.1. Vaccination contre la leishmaniose canine.....	107
4.3.1.1. Lutte anti-vectorielle.....	108
CONCLUSION GENERALE DE LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	109
PARTIE EXPERIMENTALE.....	110
CHAPITRE 5 : ETUDE I : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE RETROSPECTIVE DES LEISHMANIOSES HUMAINES.....	110
5.1. Introduction.....	110
5.2. Matériel et méthodes.....	111
5.3. Résultats.....	111
5.3.1. Au niveau national.....	111
5.3.1.1. Evolution dans le temps.....	111
5.3.1.2. Répartition dans l'espace.....	116

5.3.2. Au niveau de la wilaya de Béjaia.....	121
5.3.2.1. Evolution dans le temps	121
5.3.2.1.1. Evolution des zoonoses.....	121
5.3.2.1.2. Evolution des leishmanioses.....	124
5.3.2.2. Répartition selon l'âge	126
5.3.2.3. Répartition selon le sexe	127
5.3.2.4. Répartition saisonnière.....	127
5.3.2.5. Répartition dans l'espace.....	128
5.4. Discussion.....	132
5.5. Conclusion.....	141
CHAPITRE 6 : ETUDE II : ETUDE SEROLOGIQUE.....	142
6.1. Introduction.....	142
6.2. Matériel et méthodes.....	143
6.2.1. Définition des indicateurs épidémiologiques.....	143
6.2.1.1. Zone d'étude.....	143
6.2.1.2. Période d'étude.....	144
6.2.1.3. Définition du cas.....	144
6.2.1.4. Unité épidémiologique.....	144
6.2.1.5. Population d'étude.....	145
6.2.2. Echantillonnage	145
6.2.2.1. Sondage stratifié.....	145
6.2.2.2. Sondage à deux degrés.....	147
6.2.3. La mesure.....	150
6.2.3.1. Performances du test.....	150
6.2.3.2. Standardisation du test.....	150
6.2.4. Identification de l'animal et examen clinique.....	150
6.2.5. Prélèvement.....	151
6.2.6. Au laboratoire.....	154
6.2.6.1. Matériel.....	154
6.2.6.2. Réalisation de la technique IFI.....	155
6.2.6.3. Lecture et interprétation des résultats.....	157
6.3. Résultats.....	158
6.4. Discussion.....	171
6.5. Conclusion.....	178
CHAPITRE 7 : ETUDE III : ETUDE DU VECTEUR.....	179
7.1. Introduction.....	179
7.2. Matériel et méthodes.....	179
7.3. Résultats.....	181
7.4. Discussion.....	182

7.5. Conclusion	184
CHAPITRE 8 : ETUDE IV : ETUDE MOLECULAIRE PAR PCR ET PCR-RFLP.....	185
8.1. Introduction.....	185
8.2. Matériel et méthodes.....	185
8.3. Résultats.....	192
8.4. Discussion.....	195
8.5. Conclusion.....	197
CONCLUSION GENERALE.....	198
RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....	200
APPENDICES.....	201
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	235

LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

A. LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: William Boog LEISHMAN.....	26
Figure 1.2: Charles DONOVAN.....	26
Figure 1.3: Principaux complexes du genre <i>Leishmania</i>	30
Figure 1.4 : Taxonomie de leishmania.....	31
Figure 1.5 : Forme amastigote de <i>leishmania</i> à l'intérieur des macrophages	34
Figure 1.6 : Forme promastigote de <i>leishmania</i>	34
Figure 1.7 : Cycle de vie de <i>Leishmania</i> dans un vecteur compétent	36
Figure 1.8 : Les changements dans la forme des cellules au cours du cycle de vie des <i>Leishmanies</i>	37
Figure 1.9 : <i>Phlebotomus papatasi</i> et <i>phlebotomus perniciosus</i>	38
Figure 1.10: Cycle évolutif du <i>Phlebotomus</i> sp.....	42
Figure 1.11 : Canidés sauvages. (a) <i>Canis lupus</i> . (b) <i>Vulpes vulpes</i> . (c) <i>Nyctereutes procyonoides</i>	45
Figure 1.12 : Rongeurs réservoirs de <i>L. major</i> en Algérie.....	46
Figure 1.13 : Espèces de damans. (a) <i>Procapra capensis</i> . (b) <i>Heterohyrax brucei</i>	46
Figure 1.14: Cycle évolutif de <i>Leishmania</i> spp. avec les différentes formes cliniques chez l'homme.....	55
Figure 2.1 : Distribution géographique mondiale de la leishmaniose viscérale.	55
Figure 2.2 : Répartition mondiale de la leishmaniose cutanée	55
Figure 2.3 : Répartition de la leishmaniose canine en Europe en 2010.	56
Figure 2.4 : Incidences annuelles pour 10 ⁵ habitants et par Wilaya de leishmanioses viscérales en 2010.....	61
Figure 2.5 : Incidences annuelles pour 10 ⁵ habitants et par Wilaya de leishmanioses cutanées en 2010.....	62
Figure 3.1: Réponse immunitaire à l'infection leishmanienne	73
Figure 3.2 : Aspect clinique de LV. Détection de l'abdomen	74
Figure 3.3: Aspect clinique de la leishmaniose cutanéomuqueuse.....	75
Figure 3.4 : Aspects cliniques de LC.....	76
Figure 3.5 : Chancre d'inoculation à la face interne du pavillon auriculaire.....	78

Figure 3.6: Amaigrissement et lésions dermatologiques chez un chien leishmanien.....	78
Figure 3.7: Adénomégalie poplitée.....	78
Figure 3.8 : Atteintes oculaires chez un chien leishmanien.....	78
Figure 3.9 : Arthralgie.....	79
Figure 3.10 : Épistaxis.....	79
Figure 3.11 : Onychogribose	79
Figure 3.12: Furfur leishmanien	79
Figure 3.13: Ulcère et squamosis.....	79
Figure 3.14:Dépilation en lunettes.....	79
Figure 3.15: Alopécie généralisée	80
Figure 3.16: Tête de « vieux chien » : amyotrophie prononcée	80
Figure 3.17 : Technique d'immunofluorescence indirecte (IFI).....	88
Figure 3.18 : Technique ELISA.	89
Figure 5.1 : Évolution de l'incidence (nombre de cas) de la LV en Algérie de 2002 à 2011.....	112
Figure 5.2 : Évolution de l'incidence (taux) de la LV en Algérie de 2002 à 2011	113
Figure 5.3 : Évolution de l'incidence (nombre de cas) de la LC en Algérie de 2002 à 2011.	114
Figure 5.4 : Évolution de l'incidence (taux) de la LC en Algérie de 2002 à 2011.	114
Figure 5.5 : Évolution du nombre de Wilayas présentant des foyers de leishmaniose (LV et LC) en Algérie de 2002 à 2011.	115
Figure 5.6 :Taux d'incidence pour 10 ⁵ habitants et par wilayas des leishmanioses viscérales rapportées au niveau de l'Institut National de Santé Public (INSP) entre 2002 et 2011.	119
Figure 5.7 :Taux d'incidence pour 10 ⁵ habitants et par wilayas des leishmanioses cutanées rapportées au niveau de l'Institut National de Santé Public (INSP) entre 2002 et 2011.	120
Figure 5.8 : Proportion des zoonoses à Béjaia, sur une période de 10 ans (de 2002 à 2012).....	123
Figure 5.9 : Évolution de l'incidence (nombre des cas) des leishmanioses (LV et LC) à Béjaia de 2003 à 2012.....	125
Figure 5.10 : Évolution de taux d'incidence pour 10 ⁵ habitants des leishmanioses (LV et LC) à Béjaia de 2003 à 2012.	125

Figure 5.11: Répartition du nombre et du pourcentage des cas de leishmaniose en fonction de l'âge.	126
Figure 5.12 : Répartition des leishmanioses humaines à Béjaia selon le sexe. .	127
Figure 5.13 : Répartition mensuelles des leishmanioses humaines à Béjaia.	128
Figure 5.14 : Répartition géographique des 141 cas de leishmanioses humaines (LV et LC) à Béjaia, de 2003 à 2012.	130
Figure 5.15 : Incidence annuelle moyenne pour 10 ⁵ habitants et par commune des leishmanioses rapportées au niveau de DSP de la wilaya de Béjaia entre 2003 et 2012.	131
Figure 6.1 : les deux strates définies dans la région d'étude.	146
Figure 6.2 : Communes échantillonnées dans chacune des deux zones.	147
Figure 6.3 : Schéma récapitulatif d'échantillonnage.	149
Figure 6.4: Désinfection du site de ponction.	152
Figure 6.5: Prélèvement sanguin au niveau de la veine radiale.	152
Figure 6.6: Identification de l'échantillon et remplissage de la fiche de renseignement.	152
Figure 6.7: Centrifugation.	153
Figure 6.8: Récolte du sérum.	153
Figure 6.9: Sérums dans des tubes Eppendorfs référenciés.	153
Figure 6.10 : Lames sensibilisées à l'antigène et séchées.	155
Figure 6.11 : Fixation à l'acétone.	155
Figure 6.12 : Séchage des lames à l'étuve.	155
Figure 6.13 : Dilution des sérums.	156
Figure 6.14 : Lames dont les spots sont recouverts de 10 µl de chaque dilution.	156
Figure 6.15 : Incubation des lames dans l'étuve.	156
Figure 6.16 : Lavages des lames au PBS.	157
Figure 6.17 : Coloration des lames par le bleu d'EVANS.	157
Figure 6.18 : Présence de fluorescence en microscope à fluorescence G X40. .	158
Figure 6.19 : Nombre de cas positifs et négatifs en fonction de l'âge.	159
Figure 6.20 : Nombre de cas en fonction du sexe.	160
Figure 6.21 : Nombre de cas en fonction de race.	162
Figure 6.22 : Nombre de cas en fonction de l'activité.	163
Figure 6.23: Fréquence des signes cliniques.	165
Figure 6.24 : Amaigrissement.	165

Figure 6.25 : Ulcération au niveau de l'oreille.....	165
Figure 6.26 : Dépilation au niveau de la face et signe de lunette	166
Figure 6.27 : Abattement et aspect du vieux chien	166
Figure 6.28 : Onychogryphose et ulcère	166
Figure 6.29 : Onychogryphose.....	166
Figure 6.30 : Squamosis	166
Figure 6.31 : Hyperkératose.....	167
Figure 6.32 : Epistaxis.....	167
Figure 6.33 : Aspect du vieux.....	167
Figure 6.34 : Escarre au niveau articulaire.....	167
Figure 6.35 : Signe de lunette.....	167
Figure 6.36 : Uvéite.....	167
Figure 6.37 : Amaigrissement, dépilation généralisée, ulcère.....	168
Figure 6.38 : Amaigrissement, abattement, dépilation, signes de lunette, lésions.....	168
Figure 6.39 : Fréquence des cas positifs et négatifs en fonction de l'origine géographique.	169
Figure 7.1 : Phlébotome femelle	181
Figure 7.2 : Phlébotome mâle.	181
Figure 7.3 : Valves péniennes de <i>Phlébotomus perniciosus</i>	182
Figure 7.4 : Génitalia mâle du genre <i>Phlébotomus</i> : style avec 5 épines.....	182
Figure 8.1 : prélèvement de ganglions.....	186
Figure 8.2 : Prélèvement de tiques.....	186
Figure 8.3 : Incubation des échantillons dans un bain à sec.....	187
Figure 8.4 : Centrifugation rapide à 8000 tr/min des échantillons.....	187
Figure 8.5 : Mise du mix dans un tube collecteur à filtre.....	188
Figure 8.6 : Kit d'extraction d'ADN, type QIAamp QIAGEN®.....	189
Figure 8.7 : Représentation schématique de la région ITS1.....	189
Figure 8.8 : Préparation du Mix.....	190
Figure 8.9 : Thermocycleur.....	190
Figure 8.10: Electrophorèse sur gel d'agarose à 1,5%.....	191
Figure 8.11 : Résultats de la PCR (ITS1) d'échantillons de phlébotomes.....	192

Figure 8.12 : Résultats de la PCR (ITS1) d'échantillons de puces.....	193
Figure 8.13 : Résultat de la PCR-RFLP des différents prélèvements sur gel d'agarose 3.5%.....	194

B. LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Distribution géographique des espèces de <i>Leishmanies</i> infectant les chiens et leurs vecteurs.	31
Tableau 1.2 : Liste des espèces de phlébotomes représentées en Algérie	39
Tableau 2.1 : Prévalences de la leishmaniose canine dans les pays européens entourant le bassin méditerranéen.....	56
Tableau 2.2 : Prévalences de la leishmaniose canine dans les pays du Maghreb.	57
Tableau 2.3 : Prévalences de la leishmaniose canine dans les pays du Moyen-Orient entourant le bassin méditerranéen.	57
Tableau 2.4 : Prévalences de la leishmaniose canine en Algérie.	62
Tableau 3.1 : Symptômes observés lors de leishmaniose canine.....	76
Tableau 3.2 : Prévalence de certains signes cliniques lors de leishmaniose canine cliniquement déclarée.	79
Tableau 3.3 : Méthodes de diagnostic de la leishmaniose humaine.	80
Tableau 3.4: Dermatoses intervenant dans le diagnostic différentiel de la leishmaniose canine.....	93
Tableau 4.1 : Schémas thérapeutiques recommandés pour la leishmaniose viscérale due à <i>L. infantum</i> : Bassin méditerranéen, Moyen -Orient, Asie centrale, Amérique du Sud.....	101
Tableau 4.2 : Posologie des médicaments utilisés dans le traitement contre la leishmaniose cutanée	102
Tableau 4.3 : Traitement de consensus de la leishmaniose canine.....	103
Tableau 5.1 : Évolution de l'incidence (nombre et taux) déclarés de leishmaniose humaine en Algérie de 2002 à 2011.	110
Tableau 5.2: Régions (Wilayas) d'origine des cas de leishmanioses déclarés au niveau de l'INSP, de 2002 à 2011: nombre de cas par formes de leishmanioses, nombres totaux de cas, nombres moyens annuels et taux d'incidences annuelles moyennes pour 10 ⁵ habitants.	115
Tableau 5.3 : Evolution du nombre de cas de zoonoses à Béjaia, de 2002 à 2012.	121
Tableau 5.4 : Prévalence (nombre de cas) des zoonoses à Béjaia et leurs proportions, sur une période de 10 ans (de 2002 à 2012).	122
Tableau 5.5 : Évolution de l'incidence (nombre et taux) déclarés de leishmaniose humaine à Béjaia de 2003 à 2012.....	123
Tableau 5.6 : Répartition de nombre des cas selon l'âge.	125

Tableau 5.7 : Nombre de cas selon le sexe.	126
Tableau 5.8 : Répartition mensuelle des cas.	127
Tableau 5.9 : Communes d'origine des cas de leishmanioses déclarés au niveau de la DSP de la Wilaya de Béjaia, de 2003 à 2012: nombre de cas par formes de leishmanioses, nombres totaux de cas, nombres moyens annuels et taux d'incidences pour 10 ⁵ habitants.	128
Tableau 6.1: Nombre de chiens positifs et négatifs, et les pourcentages correspondants en fonction des classes d'âges.....	157
Tableau 6.2 : Répartition du nombre de chiens et les pourcentages associés en fonction du sexe.....	159
Tableau 6.3 : Nombre de cas en fonction de la race.....	160
Tableau 6.4 : Nombre de cas en fonction de l'activité.....	162
Tableau 6.5 : Fréquences des signes cliniques observés chez les chiens positifs et négatifs.	163
Tableau 6. 6 : Fréquence des signes cliniques chez les chiens positifs.....	164
Tableau 6.7: Fréquences des cas positifs et négatifs selon l'origine géographique.	167
Tableau 6. 8 : Prévalences apparentes et réelles	169
Tableau 6. 9 : Valeurs prédictives positive et négative	170
Tableau 7.1 : Nombre de phlébotomes capturés par genre/espèce et station. ...	188
Tableau 8.1 : Protocole de préparation du Mix pour la PCR-ITS1.....	189
Tableau 8.2 : Programme thermocycleur.....	189
Tableau 8.3 : Protocole de préparation du Mix pour la PCR-RFLP.....	190
Tableau 8.4 : Résultat de la PCR sur les phlébotomes.....	191
Tableau 8.5 : Résultat de la PCR standard sur des prélèvements de puces et de tiques.....	192
Tableau 8.6 : Résultat de la PCR standard sur des prélèvements de ganglions et de sang.....	193

INTRODUCTION

Les leishmanioses sont des maladies infectieuses transmises par des diptères piqueurs, les phlébotomes femelles. Elles sont dues au parasitisme des mammifères, dont l'homme, par des protozoaires flagellés du genre *Leishmania*. La plupart de ces affections se présentent comme des zoonoses.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé [1], près de 370 millions de personnes sont exposées au risque de contracter la maladie. Elle estime à 12 millions le nombre de personnes atteintes, et quelques 2 millions de nouveaux cas se déclarent chaque année. C'est pourquoi la leishmaniose représente l'une des préoccupations majeures de l'OMS, au même titre que le sida, le paludisme et la tuberculose ; c'est d'ailleurs un des six programmes de lutte prioritaire pour l'OMS.

En Algérie, les leishmanioses sont un problème majeur de santé publique. Elles occupent la première place dans les maladies parasitaires et représentent 35 % des maladies à déclaration obligatoire [2]. Pour faire face à ce fléau, l'Algérie a adopté, en urgence, une stratégie de lutte intégrée ciblant les différents maillons du cycle épidémiologique de la maladie avec mise en œuvre d'un programme national de lutte contre la leishmaniose depuis 2006 [3].

Parallèlement, la leishmaniose canine est une maladie d'importance croissante, elle est répandue dans environ 50 pays, et sévit sous forme enzootique dans de nombreux pays méditerranéens. Le chien est reconnu comme le seul réservoir domestique de *Leishmania infantum* [4]. En effet, des études épidémiologiques effectuées partout dans le monde (Brésil, Italie, Algérie..) ont montré qu'il y a une étroite corrélation entre la prévalence de la leishmaniose canine et l'incidence de la leishmaniose viscérale humaine [5], [6], [7].

L'objectif principal de cette présente étude est d'évaluer la prévalence de la leishmaniose canine à Béjaia, région faisant partie du foyer historique de Kabylie, et d'en rappeler certaines caractéristiques épidémiologiques et cliniques. Au préalable, une étude rétrospective des leishmanioses humaines a été menée dans

la même région afin d'estimer les tendances épidémiologiques spatio-temporelles de cette parasitose durant ces dix dernières années. Par la suite, nous allons enrichir notre enquête par une étude entomologique portant sur les phlébotomes d'une part, ainsi que par une étude moléculaire : PCR standard et PCR-RFLP, d'autre part.

CHAPITRE 1

RAPPELS SUR LES LEISHMANIOSES HUMAINE ET CANINE

1.1 Définition

Les leishmanioses sont un groupe de maladies parasitaires dues à des protozoaires flagellés appartenant au genre *Leishmania*. Ces parasites affectent de nombreuses espèces de mammifères, dont l'homme [8], auxquelles ils sont transmis par la piqûre infestante d'un insecte diptère vecteur hématophage [9], [8] appartenant au genre *Phlébotomus* dans l'ancien monde et *Lutzomyia* dans le nouveau monde [10]. Ce sont des maladies infectieuses dues au parasitisme des cellules mononuclées par des protozoaires flagellés [11].

La leishmaniose humaine est également appelée « Kala-azar méditerranéen » ou « Kala-azar infantile », par analogie avec la leishmaniose viscérale indienne. On distingue chez l'homme une leishmaniose viscérale, une leishmaniose cutanée ainsi qu'une forme cutané-viscérale. Chez le chien, la maladie s'étend à tous les organes sous la forme d'une leishmaniose générale [12].

La leishmaniose canine est une maladie protéiforme, associant des troubles généraux à des symptômes extrêmement variés. C'est une maladie chronique, évoluant sur plusieurs mois elle est difficile à traiter et souvent sujette à des rechutes d'où son pronostic réservé. Chez le chien non traité la mort est inéluctable alors que la mise en place d'un traitement engendre fréquemment des effets secondaires indésirables pour l'animal. Sa gravité est amplifiée par la difficulté du diagnostic, liée à l'existence de porteurs asymptomatiques, à une durée d'incubation parfois très longue ainsi qu'à une absence quasi présente de séroconversion [13].

1.2 Historiques

Au cours du XIXe siècle, apparurent des épidémies sous le nom de " kala-azar " ou de fièvre " dum-dum " qui s'étendaient de la Grèce à l'Inde. A cette époque, les observateurs de ces épisodes de fièvres, pensaient qu'elles étaient dues à une forme de paludisme. A la fin du XIXe siècle, Sir Manson Patrick pensa que ces fièvres étaient plutôt dues à un trypanosomose du fait du manque de régularité des périodes de fièvres.

C'est en 1903, alors qu'il étudiait des trypanosomes chez un rat, que William Leishman, médecin Ecossais (figure 1.1) put observer des frottis de rate d'un soldat mort à Calcutta, pensant y voir des " corps en involution ". Durant la même année, un médecin Irlandais, Donovan (figure 1.2) put observer ces mêmes éléments provenant de ponctions de rates .Sir Ronald Ross créa le genre *Leishmania*.et c'est en leur honneur qu'apparu le taxon *Leishmania donovan* [14].



Figure 1.1: William Boog LEISHMAN
(1865-1926)



Figure 1.2: Charles DONOVAN
(1863-1915)

Source : <http://www.levriers.net/leishmaniose.html>

En 1908, Nicolle et Comte décèlent les mêmes protozoaires chez le chien à l'institut Pasteur de Tunis 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 phlébotomes infectés en laboratoire est décrite en 1941 par Adler et Ber in EUZEBY (1986) [15].

En Algérie, le premier cas de leishmaniose canine a été rapporté par les frères SERGENT en 1910 [16]. Et le premier cas humain de leishmaniose viscérale a été découvert en 1911 [17].

1.3 Importance

L'importance des leishmanioses canines et humaines n'est pas négligeable puisque l'incidence en zone d'endémie est relativement élevée :

1.3.1 Médicale

L'importance médicale de la leishmaniose canine en est donc considérable, puisqu'il s'agit d'une cause fréquente de consultation, les rechutes étant très fréquentes. Les difficultés de traitement des sujets atteints pourraient s'expliquer par une leishmaniose causée par des leishmanies de types différents, dont les caractéristiques et la sensibilité aux molécules thérapeutiques utilisées ne sont pas semblables [18].

1.3.2 Sanitaire

L'importance sanitaire est due au caractère zoonotique de la maladie, qui, bien que rarement exprimée, reste non négligeable [19]. La leishmaniose viscérale méditerranéenne n'est plus comme dans le passé une maladie infantile elle a été observée aussi bien chez les sujets adultes immunodéprimés de façon iatrogène (traitements immunodépresseurs pour les greffes, corticoïdes,

anticancéreux [20] ou de façon pathologique (co-infection par le virus de l'immunodéficience acquise VIH [21]. Le chien représente le principal réservoir, mais l'homme co-infecté a été en mesure d'infecter le phlébotome [22].

1.3.3 Economique

L'importance économique est liée au coût des consultations, des traitements (souvent à vie), et des méthodes de prophylaxie, très développées en zone d'endémie.

Concernant la leishmaniose humaine, les couts relatifs aux consultations, aux examens de laboratoire, aux soins, aux journées d'hospitalisation et au traitement sont tels que dans certains pays le budget qui leur est consacré dépasse celui des soins de santé publique [23].

Par exemple, Le traitement de première intention de la leishmaniose viscérale coûte cher et doit être administré par injection à l'hôpital. Les patients atteints dans les pays en voie de développement sont donc directement confrontés à des problèmes financiers et d'accès aux structures de soin [24] :

- éloignement des centres thérapeutiques, absence de moyens de transport.
- traitement inabordable ou qui impose une trop lourde charge financière.

Prix moyens des cures en dollars américains [25] :

- Stibogluconate de sodium → 150\$, 30\$ pour le générique,
- Antimoniote de méglumine → 120\$,
- Amphotéricine B → 60\$,
- Pentamidine → 70\$,
- L'amphotéricine B liposomale a peu d'effets secondaires mais coûte trop cher dans les pays en développement : 1 500\$ minimum

Pour toutes ces raisons, les malades ne sont pas traités ou observent mal le traitement initié, ce qui accroît le risque de pharmacorésistance [26].

1.4 Etiologie

1.4.1 Le parasite

Les *leishmanies* sont des protozoaires flagellés appartenant à l'ordre des Kinétoplastidés et à la famille des Trypanosomatidés [8].

1.4.1.1 Taxonomie

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 écobiologiques puis immunologiques, la classification des leishmanies utilise aujourd'hui des marqueurs d'ADN. Cependant, elle est encore arbitraire et discutée [27].

Le genre *Leishmania* comprend une trentaine d'espèces de Leishmanies connues à présent, environ 20 sont pathogènes pour l'homme [28]. Selon la portion intestinale de l'hôte intermédiaire (phlébotome) infestée par le parasite, ils sont classés en deux sous-genres [27] :

- sous genre « *Leishmania* » avec *Leishmania infantum*, *L. donovani*, *L. tropica*, *L. major*, *L. mexicana* dont la répllication a lieu dans l'intestin moyen,
- sous genre « *Viannia* » avec *Leishmania braziliensis* et *L. peruviana* qui se répliquent dans l'intestin distal.

Cependant, DEDET [8] s'est basé sur d'autres critères, à savoir la distribution géographique et l'expression clinique principale, pour donner une nouvelle classification des sous-genres. Selon lui, le genre leishmania est divisé en 2 sous-genres : *Leishmania* stricto sensu présent à la fois dans l'Ancien et le Nouveau Monde, et *Viannia*, sous-genre du Nouveau Monde. Au sein de ces sous-genres sont individualisés des complexes d'espèces de valeur taxonomique différente suivant le type de classification, et dont une représentation schématique est donnée sur la figure 1.3.

Sous-genre <i>Leishmania</i>			Sous-genre <i>Viannia</i>	
Ancien Monde	<i>L. donovani</i>	<i>L. tropica</i> <i>L. major</i> <i>L. aethiopica</i> <i>L. arabica</i>		
	<i>L. infantum</i>			
Nouveau Monde		<i>L. mexicana</i> <i>L. amazonensis</i> <i>L. venezuelensis</i>	<i>L. guyanensis</i> <i>L. panamensis</i> <i>L. shawi</i> <i>L. naiffi</i> <i>L. lainsoni</i> <i>L. peruviana</i>	<i>L. braziliensis</i>
Clinique	Leishmaniose viscérale	Leishmaniose cutanée		Leishmaniose cutanéomuqueuse

Figure 1.3: Principaux complexes du genre *Leishmania* repartis selon le sous-genre, le grand domaine géographique et l'expression clinique principale, [8]

Une classification récente des *Leishmanies* est rappelée en figure 1.4.

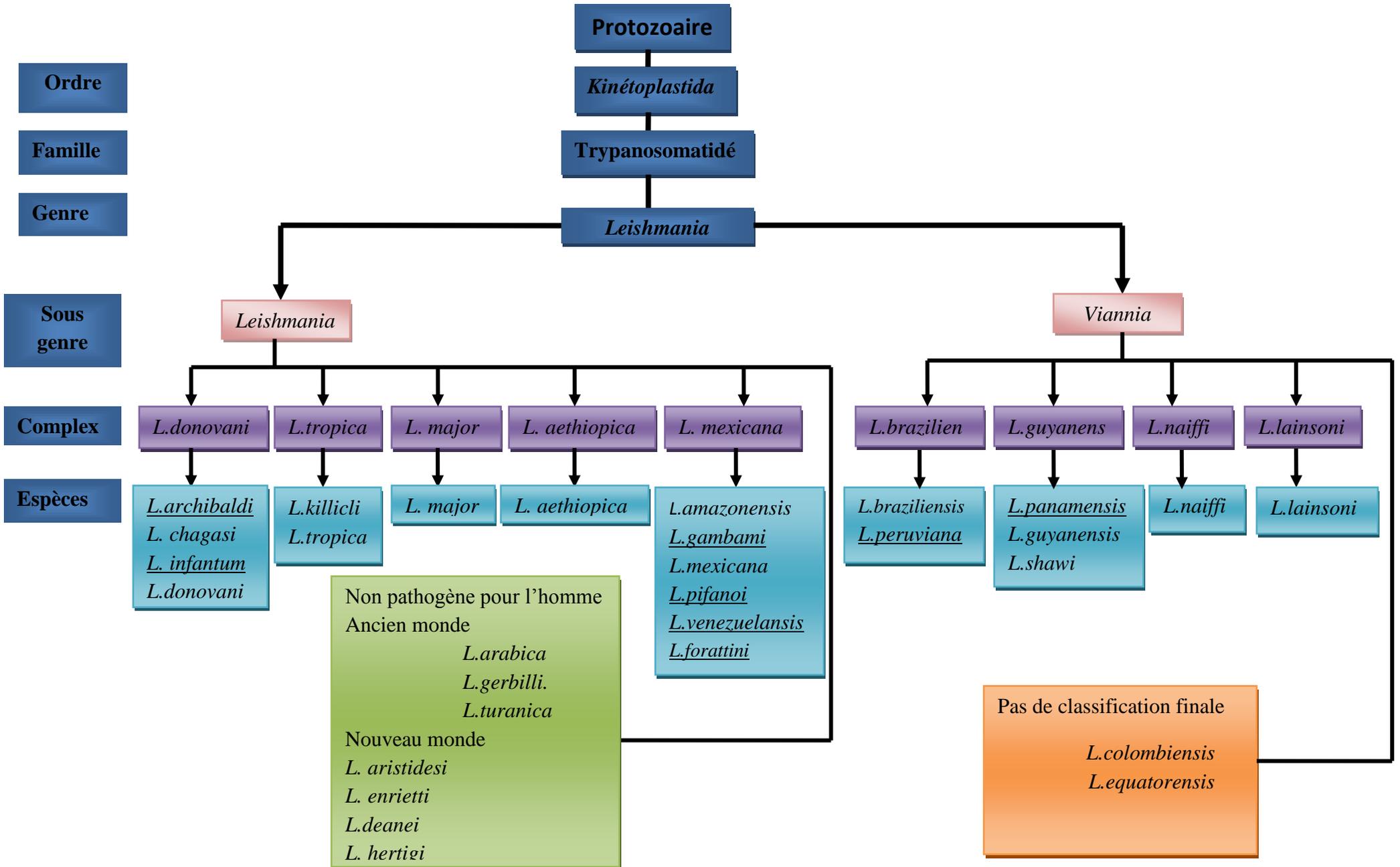


Figure 1.4 : Taxonomie de leishmania. Le classement des espèces soulignées est ou a été controversé [27].

La différenciation entre les espèces de *Leishmanies* se fait, principalement, par l'identification isoenzymatique, méthode de référence [29]. On définit par "zymodème" l'ensemble des souches présentant le même profil enzymatique. Plus de 200 zymodèmes sont à ce jour individualisés.

En Algérie, les espèces responsables des deux formes cliniques de leishmaniose appartiennent à deux complexes distincts : le complexe *L. infantum* et le complexe *L. major* [30]. Dans le complexe *L. infantum*, les zymodèmes responsables de la forme viscérale sont les MON-1 ; MON-24 ; MON-33 ; MON-34 ; MON-78 ; et MON-80. Quant à la leishmaniose cutanée, on trouve les zymodèmes MON-1 ; MON-24 et MON-80. Les zymodèmes MON-1, MON-34 et MON-77 étant isolés du réservoir canin et le MON-1 et le MON-24 de chez le vecteur ; toujours dans le complexe *L. infantum* [30]. Dans le complexe *L. major*, un seul zymodème a été isolé chez l'homme, le rongeur et le vecteur : il s'agit du MON- 25. Ce dernier est, également, l'agent causal de la leishmaniose cutanée en Tunisie [31]. En 2009, Ait oudhia [32] identifia chez le chien un nouveau zymodème, MON-281, qui appartient au complexe *L. infantum*.

Les espèces de leishmanies qui infectent le chien et leur distribution dans le monde sont listées dans le tableau 1.1

Tableau 1.1 : Distribution géographique des espèces de *Leishmanies* infectant les chiens et leurs vecteurs [33].

Espèces de Leishmanies	Distribution géographique	Vecteurs prouvés	Vecteurs suspectés
<i>L. infantum</i>	Bassin Méditerranéen Moyen Orient	<i>Phlebotomus perniciosus</i> , <i>P. ariasi</i> , <i>P. perfiliexi</i> , <i>P. neglectus</i> , <i>P. langeroni</i> , <i>P. tobbi</i> ,	<i>P. longicuspis</i> , <i>P. syriacus</i> , etc.
	Asie du Sud, Iran, Arménie, Afghanistan Asie centrale, Chine	<i>P. kandelakii</i> <i>P. chinensis</i> , <i>P. alexandri</i>	<i>P. brevis</i> , <i>P. halepensis</i> , etc <i>P. smirnovi</i> , <i>P.</i> <i>transcaucasicus</i> , <i>P. Longiductus</i>

<i>L. infantum</i> = <i>L. chagasi</i>	Amérique centrale et du sud	<i>Lutzomyia longipalpis</i> , <i>L. evansi</i> , <i>L. olmeca</i> <i>olmeca</i>	<i>L. antunesi</i> , <i>L. shannoni</i>
<i>L. donovani</i>	Afrique de l'est	<i>P. orientalis</i> , <i>P. martini</i>	<i>P. rodhaini</i>
<i>L. tropica</i>	Afrique du Nord	<i>P. sergenti</i> , <i>P. arabicus</i>	<i>P. chabaudi</i> , <i>P. saevus</i>
<i>L. braziliensis</i>	Amérique centrale et du sud	<i>L. wellcomei</i> , <i>L. spinicrassa</i> , <i>L. whitmani</i> , <i>L. yucumensis</i> , <i>L. carrerai carrerai</i> , <i>L. llanosmartinsi</i> , <i>L. ovallesi</i> , <i>L. intermedia</i> ,	<i>L. amazonensis</i> , <i>L. migonei</i> , <i>L. panamensis</i> , <i>L. paraensis</i> , <i>L. complexus</i> , <i>L. pessoai</i> , etc.
<i>L. peruviana</i>	Andes péruviennes	<i>L. peruensis</i> , <i>L. verrucarum</i> , <i>L. ayacuchensis</i>	<i>L. noguchii</i> , <i>L. pescei</i>
<i>L. panamensis</i>	Amérique centrale	<i>L. trapidoi</i> , <i>L. ylephiletor</i> , <i>L. gomesi</i> , <i>L. panamensis</i> , <i>L. hartmanni</i>	<i>L. shannoni</i> , <i>L. ovallesi</i> , etc.

L : *leishmania*

P : *phlébotomus*

L : *Lutzomyia*

1.4.1.2 Morphologie

Les *leishmanies* présentent au cours de leur cycle de développement deux stades morphologiques successifs :

➤ Le stade amastigote

Petit corpuscule arrondi ou ovalaire de 2 à 6 µm de diamètre (Fig. 1.5) possédant un noyau, un kinétoplaste et un flagelle interne. L'amastigote est situé à l'intérieur des cellules du système de phagocytes mononuclés du vertébré mammifère [29]. Cette forme se retrouve dans les histiocytes, macrophages et les cellules de Küpffer, au sein d'une vacuole parasitophore. On retrouve donc ces parasites dans la peau, les nœuds lymphatiques, les cellules souches de la moelle osseuse et divers organes tels que le foie ou la rate. Le sang est pauvre en *leishmanies* : de très rares monocytes peuvent être parasités. [34]

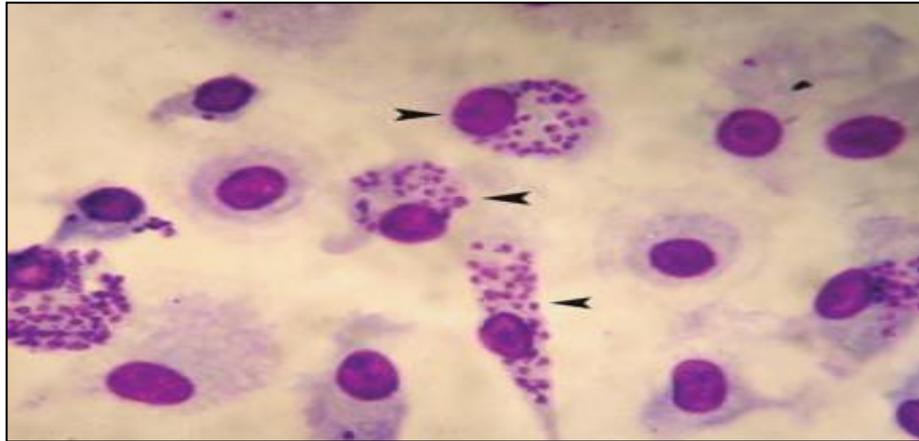


Figure 1.5 : Forme amastigote de *leishmania* à l'intérieur des macrophages [27].

➤ le stade promastigote

A corps long (15-25 μm) et mince (2 μm), avec un noyau central, un kinétoplaste et un long flagelle libre antérieur (Fig.1.6). Ce stade flagellé est libre dans le tube digestif du phlébotome vecteur [29]. Cette forme se développe par scissiparité dans l'intestin moyen du phlébotome puis migre jusqu'au pharynx. La durée de cette phase varie de 14 à 18 jours. Le parasite est régurgité par l'insecte au moment de son repas sanguin. C'est la forme que l'on retrouve dans les milieux de culture.



Figure 1.6 : Forme promastigote de *leishmania* [29].

La paroi des leishmanies est constituée d'une membrane externe et d'une membrane interne et renferme des composants jouant un rôle important dans

l'endocytose des parasites et dans les phénomènes immunologiques accompagnant les infections leishmaniennes. Le cytoplasme contient une kinase jouant un rôle dans la survie des leishmanies dans les cellules parasitées [35].

1.4.1.3 Biologie

Les leishmanies vivent au sein des macrophages, en particulier dans la lymphe dermique, les nœuds lymphatiques, la rate, le foie et la moelle osseuse. Elles sont exceptionnellement rencontrées dans les monocytes sanguins [36]. Pour leur métabolisme, les leishmanies utilisent les protéines des cellules-hôtes et leur ADN est synthétisé à partir des précurseurs de l'ARN de ces cellules (notamment la purine qu'elles ne peuvent pas synthétiser et qui leur est fournie par leur hôte) [34]. Elles survivent à la phagocytose et à l'agression oxydative du macrophage et se multiplient par division binaire longitudinale. Cette multiplication peut engendrer la lyse du macrophage : les parasites sont alors libérés puis phagocytés par d'autres macrophages. Ceci conduit à la propagation des leishmanies dans l'organisme [37], [36].

1.4.1.4 Cycle parasitaire

Les *Leishmanies* sont des parasites protozoaires avec un cycle de vie complexe, impliquant plusieurs formes de développement (Fig.1.8. a). Ces formes représentent une adaptation à l'évolution des conditions environnementales rencontrées par les parasites au sein de leurs deux hôtes: l'hôte mammifère, pour lequel ils sont pathogènes, et l'hôte intermédiaire ou vecteur et inoculateur (phlébotome) du parasite au sein duquel, les *Leishmanies* à localisation extracellulaires sont flagellés, et donc activement mobiles, ces formes sont connus sous le nom de « promastigotes » (Fig.1.8. b, à gauche), qui résident principalement dans le tractus digestif de l'insecte (fig.1.7) [38].

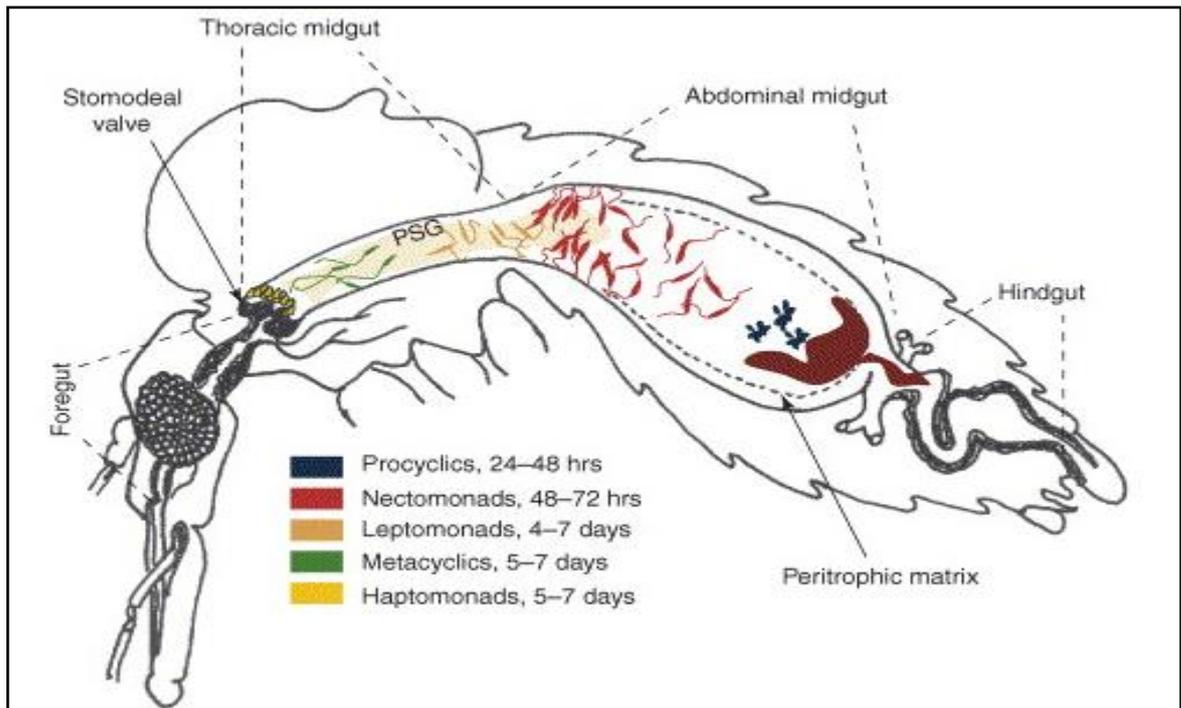


Figure 1.7 : Le cycle de vie de *Leishmania* dans un vecteur compétent, illustrant l'évolution temporelle des formes morphologiques distinctes de promastigotes dans l'intestin thoracique de phlébotome [39].

Deux formes principales peuvent être distinguées (même si plusieurs autres formes intermédiaires ont été rapportés [40], [41] :

- La forme multiplicative ou schizogonie, non infectieuse : il s'agit de promastigotes procycliques qui sont présents dans l'intestin moyen de l'insecte ;
- la forme non multiplicative, mais infectieuse : il s'agit de promastigotes métacycliques qui se trouvent dans l'intestin thoracique moyen et dans la trompe du phlébotome. Les promastigotes métacycliques une fois inoculés à l'hôte mammifère par la pique d'un phlébotome deviennent aflagellés après avoir été phagocyté par un macrophage, c'est la forme amastigote intracellulaire (Fig.1.8 b, à droite). Cette dernière résidera dans une vacuole dotée de fonctions lysosomiales que l'on appelle la « vacuole parasitophore » [38].

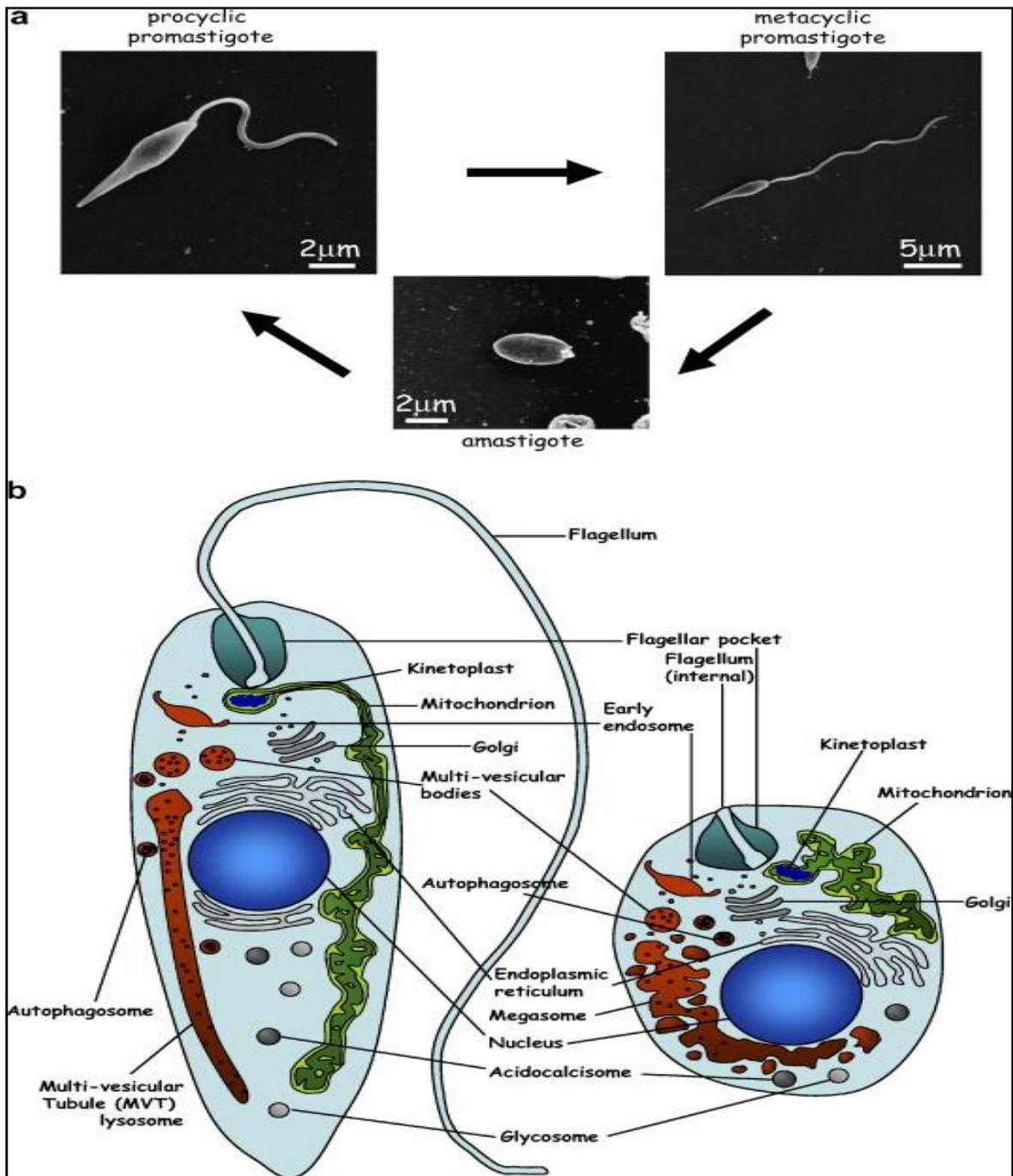


Figure 1.8 : Les changements dans la forme des cellules au cours du cycle de vie des *Leishmanies*. (a) Numérisation d'images au microscope électronique des principaux stades du cycle biologique des *Leishmanies*. (b) Représentation schématique des principaux organites intracellulaires de *Leishmanies* formes promastigotes (à gauche) ou amastigotes (à droite). La poche flagellaire marque l'extrémité antérieure de la cellule [38].

1.4.2 Les vecteurs

1.4.2.1 Définition et morphologie

Diptères nématocères de la famille des *Psychodidae*, les phlébotomes sont, à l'état adulte, des moucheron piqueurs de petite taille (longueur du corps : 1,5 à 4 mm) de couleur claire, en générale jaune paille, leur corps est couvert de soies et ils présentent des ailes lancéolées dressées [42].

Trois caractéristiques les rendent faciles à reconnaître: au repos, ils tiennent leurs ailes surélevées au-dessus de l'abdomen en formant un angle caractéristique avec ce dernier (fig.1.9), ils sont velus et sautent généralement autour de l'hôte avant de s'installer à piquer. Contrairement aux moustiques, leur vol est silencieux. Des études préliminaires ont montré que leur vitesse de vol maximale est un peu moins de 1 m/sec [43].



Figure 1.9 : *phlebotomus papatasi* (à gauche), et *phlebotomus perniciosus* (à droite).

Source : <http://www.diptera.info/forum/viewforum.php>

Les phlébotomes sont regroupés dans le Sous-ordre des Nématocères de l'ordre des diptères (mouches à deux ailes). En dessous, le classement n'est pas universellement agréé [44], mais ils sont généralement classés dans la famille

des *Psychodidae*, la sous-famille *Phlebotominae*. Selon LEGER et DEPAQUIT [43], la famille des *Psychodidae* regroupe 13 genres repartis entre l'Ancien et le Nouveau Monde. Néanmoins LANE [44] reconnaît six genres, dont deux seulement sont d'une importance médicale, à savoir *Phlebotomus* de l'Ancien Monde, divisé en 12 sous-genres, et *Lutzomyia* du Nouveau Monde, divisé en 25 sous-genres et groupes d'espèces. Tous les insectes vecteurs des leishmanioses sont des espèces de ces deux genres [46].

Le peuplement phlébotomien comprend environ 700 espèces actuellement décrites [47]. Parmi elle, sur environ 70 suspectées vectrices, une vingtaine seulement sont de nos jours décrits comme vecteurs d'espèces anthropolitropiques de *Leishmania* [8].

En Algérie, la présence des phlébotomes a été rapportée pour la première fois en 1912 par Foley et Leduc et signalée plus tard par Parrot et Sergent dont les travaux ont été menés de 1917 à 1960 [48]. Aujourd'hui 22 espèces sont connues en Algérie, 12 du genre *Phlebotomus* et 10 du genre *Sergentomyia*, chaque espèce a sa propre distribution écologique, exceptée dans les montagnes du Sahara central où les deux espèces *Phlebotomus perniciosus* et *Phlebotomus papatasi* qui sont méditerranéennes mais qui appartiennent aussi au secteur zoogéographique éthiopien se produisent ensemble. *Phlebotomus perniciosus* et *Phlebotomus papatasi* sont les vecteurs prouvés de *Leishmania infantum* (leishmaniose viscéral) et de *Leishmania major* (leishmaniose cutanée) respectivement [49]. La liste des espèces de phlébotomes d'Algérie est présentée dans le tableau 1.2.

Tableau 1.2 : Liste des espèces de phlébotomes représentées en Algérie
[49].

Sous-famille <i>Phlebotominae</i>	
Genre <i>Phlebotomus</i>	Genre <i>Sergentomyia</i>
<i>Phlebotomus (phlebotomus) papatasi</i> (Scopoli, 1786)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) minuta parroti</i> (Adler et Theodor, 1927)
<i>Phlebotomus (Phlebotomus) bergeroti</i> (Parrot, 1934)(*)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) fallax</i> (Parrot, 1921)
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti</i> (Parrot, 1917)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) antennata</i> (Newstead, 1912)
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri</i> (Sinton, 1928)	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) schwetzi</i> (Adler, Theodor et Parrot, 1929) (*)
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) chabaudi</i> (Croset, Abonnenc et Rioux, 1970)	<i>Sergentomyia (Parrotomyia) africana</i> (Newstead, 1912)
<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) kazeruni</i> (Theodor et Mesghali, 1964) (**)	<i>Sergentomyia (Grassomyia) dreyfussi</i> (Parrot, 1933)
<i>Phlebotomus (Larroussius) ariasi</i> (Tonnoir, 1921)	<i>Sergentomyia (Sintonius) clydei</i> (Sinton, 1928)
<i>Phlebotomus (Larroussius) chadlii</i> (Rioux, Juminer et Gibily 1966)	<i>Sergentomyia (Sintonius) christophersi</i> (Sinton, 1927)
<i>Phlebotomus (Larroussius) perniciosus</i> (Newstead, 1911)	<i>Sergentomyia (Sintonius) hirta</i> (Parrot et de Jolinière, 1945) (*)
<i>Phlebotomus (Larroussius) longicuspis</i> (Nitzulescu, 1911)	
<i>Phlebotomus (Larroussius) langeroni</i> (Nitzulescu, 1930)	
<i>Phlebotomus (Larroussius) perfiliewi</i> (Parrot, 1930)	

(*) Espèces exclusivement localisées au Sahara central.

(**) Un spécimen rapporté de Mila (Nord-est Algérien) par Berchi et al, (1986)

1.4.2.2 Biologie

1.4.2.2.1 Habitat

L'activité des phlébotomes est crépusculaire ou nocturne, bien que quelques espèces piquent pendant la journée. Les adultes vivent dans des recoins obscurs qui sont relativement frais et humide et comprennent les maisons; latrines; caves; étables, grottes, fissures dans les murs, les roches ou le sol; végétation dense; trous d'arbre et contreforts; terriers de rongeurs et d'autres mammifères; nids d'oiseau, et termitières [43]. Ils commencent à s'agiter au crépuscule à condition que la température soit favorable (19- 20C°) et qu'il n'y ait pas de vent. Certaines espèces sont attirées par la lumière, le plus souvent de faible intensité [47].

Les femelles de la plupart des espèces sont principalement exophages (elles piquent à l'extérieur) et exophiles (elles restent à l'extérieur au cours de la maturation des œufs) et ne peuvent pas être efficacement contrôlées par les pulvérisations d'insecticides. En revanche, les espèces qui sont endophiles (elles restent à l'intérieur des maisons) peuvent être attaquées de cette façon [43].

Le développement pré-imaginal (œufs, quatre stades larvaires et nymphes) se déroule dans la terre humide. Mais les biotopes de reproduction sont connus pour peu d'espèces, ce qui constitue une limite très sérieuse à l'établissement des programmes de lutte [8]. 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 [50].

1.4.2.2.2 Nutrition

Seules les femelles sont hémaphages. Elles piquent et sucent le sang des animaux et de l'homme, mais elles peuvent se nourrir également de sucs végétaux et de jus sucrés, ce que font les mâles exclusivement [43]. *Phlebotomus ariasi* semble être principalement anthropophage, tandis que *Phlebotomus*

perniciosus semble se nourrir indifféremment sur les animaux disponibles et l'Homme [51].

1.4.2.2.3 Cycle évolutif

L'accouplement des phlébotomes intervient sans vol nuptial à proximité du gîte de repos. Cet accouplement se produit trois à dix jours après le repas sanguin qui dure 30 secondes à 5 minutes. La femelle pond un à un 15 à 100 œufs dans un endroit calme, abrité du vent, humide et sombre qui au bout de quelques jours donnent naissance à des larves. Les gîtes larvaires sont extrêmement variables. Il peut s'agir de terriers de micromammifères, de nids d'oiseaux, creux d'arbres, anfractuosités du sol ou de murs...etc. Les larves muent trois fois avant de se transformer en nymphes fixées au substrat par l'intermédiaire de la dernière exuvie larvaire qui persiste à la partie postérieure de l'abdomen. Sept à dix jours plus tard, l'adulte émerge (Fig.1.10). Le développement de l'œuf à l'adulte dure de 35 à 60 jours en l'absence de phénomène de diapause qui peuvent intervenir lorsque les conditions sont défavorables (période hivernale pour les phlébotomes des régions tempérées) [47].

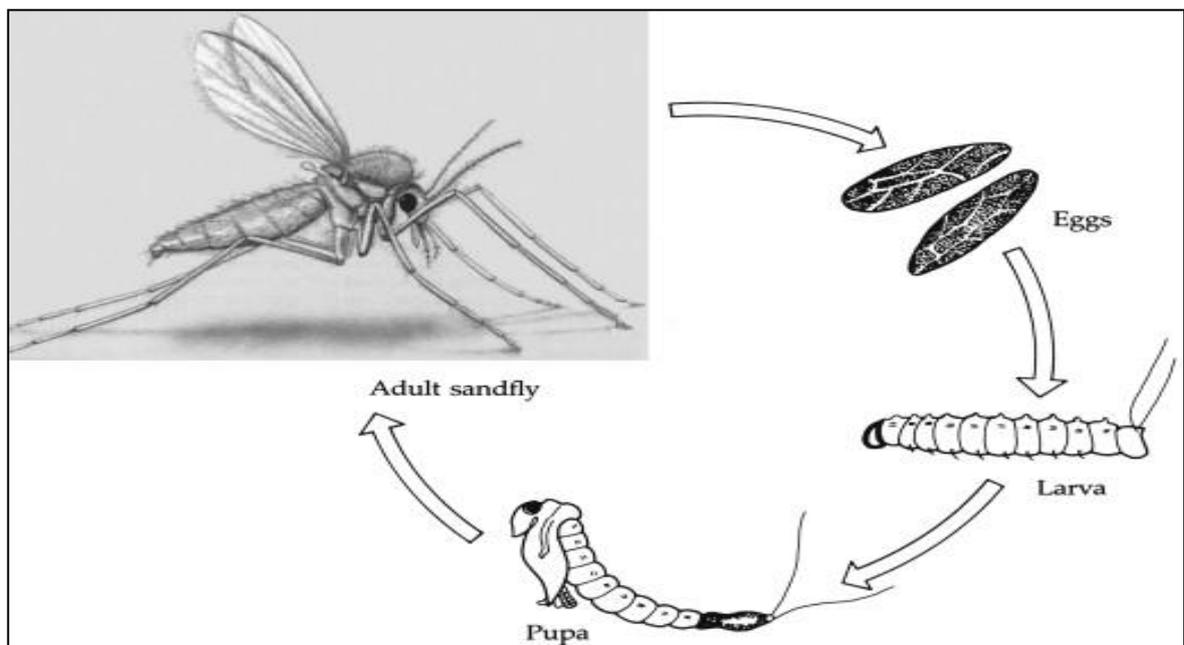


Figure 1.10: Cycle évolutif du *Phlebotomus* sp. [52]

La durée de vie des adultes est inversement proportionnelle à la température (plus celle-ci est basse, plus la durée de vie est élevée) et augmentée par l'humidité (plus l'hygrométrie est élevée plus la durée de vie est élevée). Les femelles vivent en moyenne deux semaines à deux mois et prennent généralement plusieurs repas sanguins. Les mâles quand à eux ont une durée de vie plus brève [47].

1.4.3 les réservoirs de parasites

Selon les régions et l'espèce, le réservoir de parasites est animal ou humain. Il y a deux entités :

- la forme zoonotique avec les petits rongeurs et les canidés (sauvages et domestiques) notamment le chien comme principal réservoir de parasites. La leishmanie en cause est *L. infantum* retrouvée dans le Bassin méditerranéen, au Moyen Orient et *L. chagasi* en Amérique du Sud ;
- la forme anthroponotique, où l'homme est la seule source d'infection pour le vecteur. La leishmanie en cause est *L. donovani* rencontrée en Afrique de l'Est et en Asie (Bangladesh, Népal, Inde, Soudan).

1.4.3.1 Les animaux comme réservoirs

1.4.3.1.1 Le chien comme réservoir domestique et principal

La leishmaniose est la première parasitose du chien. L'animal est le principal réservoir de *L. infantum* dans le Bassin méditerranéen [24], [53]. Les sources de parasites sont les chiens hébergeant des leishmanies dans le derme ; les parasites peuvent être présents dans la peau même en l'absence de lésions cutanées [37]. Le chien domestique est donc considéré comme le réservoir principal de *Leishmania infantum* en Chine, dans le bassin méditerranéen et en Amérique en raison [54]:

- de sa forte réceptivité,

- de la forte prévalence d'infection des chiens par *Leishmania infantum* (la plupart étant asymptomatiques) dans les zones d'endémie de leishmaniose humaine,
- d'un parasitisme cutané intense chez les chiens infectés augmentant le risque de transmission,
- d'une latence d'apparition des signes cliniques pouvant atteindre des années,
- de l'isolation du zymodème MON-1 de *Leishmania infantum* à partir de chiens. Ce zymodème est responsable de la plupart des formes de leishmaniose viscérale humaine autour du bassin méditerranéen.

Le chien est également le réservoir principal de *Leishmania braziliensis*, qui est l'agent étiologique causant la leishmaniose cutanée en Amérique. Le rôle de réservoir du chien est probablement négligeable pour les autres espèces de *Leishmania* [54].

1.4.3.1.2 Le chat comme réservoir occasionnel

Bien que la leishmaniose féline (FL) est considérée comme une constatation rare [55], [56], [57], plusieurs cas de formes à la fois viscérale et cutanée ont été rapportés en Amérique, Europe, Afrique et en Asie [58]. Néanmoins, la sensibilité réelle des chats à l'infection par *Leishmania spp.* est mal comprise [59].

D'après les travaux de SIMÕES-MATTOS et ses collaborateurs [60] portant sur l'étude des leishmanioses félines : les chats domestiques ont toutes les propriétés nécessaires pour servir comme réservoirs potentiels de *Leishmania*. Ainsi, d'autres études épidémiologiques sont nécessaires pour déterminer le rôle réel des chats dans la transmission de la leishmaniose dans les zones endémiques.

En Algérie, le premier cas de leishmaniose féline rapporté dans la littérature date de 1912 à Alger [61]. Et selon l'enquête menée à la fourrière canine d'Alger par DJOUDI *et al.* [62] le chat serait un réservoir réel de la leishmaniose en Algérie.

1.4.3.1.3 Les canidés sauvages en tant que réservoirs selvatiques

Un certain nombre de canidés sauvages - renard (genre *Vulpes*), chacal (*Canis aureus*), loup (*Canis lupus*) et chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*) se sont révélés porteurs de *L. infantum* aussi bien dans l'Ancien que dans le Nouveau Monde. On a avancé l'hypothèse que ces animaux pourraient servir de réservoirs mais cela n'a pas encore été entièrement prouvé [1]

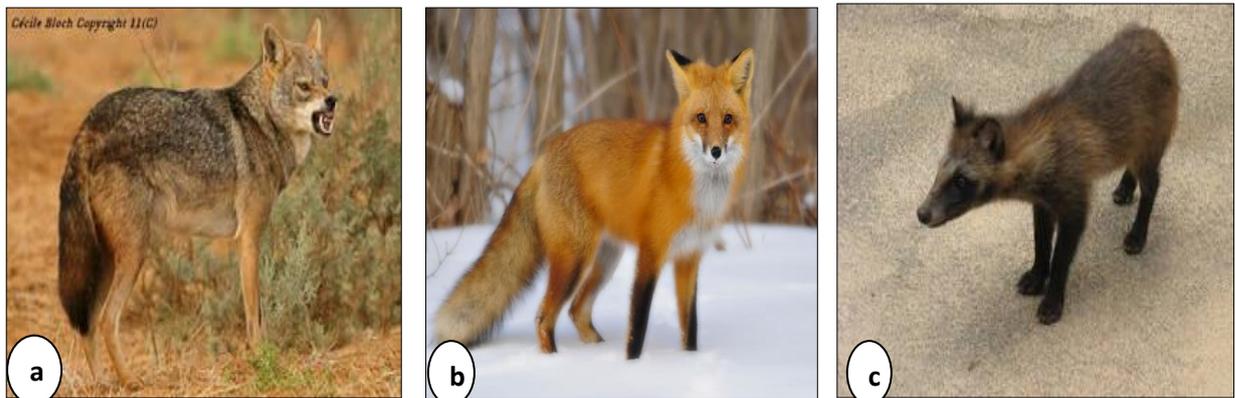


Figure 1.11 : Canidés sauvages. (a) *Canis lupus*. (b) *Vulpes vulpes*. (c) *Nyctereutes procyonoides*. Source : www.futura-sciences.com

1.4.3.1.4 Les rongeurs comme réservoirs

La grande gerbille, *Rhombomys opimus*, constitue l'hôte réservoir primaire de *L. major* dans les steppes de l'Asie centrale. *Psammomys obesus* (gros rat du sable) est le principal réservoir de *L. major* en Asie de l'Ouest et en Afrique du Nord [1].

Dans les zones semi-arides du Maghreb, *Meriones shawi* (gerbille de Shaw) se nourrit de céréales et de légumes. Dans les oasis subsahariennes, la même espèce a un comportement tout à fait différent; elle se nourrit de déchets divers et peut même être coprophage lorsqu'elle est en contact étroit (péridomestique) avec

l'Homme, ce qui explique que de graves épidémies aient éclaté dans ces régions. On soupçonne les espèces des genres *Mastomys* et *Tatera* d'être des réservoirs de leishmaniose viscérale au Sénégal et au Soudan [63].

En Algérie, les hôtes réservoirs de *L. major*, agent étiologique de la leishmaniose cutanée, sont des rongeurs. *Psammomys obesus*, et *Meriones shawi* ont été prouvés comme réservoirs de *L. major* [64], [65].

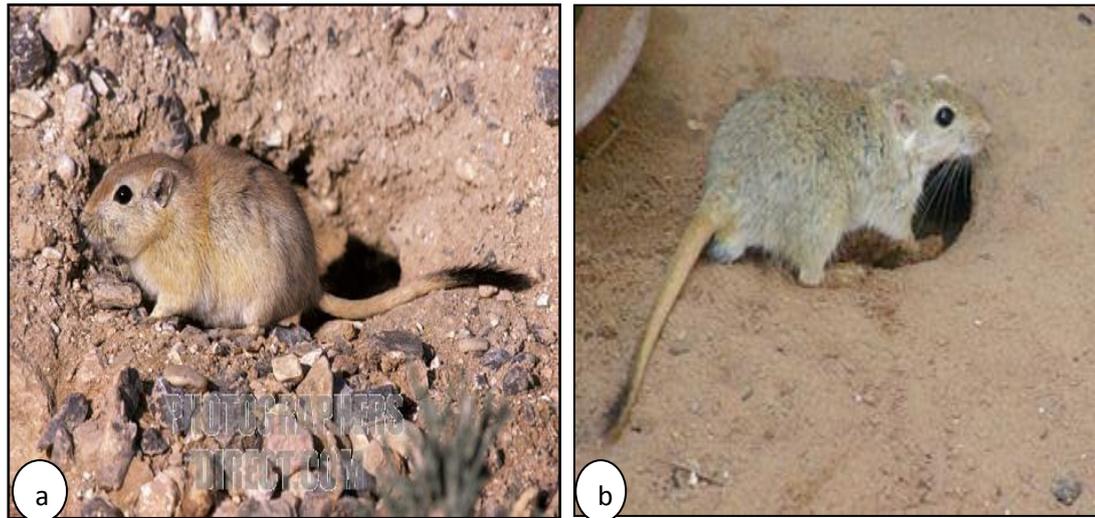


Figure 1.12 : Rongeurs réservoirs de *L. major* en Algérie. (a) *Psammomys obesus*. (b) *Meriones shawi*. Source: www.photographersdirect.com

Deux espèces de damans, à savoir *Procavia capensis* et *Heterohyrax brucei* sont des hôtes réservoirs de *L. aethiopica* en Afrique orientale. L'un deux est soupçonné de constituer le réservoir d'une espèce de leishmanie de Namibie qui n'a pas encore reçu de nom et de *L. tropica* dans le nord d'Israël et peut être aussi en Arabie saoudite [1].

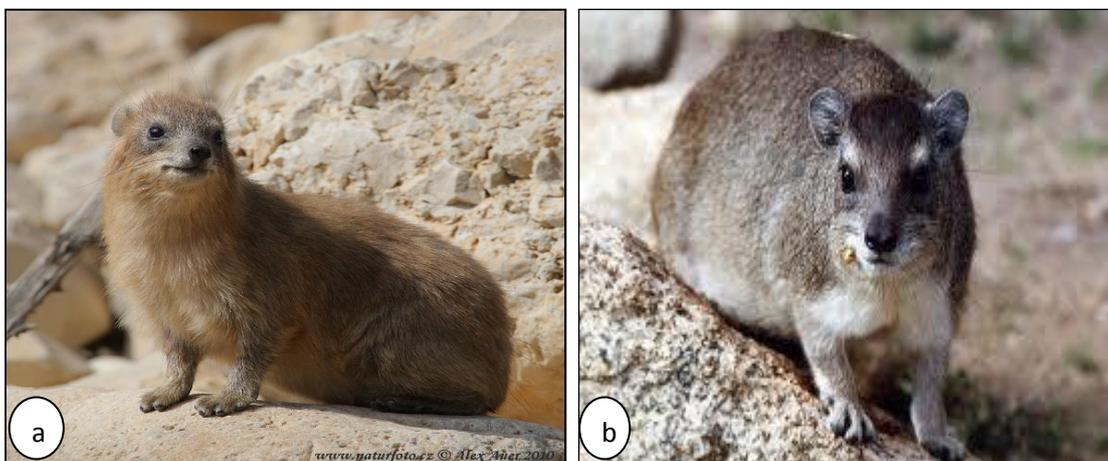


Figure 1.13 : Espèces de damans. (a) *Procavia capensis*. (b) *Heterohyrax brucei*. Source : www.naturephoto-cz.com et forum.zoologist.ru

1.4.2.2 L'homme en tant qu'hôte réservoir

Selon l'OMS [1], l'Homme est directement impliqué en tant qu'hôte réservoir dans deux formes de la maladie : la leishmaniose viscérale due à *L. donovani* et la leishmaniose cutanée due à *L. tropica*. L'Homme a également joué le rôle de réservoir dans certaines flambées dues à *L. braziliensis*, *L. guyanensis* et *L. panamensis*. Pour l'instant on ignore quel pourrait être le rôle des individus présentant une infestation asymptomatique dans le cycle de la transmission.

On sait que les sujets présentant une infection concomitante par le VIH sont très infectieux pour les phlébotomes et pourraient, dans certaines régions, jouer un rôle dans la transmission. Parmi les formes de leishmaniose provoquées par *L. donovani*, la leishmaniose viscérale et la leishmaniose dermique post-kala-azar (LDPKA) sont des sources d'infestation des phlébotomes de sorte que les cas doivent être activement recherchés et traités. Il en va de même des formes récidivantes de leishmaniose cutanée dues à *L. tropica*. En outre, il est possible que l'Homme joue le rôle de réservoir dans la leishmaniose due à *L. major* ainsi que dans un certain nombre de formes strictement cutanées due à *L. infantum*, par suite de l'évolution torpide des lésions [1].

Plusieurs espèces de leishmanies peuvent coexister à l'intérieur d'un même foyer, provoquant des formes cliniques apparemment identiques alors qu'elles relèvent de cycles épidémiologiques différents. Dans la Péninsule arabique, par exemple, *L. donovani* et *L. infantum* sont présentes à l'intérieur des mêmes foyers, la première uniquement chez l'Homme et la seconde à la fois chez l'Homme et le chien. Cela montre bien qu'il est nécessaire d'identifier exactement les parasites en cause [1].

Dans la figure ci-dessous, les auteurs synthétisent le cycle évolutif des leishmanies, en mentionnant les deux formes du parasite (amastigote et promastigote), les deux genres de vecteurs (*Phlebotomus* et *Lutzomyia*), quelques hôtes réservoirs que nous avons soulevés dans ce chapitre. Ainsi que les trois

principales formes de leishmaniose humaine à savoir : la leishmaniose viscérale, cutanée et cutanéomuqueuse.

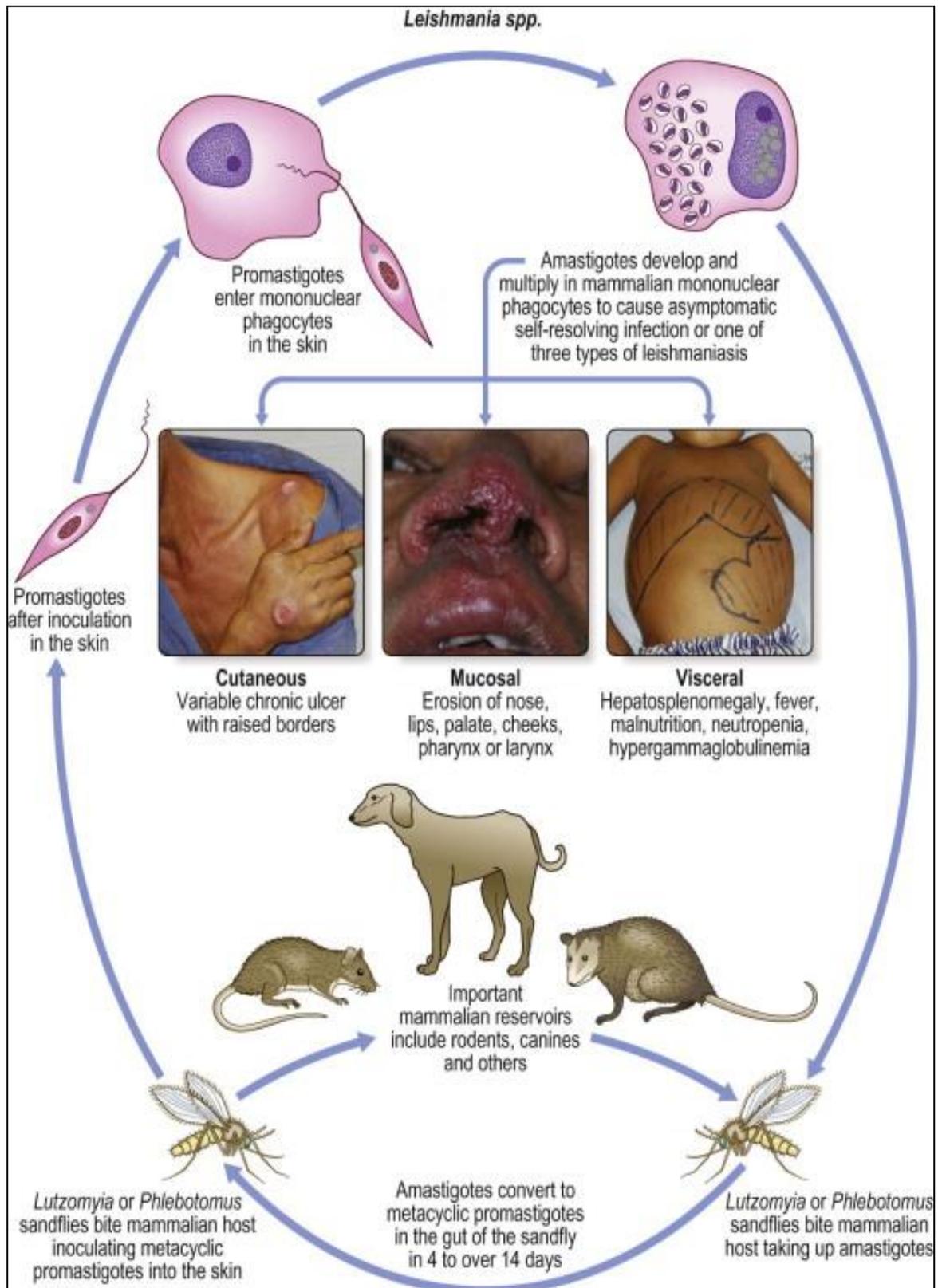


Figure 1.14: Le cycle évolutif de *Leishmania spp.* Avec les différentes formes cliniques chez l'homme [66].

CHPITRE 2

EPIDEMOLOGIE DES LEISHMANIOSES

2.1 Définition et développement de l'épidémiologie

2.1.1 Définition

D'après THRUSFIELD [67], l'épidémiologie est une science qui a pour objet d'étudier l'occurrence, la répartition et les déterminants des états de santé et des maladies dans la population et les groupes humains. Du fait de son importance dans la compréhension des phénomènes de transmission, elle concerne tous les domaines de recherche des sciences de la vie : humains, animaux, plantes, microorganismes [68].

Une traduction littérale du mot «épidémiologie», est en fonction de ses racines grecques **επι-** (épi-) = sur, **δημο-** (démó-) = gens, et **λογο-** (logo) = étude, est «l'étude de ce qui est sur les gens » ou, en langage moderne « l'étude des maladies au sein des populations [67].

L'épidémiologie est largement répandue dans les enseignements universitaires elle constitue la base de tout travail scientifique pour tenter de comprendre les facteurs de risques d'une maladie, et les associations entre maladies [69],

2.1.2 Les objectifs de l'épidémiologie

Il ya cinq objectifs de l'épidémiologie: [67].

1. Détermination de l'origine de la maladie dont la cause est connue;
2. Enquête et contrôle d'une maladie dont la cause est inconnue ou mal connue;
3. Acquisition d'informations sur l'écologie et l'histoire naturelle d'une maladie;
4. Planification, suivi et évaluation des programmes de lutte contre les maladies;
5. L'évaluation des conséquences économiques d'une maladie et prédiction des coûts ainsi que des répercussions économiques des programmes de lutte alternatives.

2.1.3 Types d'enquêtes épidémiologiques

Il existe quatre approches en enquête épidémiologique qui, traditionnellement, ont été appelés «types» de l'épidémiologie. Ces types sont l'épidémiologie descriptive, analytique, expérimentale et théorique.

2.1.3.1 L'épidémiologie descriptive

Les enquêtes descriptives ont pour objectif de décrire les caractéristiques d'un phénomène de santé dans une population, son évolution dans le temps, sa répartition et son évolution dans l'espace [70].

Elles comportent :

- Les enquêtes transversales ;
- Les enquêtes longitudinales.

➤ Les enquêtes transversales sont réalisées pendant un temps court et permettant d'avoir une image instantanée (cliché) du phénomène de santé étudié. Elles fournissent une vue statique de la maladie étudiée et ne permettent pas de connaître son évolution dans le temps et dans l'espace. Cependant, la répétition d'enquêtes transversales dans une population fournit une série de cliché qui permettent d'apprécier en partie la dynamique de la prévalence de la maladie.

➤ Les enquêtes longitudinales quant à elles permettent de suivre pendant une longue période un phénomène de santé dans un ou plusieurs groupes, par des observations périodiques ou continues [70].

2.1.3.2 L'épidémiologie analytique

L'épidémiologie analytique est l'analyse des observations en utilisant des procédures adéquates de diagnostic et de statistique [67]. Elle cherche à établir une relation spécifique entre la survenue d'une maladie et des facteurs de risque. Les enquêtes étiologiques sont très largement utilisées tant en santé publique qu'en médecine expérimentale [71].

2.1.3.3 L'épidémiologie expérimentale

L'épidémiologie expérimentale est l'observation et l'analyse des données de groupes d'animaux à partir desquels il est possible de sélectionner, et de modifier les facteurs associés à ces groupes. Un élément important de l'approche expérimentale est le contrôle des groupes. Elle a été développée entre 1920 et 1930. Elle utilise des animaux de laboratoire dont la durée de vie est courte, ce qui permet d'observer des événements plus rapidement que chez l'homme [67].

2.1.3.4 L'épidémiologie théorique

L'épidémiologie théorique consiste en la représentation de la maladie en utilisant des «modèles» mathématiques qui tentent de simuler des modèles naturels d'apparition de la maladie [67].

2.1.4 Mesures en épidémiologie

Comme l'étymologie du mot « épidémiologie » le suggère, une mesure en épidémiologie est rapportée à la population qui est étudiée. Selon ANCELLE [71], toute mesure en épidémiologie doit donc être précédée par une définition précise des deux termes du rapport :

- Définition d'un cas (Numérateur) ;
- Définition de la population d'étude (dénominateur).

2.1.4.1 Mesures de base

Les rapports calculés en épidémiologie peuvent être des proportions, des ratios, des cotes, des indices ou des taux.

2.1.4.1.1 Proportion

La formule la plus simple, mais capitale, de quantification en épidémiologie est la proportion qui est le rapport comprenant au numérateur le nombre d'événements pathologiques (n), et au dénominateur l'effectif de la population (N) dans laquelle se fait l'observation. $P = n / (n+b)$ c'est-à-dire le numérateur fait partie du dénominateur [70].

2.1.4.1.2 Ratio

Le ratio est constitué du rapport de deux quantités différentes d'une même variable. $R = a/b$. un ratio s'exprime par un nombre sans unités [71].

2.1.4.1.3 Cote

La cote (en anglais, odds) est le rapport de la probabilité de survenue d'un événement sur sa probabilité de non survenue. $C = p / (1 - p)$ [70].

2.1.4.1.4 Indice

Un indice est le rapport de deux effectifs qui sont de nature différente. On les utilise surtout comme indicateurs de fonctionnement, notamment en économie de la santé.

2.1.4.1.5 Taux

En épidémiologie, un taux est un rapport qui prend en compte la notion de temps. Un taux mesure la probabilité de survenue d'un événement au cours du temps. Au numérateur figurent des individus ayant subi un événement pendant

une période de temps déterminée. Au dénominateur, figure l'ensemble des individus susceptibles de connaître l'événement pendant cette période [67].

2.1.4.2 Les principaux indicateurs épidémiologiques

On distingue deux grands types d'indicateurs épidémiologiques : ceux qui correspondent à un état, à un moment donné ou pendant une période donnée (notion de prévalence), et ceux qui correspondent à un changement d'état (notion d'incidence) [70].

2.1.4.2.1 Prévalence

C'est un indicateur statique de morbidité. La prévalence d'une maladie se définit comme la proportion du nombre de cas d'une maladie observée à un instant donné sur la population dont sont issus ces cas [71].

$$\text{Prévalence} = \frac{\text{nombre de cas observés à un instant } t}{\text{population à risque à cet instant } t}$$

2.1.4.2.2 Incidence

C'est le nombre de nouveaux cas qui surviennent dans une population donnée sur une période de temps spécifique. Les deux composantes essentielles dans l'estimation de l'incidence sont :

- Le nombre de nouveaux cas ;
- La période de temps dans laquelle les nouveaux cas surviennent.

L'incidence cumulée est le rapport du nombre de nouveaux cas d'une maladie survenue pendant une période de temps déterminée divisée par la population qui risque de développer la maladie pendant cette période. Certains utilisent simplement le terme incidence pour l'incidence cumulée [67].

$$\text{Incidence cumulée} = \frac{\text{nombre de nouveaux cas pendant une période } \Delta t}{\text{population à risque pendant la période } \Delta t}$$

2.2 Epidémiologie des leishmanioses humaine et canine

L'épidémiologie des leishmanioses dépend de l'espèce parasitaire, des caractéristiques écologiques locales des sites de transmission, de l'exposition passée et présente de la population humaine aux leishmanies et des modalités très diverses du comportement humain. La tranche d'âge la plus touchée dépend de l'espèce parasitaire et des antécédents d'exposition de la population. C'est ainsi que dans les foyers d'endémie où *L. infantum* est l'agent causal, l'âge médian des cas cliniques de leishmaniose viscérale tend à être plus bas (en général < 5 ans) que dans les foyers où *L. donovani* est endémique (âge médian, 13-23 ans dans divers lieux d'Asie et d'Afrique) [1].

2.2.1 Epidémiologie descriptive

2.2.1.1 Répartition Mondiale des leishmanioses humaine et canine

L'Organisation Mondiale de la Santé considère que la leishmaniose est endémique dans 88 pays de régions tropicales et subtropicales, du sud d'Europe, d'Afrique du Nord, d'Asie, et d'Amérique. Parmi ces pays, 72 sont en développement. Elle estime actuellement que 350 millions de personnes sont situées dans des zones à risques [72], [1].

Rappelons que seules l'Amérique du Nord et l'Australie sont pour l'instant indemnes de leishmaniose. Les pays les plus durement touchés par la leishmaniose viscérale sont le Bangladesh, le Brésil, l'Inde, le Népal et le Soudan. Quant à la leishmaniose cutanée, 90 % des nouveaux cas se situent en Afghanistan, au Brésil, en Iran, au Pérou, en Arabie Saoudite et en Syrie [24].

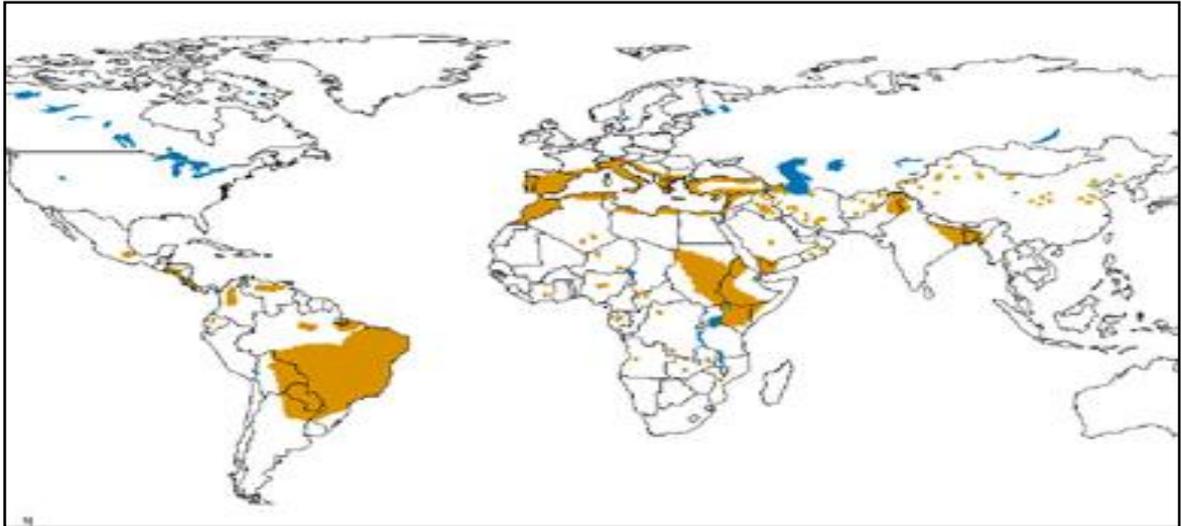


Figure 2.1 : Distribution géographique mondiale de la leishmaniose viscérale.

Source : http://www.who.int/leishmaniasis/leishmaniasis_maps/en/index1.html

Au niveau mondial, les foyers principaux sont [24]: l'Asie du Sud-est (Inde, Népal, Bangladesh) ; l'Afrique de l'Est (Éthiopie, Soudan) ; le Bassin méditerranéen (France, Italie, Espagne, Portugal, Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Égypte, Turquie) ; et l'Amérique du Sud (Brésil).

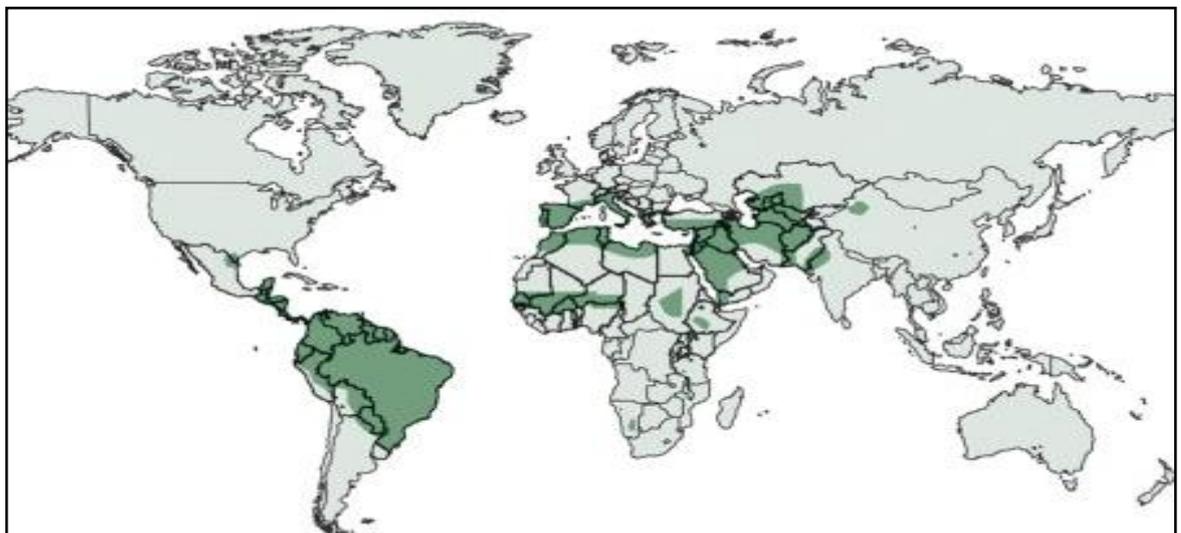


Figure 2.2 Répartition mondiale de la leishmaniose cutanée [73].

La leishmaniose est donc l'une des préoccupations majeures de l'OMS, au même titre que le sida, le paludisme et la tuberculose. La coïnfection *Leishmania*/VIH est une maladie émergente contre laquelle il faut agir de toute

urgence selon le rapport du secrétariat de l'OMS du 22 mars 2007. Même avec un traitement correct, les malades atteints des deux infections à la fois font des rechutes à répétition et l'issue est souvent fatale. [1]

Quant à la leishmaniose canine, elle est répandue dans environ 50 pays, survenant principalement en Amérique du Sud et la Région méditerranéenne [74], [75], [33]. La répartition géographique de la leishmaniose canine s'est élargie, ces dernières années, dans hémisphère ouest, où elle se produit maintenant du nord de l'Argentine [76], jusqu'au nord des États-Unis, atteignant même certaines provinces du sud du Canada [77]. Il ya aussi une évidente propagation vers le nord de l'Europe, c'est le cas de l'Italie [78], [79]. C'est une maladie d'importance croissante, elle est observable dans de nombreux pays méditerranéens dans laquelle elle sévit sous forme endémique et stable [4].

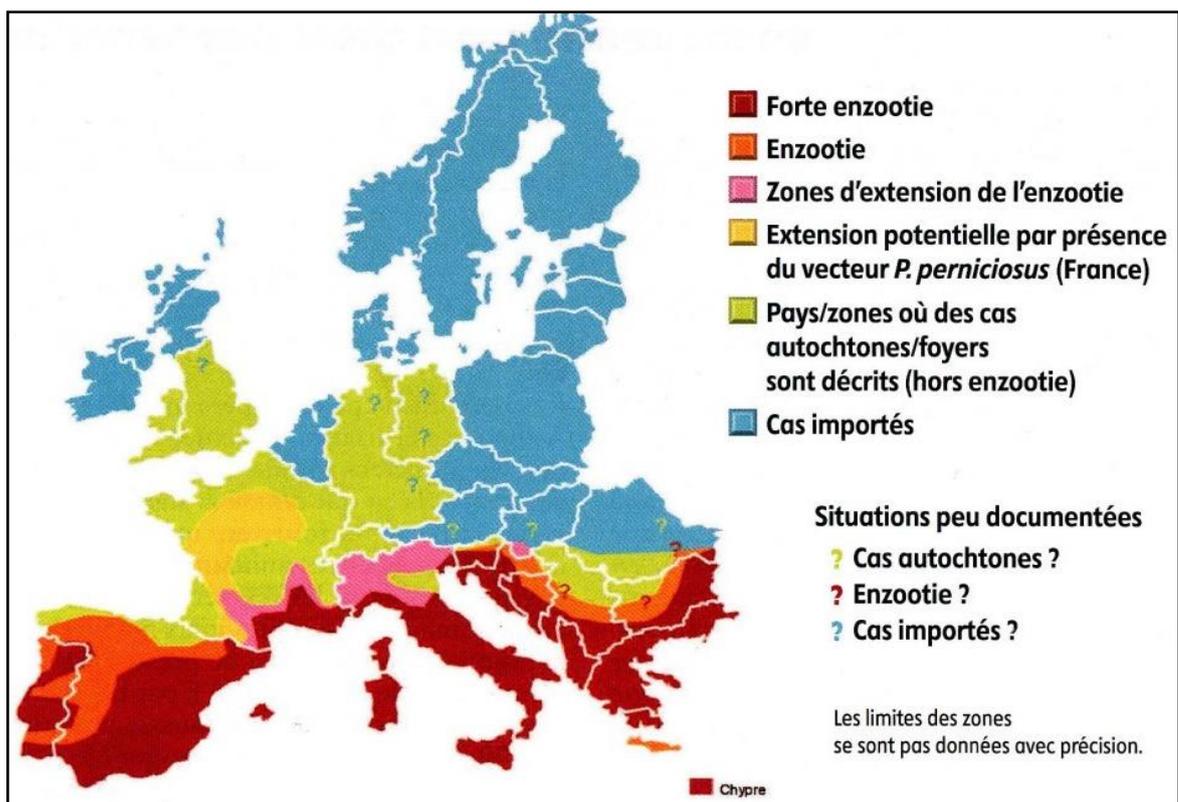


Figure 2.3 : Répartition de la leishmaniose canine en Europe en 2010.

Source : www.veto01.com

2.2.1.2 Incidence mondiale des leishmanioses humaines

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé [1], 6% de la population mondiale, soit 350 millions de personnes sont exposées au risque de contamination, 12 millions de personnes sont infectées. Le nombre de nouveaux cas par an diagnostiqués cliniquement s'élève à 2 millions (500 000 pour la LVH = leishmaniose viscérale humaine et 1500 000 pour la LCH = leishmaniose cutanée humaine). Selon les estimations, sur les 500 000 nouveaux cas (leishmaniose viscérale) développés chaque année, 50 000 sont mortels.

Selon la même source, de grandes épidémies meurtrières sont survenues ces dernières années en Inde (300 000 cas entre 1977 et 1980, avec une mortalité de 3 %) et au Soudan (100 000 morts entre 1989 et 1994).

2.2.1.3 Prévalence mondiale de la leishmaniose canine

Concernant la leishmaniose canine, la séroprévalence à *L. infantum* est similaire dans tous les pays de la Méditerranée occidentale, avec des variations d'une région à une autre, selon les aspects écologiques. [80]

Tableau 2.1 : Prévalences de la leishmaniose canine dans les pays européens entourant le bassin méditerranéen (synthèse personnelle)

Pays	Province	Prévalence %	Années	Références
Portugal*	Lisbonne	8,5	/	[80]
	dans 18 provinces	6,31	2009	[81]
	Nord-est	21, 3	2008-2009	[82]
Espagne*	Madrid	8,1	2006-2007	[83]
	Lleida	33,1	2009	[84]
	Priorato	18	/	[80]
France*	foyer des Cévennes	17,9 et 9,6	1999	[85]
	Alpes-Maritimes	3 à 17	/	[80]
Italie*	Turin, Casale,	4,5 ; 3,9 ; 5,8	2000-2001	[86]

	Ivrea	respectivement		
	Pouilles	14,5	/	[80]
	Toscane	24	/	[80]
Grèce	Plusieurs provinces	entre 2,5 et 30,12	3 mois/an durant 14 ans	[87]
Malte	Gozo	62	/	[88]
Turquie	Corum	de 0,0 à 28, 26	2002	[89]

*Ces données sérologiques suggèrent que sur 15 millions de chiens dans ces pays, une estimation prudente de 2,5 millions de chiens (16,7%) sont infectés.

Pour les pays du Maghreb, nous avons les prévalences synthétisées dans le tableau 2.2.

Tableau 2.2 : Prévalences de la leishmaniose canine dans les pays du Maghreb (synthèse personnelle)

Pays	Province	Prévalence %	Année	Référence
Tunisie	Kairouan	20,9% par PCR et 12% par IFI	2005	[90]
	Sfax	6	2003	[91]
Maroc	Khémisset,	16,71%	1996	[92]
	Taza,	16,09%		
	Taounate	15,98%		

Dans le Moyen-Orient et les pays entourant le bassin méditerranéen, la séroprévalence de la leishmaniose canine varie de 1% à 24% [93] :

Tableau 2.3 : Prévalences de la leishmaniose canine dans les pays du Moyen-Orient entourant le bassin méditerranéen. (synthèse personnelle)

Pays		Prévalence %	Années	Références
Israël	Nataf et Nili	14,6	/	[94]
Palestine		16,7	2005	[95]

La hausse de séroprévalence a été signalée en Amérique du Sud:

- **33%** dans l'île de Margarita, au Venezuela [96]
- **40, 3%** à Pernambuco, Brésil [97]
- **73%** à São Vicente Férrer, Brésil [98]

Nous signalons que l'incidence annuelle de la leishmaniose canine n'a été étudiée que dans quelques régions, par exemple, à Madrid, 30 sur 1000 chiens ont été trouvés infectés en une saison [99].

L'incidence globale de l'infection par *Leishmania* dans la province de Jequié, au nord-est du Brésil, était de 6,55% par an, bien que l'incidence varie fortement entre les grappes de la ville [100]. Le soupçon est que la séroprévalence réel du nombre de chiens infectés dans les zones endémiques est sous-estimée [101], cela a été confirmé par les chiffres récemment obtenus dans le dépistage, par PCR, des chiens séronégatifs, qui montrent des prévalences de 80% (24 sur 30) à Marseille, France [102], et 67% en Majorque, Espagne [103].

2.2.1.4 Répartition géographique en Algérie

En Algérie, les leishmanioses sont signalées sur tout le territoire national. Selon HARRAT *et al.* [104], la leishmaniose viscérale infantile et la leishmaniose cutanée sporadique 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 % des cas recensés. 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. Ceci a été confirmé par ACHOUR-BARCHICHE *et al.* [2]: en Kabylie, région d'endémie de la leishmaniose viscérale, voit les leishmanioses cutanées sporadiques du nord moins fréquentes et bénignes avec 485 cas en 2004–2005 (source INSP), présentes toute l'année à l'état endémique dans le Nord du pays, augmenter timidement annuellement et toucher tout le littoral et le tell algérien (Tizi-Ouzou, Bouira, Bordj-Menail et Alger).

Quant à la leishmaniose cutanée, BENIKHLEF et *al.* [105] ont rapporté qu'il existe deux formes qui sévissent à l'état endémique au niveau national : la leishmaniose cutanée zoonotique à *Leishmania major*, répandue dans les régions steppiques et sahariennes et la leishmaniose cutanée du nord à *Leishmania infantum*. Cette dernière, se déclare volontiers sous forme de cas sporadiques le long du littoral algérien. Elle est due dans la majorité des cas à *Leishmania infantum* zymodème MON-24.

2.2.1.5 Incidence des leishmanioses humaines en Algérie

Avec près de 40000 cas par an, les leishmanioses constituent un véritable problème de santé publique en Algérie (Harrat, Z., 2006) in [106].

➤ Leishmaniose viscérale

Selon les données de l'Institut National de Sante Publique, de 2000 à 2010, le nombre de cas de leishmanioses viscérales recensées au niveau national a connu de grandes fluctuations, il est passé de 220 en 2000 à 127 cas en 2001. De 80 en 2008 à 129 cas en 2010. Il en est de même pour l'incidence annuelle qui pour 10^5 habitants a enregistré aussi des variations, le plus souvent en diminution elle a du subir entre temps des augmentations. Elle est passée de 0,42 en 2001 à 0,28 en 2006 pour augmenter à 0,31 en 2007 et à 0,33 en 2010.

➤ Leishmaniose cutanée

A la fin des années 1990, l'Algérie a connu une recrudescence alarmante de la leishmaniose cutanée. De 2000 à 2004, 45 363 cas ont été notifiés par l'Institut National de Sante Publique (INSP) [107].

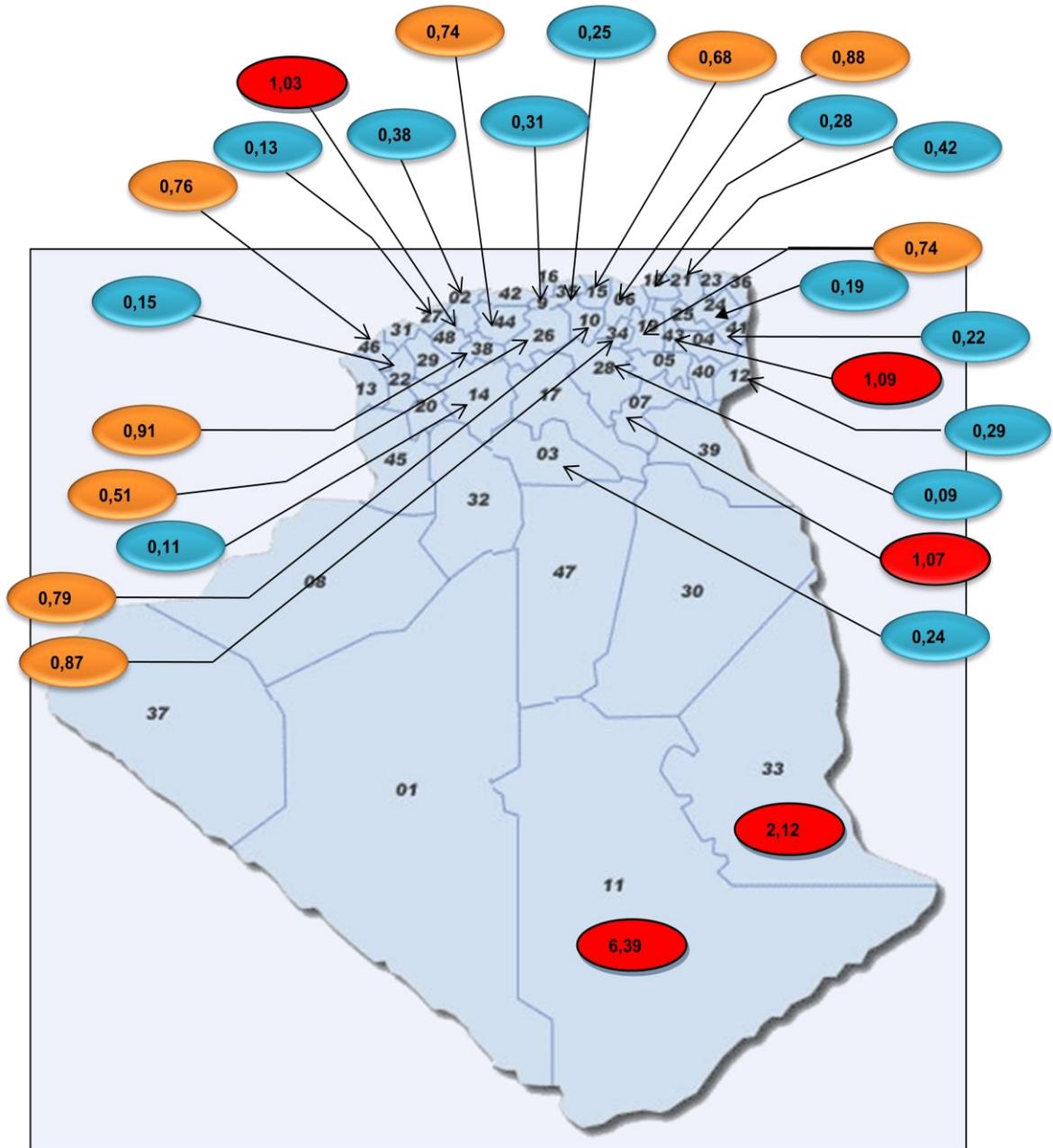


Figure 2.4 : Incidences annuelles pour 10⁵ habitants et par wilaya de leishmanioses viscérales estimées à partir des données de l'Institut National de Santé Public pour l'année du 2010 (synthèse personnelle)

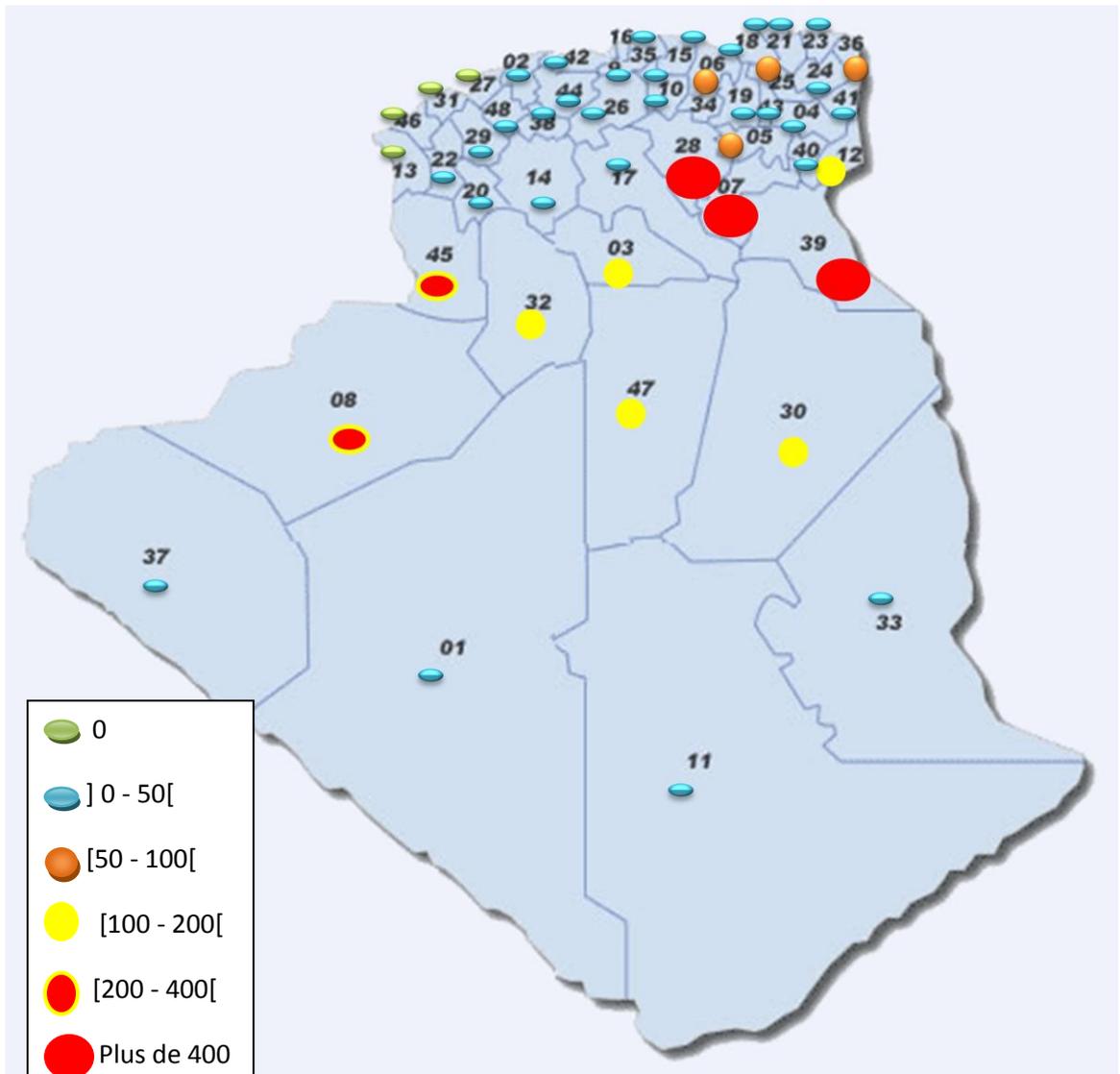


Figure 2.5 : Incidences annuelles pour 10⁵ habitants et par wilaya de leishmanioses cutanées estimées à partir des données de l'Institut National de Santé Public pour l'année du 2010 (synthèse personnelle)

2.2.1.6 Prévalence de la leishmaniose canine en Algérie

Les fluctuations annuelles de la leishmaniose canine varient d'une saison à l'autre avec cependant, une augmentation croissante du nombre de cas de la maladie au cours des dernières années. En comparant les résultats obtenus lors des enquêtes antérieures dans la même région, on note une recrudescence alarmante de l'enzootie canine [104].

Tableau 2.4 : Prévalences de la leishmaniose canine en Algérie (synthèse personnelle).

Région d'étude	Prévalence (%)	Test utilisé	Année d'étude	Référence
Alger	37	IFI	Du 1990 au 1997	[104]
Alger	CN errant (11,7) CN de la GN (9,7) CN de ferme (5,9)	IFI, DAT et Vet-PaGIA	Du 2004 au 2005	[108]
Alger	25,1	IFI	Du 2005 au 2008	[32]
Tizi-Ouzou	10 à 67	IFI et PCR	Du 2007 au 2010	[7]
Alger (fourrière canine)	40	FLG, Witness et IFI	2010	[62]

CN : chien

GN : Gendarmerie Nationale

2.2.2 Epidémiologie analytique

2.2.2.1 Espèces responsables des leishmanioses

Pour la leishmaniose viscérale, il existe 3 espèces qui sont incriminées [24] :

- *L. donovani* (sous continent indien, Chine et Afrique de l'Est) et *L. infantum* (bassin méditerranéen, Afrique subsaharienne, Amérique du Sud, Asie centrale, Chine).
- *L. chagasi* dans le Nouveau Monde.

Pour la leishmaniose cutanée, nous allons citer d'abord les espèces rencontrées dans l'Ancien Monde [109] :

- *Leishmania major*: elle est largement répandue au Maghreb (Maroc, Algérie et Tunisie), il s'agit d'un foyer homogène (*L. major* MON-25)
- *Leishmania tropica*: elle a une répartition plus limitée, constituée de nombreux petits foyers du quart Nord-Est du bassin méditerranéen, et surtout du moyen Orient.
- *Leishmania aethiopica*, ne circule qu'en Afrique de l'Est et peut donner aussi bien une leishmaniose cutanée localisée qu'une leishmaniose cutanée diffuse.

Quant aux espèces incriminées dans le Nouveau Monde, on peut citer : *L. braziliensis* responsable de la leishmaniose cutanéomuqueuse. [110]

Les espèces responsables de la leishmaniose canine sont nombreuses. La littérature rapporte qu'au moins 12 espèces de *Leishmania* ont été isolées de chiens infectés, cependant *Leishmania infantum* reste de loin l'agent étiologique le plus fréquemment incriminé (syn. *Leishmania chagasi*) [111].

Remarque : dans ce chapitre, nous n'allons pas développer les espèces réservoirs et les vecteurs des leishmanies, car ces dernières ont été traitées dans le chapitre 1.

2.2.2.2 Modes de transmission

Fondamentalement, la transmission de leishmanies se fait par piqûre infectante de phlébotomes, tant pour le chien, que pour l'homme ; aucun autre arthropode n'a, dans les conditions naturelles, été impliqué dans cette transmission. La transmission par contact direct avec les sécrétions nasales et oculaires du chien ou avec les lésions de rongeurs serait également possible [4] [24].

Selon l'OMS [112] le protozoaire est transmis à partir du réservoir animal (mais aussi, à partir de l'homme) par pique de mouches femelles infestées (phlébotomes). On distingue deux modes de transmission:

- Zoonotique : le vecteur se nourrit sur un animal infecté et va ensuite se nourrir sur un autre hôte réservoir potentiel, éventuellement l'homme. Les mauvaises conditions d'assainissement augmentent le risque d'infection, ce qui explique le risque plus élevé de flambées de leishmaniose cutanée anthroponotique dans les camps ;
- Anthroponotique : le vecteur s'infecte en se nourrissant sur une personne infectée, puis transmet l'infection en se nourrissant sur une personne non infectée, il y a donc un effet de groupe.

CARRE et *al.* [24] ont rajouté que l'inoculation parentérale accidentelle et le partage de seringues contaminées constituent aussi des modes de contamination, mais beaucoup moins fréquents. La transmission congénitale de la mère à l'enfant reste exceptionnelle il est suggéré que la contamination aurait probablement lieu lors de l'accouchement à la suite d'un contact entre le sang de la mère et du nouveau né, plutôt qu'au cours de la grossesse, par passage transplacentaire. La transmission lors de transfusions sanguines est très rare. La transmission sexuelle serait possible mais elle resterait vraiment très exceptionnelle. SILVA et *al.* [113] ont signalé la présence de leishmanies dans le sperme du chien, de plus des chiennes ont été infectées par voie vénérienne.

2.2.2.3 Facteurs de risque

2.2.2.3.1 Pour l'homme

Il existe plusieurs facteurs susceptibles d'augmenter le risque de développer la maladie :

- la susceptibilité génétique de l'hôte (HLA, gènes de cytokines impliqués...) et sa réponse immune, ce qui explique que les enfants, les personnes dénutries et immunodéprimées soient les plus touchés [24].
- Les mouvements de population augmentent le risque d'exposition aux phlébotomes. le risque d'infestation est accru par des activités telles que le tourisme et les pèlerinages à destination de régions d'endémie [OMS, 2010]. A titre d'exemple, un séjour en Kabylie évoque une infection à *L. infantum* alors

qu'un séjour dans une ville plus méridionale d'Algérie est plus évocateur d'une infection à *L. major* [109].

Les opérations militaires et les conflits armés peuvent également accroître l'incidence de la maladie. Des milliers de cas de leishmaniose ont été observés parmi des soldats du Royaume-Uni et des États-Unis qui servaient en Iraq et en Afghanistan. Les civils sont également touchés : dans le sud du Soudan, la guerre civile a obligé les habitants à pénétrer dans des foyers zoonosiques de leishmaniose viscérale de la région du Haut-Nil, avec pour résultat la tragique épidémie de kala-azar qui a emporté 100 000 personnes [1].

- La transmission à l'Homme est favorisée par l'habitude de dormir dehors, sans utiliser de moustiquaire, pendant la saison chaude, qui est la saison de transmission [1].
- L'habitude de tenir les chiens et autres animaux domestiques à l'intérieur de l'habitation est considérée comme de nature à faciliter l'infestation, puisque les chiens sont les hôtes réservoirs de *L. infantum* et qu'ils attirent les phlébotomes, spécialement *Lu. longipalpis*. La présence de poulaillers à proximité du logement principal peut constituer un autre facteur de risque important car ils constituent l'un des principaux lieux où *L. longipalpis* se nourrit et se repose, ce qui accroît le risque de contact des phlébotomes avec les chiens et les humains [1].
- Facteurs socio-économiques, dont la pauvreté : de mauvaises conditions de logement et d'hygiène péri-domestique (par ex. absence de gestion des déchets, égouts à ciel ouvert) peuvent augmenter le nombre de gîtes larvaires et de lieux de repos pour les phlébotomes ainsi que leur accès à l'Homme [1], [72]. Dans les régions les plus pauvres comme en Asie, les familles des personnes atteintes sont obligées de vendre leurs biens (bétails, outils, rizière...) pour payer les traitements et se retrouvent alors dans le cercle vicieux de la maladie, la pauvreté, la dénutrition, ce qui participe encore davantage à l'extension de l'infection [114].
- La malnutrition : la dénutrition participe à l'affaiblissement du système immunitaire, ce qui favorise l'infection. Tout particulièrement, certaines études épidémiologiques ont souligné que les femmes et les enfants principalement

touchés en Asie et en Afrique, avaient des régimes pauvres en protéines, en fer, en zinc et en vitamine A. Les résultats d'une étude de 2005 réalisée sur des souris déficientes en fer, zinc et protéines, ont montré que ces carences pouvaient limiter l'efficacité de la barrière lymphatique et ainsi accélérer l'atteinte des viscères. La dénutrition augmenterait donc la prévalence mais aussi la morbidité et la mortalité [114], [115].

- Transformations écologiques : en fonction des conditions éco-épidémiologiques de tel ou tel foyer, les changements naturels ou les modifications dues à l'activité humaine qui sont apportés à ces conditions peuvent avoir pour conséquence soit une augmentation, soit une diminution de l'incidence de la maladie. Au nombre des transformations écologiques susceptibles d'influer sur l'incidence de la leishmaniose figurent l'urbanisation, la domestication du cycle de transmission et l'irruption d'exploitations agricoles et d'établissements humains dans les zones de forêt [1].

- En fin, nous signalons l'importance de la co-infection leishmaniose-VIH, car la leishmaniose accélère la progression vers le SIDA et réduit ainsi l'espérance de vie des individus infectés par le VIH. A l'opposé, le VIH et le SIDA permettent la dissémination et l'augmentation du risque de contracter la leishmaniose viscérale [116]. Il ya un degré toujours plus élevé de chevauchement entre les distributions géographiques des deux maladies et, en conséquence, une incidence croissante de Leishmania / VIH co-infection. Cas de la co-infection ont été signalés dans 35 pays à travers le monde, mais les zones les plus touchées sont le bassin méditerranéen avec l'Espagne, la France et l'Italie et la corne de l'Afrique [115].

2.2.2.3.2 Pour l'animal (chien)

2.2.2.3.2.1 Facteurs intrinsèques

➤ Age

De nombreuses études ont révélé que les chiens adultes sont plus particulièrement touchés par la maladie. En 2009, une enquête épidémiologique analytique a été menée, au Portugal, dans le but de mettre en évidence les

facteurs de risque de la leishmaniose canine, les résultats ont montré que les chiens âgés de plus de 2 ans ont maintenu un risque plus élevé de séropositivité (OR = 5,39, IC 95% de 2,63 à 11,05) alors que ceux de moins de deux ans étaient moins souvent infectés, cependant le groupe d'âge le plus infecté était de 5 à 8 ans [81].

GALVEZ *et al.* [83] ont observé que la séroprévalence suit une répartition bimodale par rapport à l'âge, avec un pic apparaissant chez les chiens jeunes (1-2 ans) et le deuxième plus évidente chez les pics les plus âgés (7-8 ans). Les animaux plus âgés présentaient un risque de séropositivité deux fois plus élevé que les jeunes chiens [117].

➤ Sexe

Quant au rôle du sexe dans la réceptivité des chiens, les résultats obtenus par CORTES *et al.* [81] n'ont montré aucune différence significative dans la prévalence entre les mâles et les femelles, ce qui est en accord avec les résultats d'autres auteurs.

➤ Race

En théorie, toutes les races de chiens sont sensibles à l'infection par *Leishmania* bien que certaines races, dans des zones d'endémie, comme « Ibiza Hound » et des « chiens bâtards » ont développé un certain niveau de résistance [118]. DENEROLLE [53] a montré une incidence chez le Boxer plus importante par rapport à la population de référence. Selon les résultats de CORTES *et al.* [83], des différences significatives ont été trouvées dans le risque d'infection, entre les classes de race : le fait d'être bâtard pourrait être un facteur de protection.

➤ Pelage

CORTES *et al.* [81] ont observée au cours de leur enquête, une augmentation du risque chez les animaux dont la fourrure est de type « court » ou « moyen ». En fait, le pourcentage d'animaux séropositifs était plus faible chez les animaux avec des poils longs. FRANÇA-SILVA *et al.* [119] ont également constaté un risque plus élevé pour les animaux à fourrure courte, sachant que les phlébotomes préfèrent se nourrir sur des zones peu envahies par les poils [43].

2.2.2.3.2.2 Facteurs extrinsèques

➤ Mode de vie

Les résultats obtenus par CORTES *et al.* [81] ont montré que selon les habitudes de vie, il y avait un risque croissant avec l'augmentation du niveau d'exposition à l'environnement extérieur. Vivant principalement ou exclusivement à l'extérieur était associée à un risque accru de rattraper la leishmaniose ($P < 0,001$), OR = 2,53 (IC 95% 1,80 à 3,55), comparativement à vivre à l'intérieur.

Ces résultats sont corolaires à ceux retrouvés par ADEL *et al.* [108] lorsque les chiens errants ont montré la prévalence réelle estimée la plus élevée (11,7%). Ceci pourrait être lié d'une part, à leur errance qui augmenterait le temps d'exposition aux piqûres de phlébotomes infectés et d'autre part, à leurs conditions physiques précaires qui font d'eux des cibles faciles à l'infection et aux piqûres de phlébotomes [120] [121] in [108]. Il a déjà été démontré que la vie à l'extérieur est un facteur de risque pour la leishmaniose canine, principalement en raison de la durée d'exposition aux phlébotomes [83].

➤ Utilisation d'insecticides

Selon CORTES *et al.* [81] des mesures prophylactiques « utilisation d'insecticides efficaces » permettent d'éviter le contact avec le vecteur. La séroprévalence chez les chiens non protégés par des insecticides efficaces (7,08%) était plus élevée que chez ceux utilisant d'autres insecticides (5,05%) donc la « non-utilisation d'un insecticide efficace » était un facteur de risque significatif (OR = 1,43, IC 95% 1,09 à 1,89; 46,88%). Néanmoins, ce dernier facteur reste moins important par rapport aux autres.

➤ L'abondance des vecteurs : les phlébotomes sont particulièrement actifs dans des zones protégées du vent, au crépuscule, près du sol.

➤ La saison : les phlébotomes adultes sont actifs l'été en période nocturne

➤ L'environnement : pendant la journée, les phlébotomes se réfugient dans les interstices des vieux murs, du sol et dans les terriers. La larve a besoin d'humus,

de déchets organiques et d'eau. Sol humide des caves, tas d'ordures constituent les gîtes larvaires les plus fréquents [122].

2.3 Changement climatique et évolution de la leishmaniose

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé [1], la leishmaniose est une maladie influencée par le climat ; elle occupe un «espace climatique» caractéristique qui dépend fortement des changements des facteurs climatiques comme le degré de précipitations, la température et le taux d'humidité. La conjugaison du réchauffement mondial et de la dégradation des terres va vraisemblablement modifier l'épidémiologie de la leishmaniose par un certain nombre de mécanismes :

- En premier lieu, les changements affectant la température, la pluviométrie et le degré d'humidité peuvent avoir de puissants effets sur l'écologie des vecteurs et des hôtes réservoirs en modifiant leur distribution et en influant sur leur survie et la taille de leurs populations
- En second lieu, de petites variations de température peuvent avoir une profonde influence sur le cycle de développement des promastigotes chez le phlébotome et permettre éventuellement la transmission du parasite dans des régions où la maladie n'était pas jusqu'ici endémique.
- Enfin, en troisième lieu, la sécheresse, la famine et les inondations consécutives au changement des conditions climatiques pourraient entraîner des déplacements et des migrations de grande ampleur vers des zones de transmission de la leishmaniose et le mauvais état nutritionnel de ces populations déplacées serait de nature à compromettre leur immunité.

Selon les prévisions, un changement climatique à long terme devrait étendre la zone où sévissent actuellement les leishmanioses et leurs phlébotomes vecteurs à des régions qui sont actuellement exemptes des unes et des autres. Une analyse climatologique a révélé qu'une augmentation de 1°C de la température de juillet pouvait créer des conditions favorables à l'apparition de *P.*

neglectus dans certaines régions d'Autriche où l'on n'observe actuellement aucun de ces insectes. L'observation de quelques espèces de *Phlebotomus* en Allemagne et en Belgique pourrait être due au changement climatique et au réchauffement mondial, encore que ces espèces aient pu émigrer des zones méditerranéennes de l'Europe lors de l'optimum climatique holocène [1].

En outre, des nuits plus chaudes et des températures plus élevées ont pour conséquences, dans les zones que les vecteurs occupent déjà, plus de risques de transmission pendant des périodes plus longues [123].

Il est impératif d'élargir notre éventail d'études et d'investigations afin d'analyser les effets des facteurs climatiques sur l'épidémiologie de la leishmaniose et établir un dessein concret des fluctuations interannuelles des populations de vecteurs et d'hôtes réservoirs affectant ainsi l'incidence de la maladie. Les résultats de ces études pourraient faciliter la prévision des futures flambées de leishmaniose tout en permettant de rationaliser les ressources sanitaires dans le but de prévenir l'apparition et/ou la propagation de l'infection.

[1]

CHAPITRE 3

ETUDE CLINIQUE ET DIAGNOSTIQUE

3.1 Pathogénie

A la suite de l'inoculation de promastigotes par le phlébotome les leishmanies sont phagocytées et se transforment en amastigotes dans la vacuole parasitophore du macrophage dermique ou cellules de langerhans. Sa résistance au sein de la vacuole lysosomale parasitophore ainsi que sa multiplication (le parasite) provoque la lyse cellulaire entraînant la libération de ce dernier, puis sa phagocytose par un autre macrophage assurant ainsi la propagation des leishmanies dans tout l'organisme. La leishmania persiste dans l'organisme et s'y multiplie en utilisant des mécanismes d'échappement à l'action du système immunitaire : inhibition de l'action des macrophages, résistance à l'action lytique exercée par l'environnement intracytoplasmique (pH acide, enzymes lysosomales), prédominance des lymphocytes Th2 qui stimulent les lymphocytes B donc la synthèse d'anticorps [34].

La réponse immunitaire à l'infection leishmanienne, d'abord décrite chez la souris puis étendue à l'espèce canine, est mieux connue depuis quelques années. Elle repose sur la dualité entre deux populations de lymphocytes T helper (Th1 et Th2), qui coexistent chez un même individu, mais avec prédominance de l'une par rapport à l'autre selon les chiens. Les cellules Th1 produisent de l'interleukine 2 (IL2), de l'interféron γ (IFN- γ), et du tumor necrosis factor (TNF), et interviennent dans l'immunité à médiation cellulaire. (En particulier, les Lymphocytes T CD4+ activés produisent l'IFN- γ , qui stimule les macrophages à détruire les leishmanies). Cette immunité cellulaire permet de résister à l'infection. *A contrario*, le nombre de cellules CD4+ circulantes et le rapport CD4+/CD8+ s'effondrent pendant la maladie, et leur diminution semble corrélée à la sévérité des symptômes. Les chiens sont aussi d'autant plus infectieux pour les phlébotomes qu'ils ont des taux de CD4+ faibles [124].

Les cellules Th2 produisent les interleukines 4, 5, 6, 10 et 13, et stimulent la différenciation des cellules B et la production d'anticorps. La réponse anticorps est généralement massive bien qu'il ne s'agisse pas d'une réponse protectrice et elle peut éventuellement être nuisible. En effet elle peut être la cause d'une présence de nombreux complexes immuns responsables de vascularite, de polyarthrite, uvéite et glomérulonéphrite pouvant évoluer jusqu'à l'insuffisance rénale. Ces complexes immuns peuvent causer des ischémies locales responsables de nécroses (complexes immuns froids) [125].

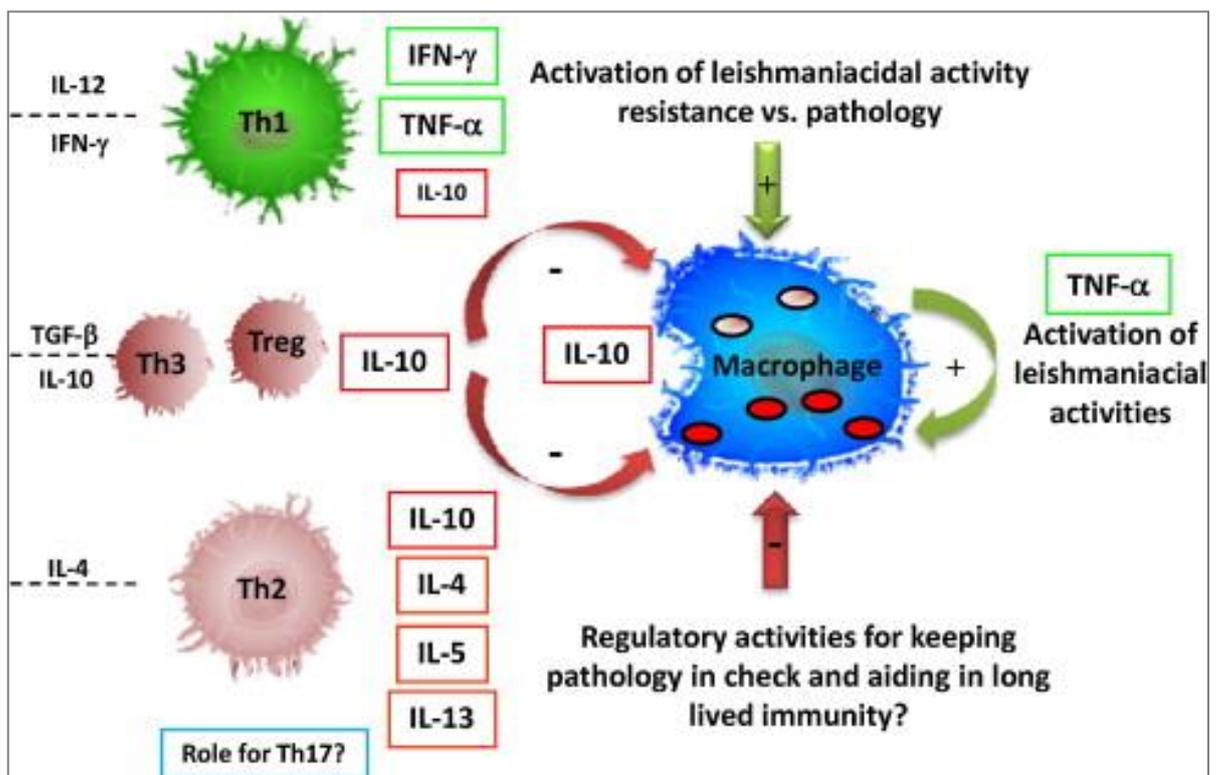


Figure 3.1: Réponse immunitaire à l'infection leishmanienne [126].

3.2 Manifestations cliniques

3.2.1 Chez l'homme

La leishmaniose se manifeste sous deux formes basiques cliniquement reconnues: la leishmaniose viscérale (LV) et la leishmaniose cutanée (LC).

- **La leishmaniose viscérale**

La maladie se révèle généralement après une incubation de 3 à 6 mois et la plupart du temps, le chancre d'inoculation transitoire et spontanément résolutif, passe inaperçu. La phase d'invasion est en général brutale avec une forte fièvre anarchique, résistant au traitement antimalarique et antibiotique. Le tableau clinique habituel en phase d'état est une altération de l'état général (fièvre, fatigue, faiblesse, perte d'appétit et perte de poids), associé à une hépatosplénomégalie plus au mois importante, des diarrhées, une toux sèche, des manifestations hémorragiques, des adénopathies (invasion parasitaire du sang et du système réticuloendothélial). [24], [73]. En Algérie, elle atteint essentiellement les enfants de moins de 5 ans. Elle n'épargne pas non plus les adultes immunodéprimés [127]. La mort peut également être causée par des infections secondaires que le corps affaibli ne peut plus contrôler [128]. De plus, des manifestations cutanées sous forme de taches noirâtres ou bistres sont souvent associées, d'où le nom de Kala-azar [9].



Figure 3.2 : Aspect clinique de LV. Détention de l'abdomen [52].

Elle est provoquée par deux espèces du complexe *L. donovani* : *L. donovani* et *L. infantum* dans l'ancien monde et *L. chagasi* en Amérique. L'agent causal de la LV en Algérie est *Leishmania infantum* zymodème MON1 ; les

zymodèmes MON34 et MON80 sont plus rarement identifiés comme agent de cette forme [129].

- **La leishmaniose cutanée :**

La LC peut se présenter sous forme d'une leishmaniose cutanée localisée (LCL) qui peut guérir spontanément. Sont également décrites la forme de leishmaniose cutanée diffuse (LCD), plus difficile à traiter et la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM) (Figure 3.3) qui est la forme la plus grave des leishmanioses cutanées car pouvant provoquer la défiguration et mutilation du visage [72]. L'incubation est de 1 à 3 mois. Les lésions peuvent être nodulaires pures (typiquement jaunâtres à la vitropression car granulomateuse à l'histologie), croûteuses sèches, voire prendre un aspect de plaque érythémato squameuse [109], [9]. On peut également observer des formes ulcéro-végétantes, verruqueuses et plus rarement lupoides [130].



Figure 3.3: Aspect clinique de la leishmaniose cutanéomuqueuse [131].

Différentes appellations classiques ont été utilisées telles que bouton d'Orient (bassin méditerranéen), clou de Biskra (Algérie), bouton d'Alep (Syrie).

Ces appellations ne correspondent à aucune réalité anatomo-clinique ou épidémiologique.



Figure 3.4 : Aspects cliniques de LC. Aspects ulcéreux (A), nodulaire croûteux (B), croûteux végétant (C) [109].

Comme nous l'avons cité dans le chapitre 1, la LC est provoquée par les espèces *L. mexicana*, *L. peruviana*, *L. guyanensis* ou *L. panamensis* en Amérique, et *L. major* ou *L. tropica* dans les autres pays. En Algérie, les agents pathogènes en cause s'identifient à *L. major* et à *L. infantum* zymodème MON1, MON 24, MON 80 [127].

3.2.2 Chez le chien

L'incubation est assez longue, de l'ordre de plusieurs mois à plusieurs années, de sorte que la consultation doit intégrer dans l'anamnèse tout séjour même bref et ancien de l'animal en zone d'endémie. La forme classique est très protéiforme du fait de la multiplicité des viscères et tissus parasités ; elle associe symptômes généraux et cutanéomuqueux, atteinte du système des phagocytes mononuclés (SPM) et modifications biologiques et sanguines [4].

Les neuf symptômes les plus fréquemment rencontrés dans la leishmaniose canine sont : des lésions dermatologiques, un amaigrissement ou une anorexie, une lymphadénopathie localisée ou généralisée, des lésions

oculaires, une épistaxis, un abattement, une anémie, une insuffisance rénale, de la diarrhée ; toute combinaison de symptômes étant possible [132]. Dans le tableau 3.1 nous avons fait une synthèse des symptômes observés et cités dans la littérature lors de la leishmaniose canine.

Tableau 3.1 : Symptômes observés lors de leishmaniose canine.

Localisation corporelle	Symptômes et lésions	Références
Etat général	Abattement, refus d'exercice, prostration. Hyperthermie modérée (39°), inconstante et irrégulière. Amaigrissement et cachexie, baisse d'appétit.	[4], [133], [134], [124].
Cutané et mucocutané	Alopécie à contours irréguliers. Chancre d'inoculation inconstant et fugace. Ulcères torpides signant facilement. Hyperkératose des coussinets et de la truffe. Onychogryphose : ongles de « fakir ». Squamosis. Nodules indolores, non adhérents. Epistaxis.	[12], [4], [135], [125]
Systèmes des Phagocytes Mononucléés	Adénomégalie modérée à très importante. Splénomégalie inconstante et difficile à déceler.	[4], [124]
Oculaire	Conjonctivite bilatérale. Kératite banale ou stromale associée à une néovascularisation (hyperhémie). Uvéite antérieure avec myosis et photophobie.	[4], [133], [33]
Système sanguins	Hyperprotéinémie : une protéinémie égale ou supérieure à 80 g/l. hyperglobulinémie. Un déséquilibre albumen/globuline. une anémie aggravée par les hémorragies et des troubles de l'hématopoïèse. leucocytose puis leucopénie. Thrombopénie. protéinurie, urémie et créatininémie augmentées, polyuropolydipsie.	[4], [12], [125]
Appareil urinaire	Glomérulonéphrite membranoproliférative évoluant vers une insuffisance rénale chronique ou un syndrome néphrotique.	[4], [125]
Système nerveux	Dégénération neuronale, amyloïdose de l'encéphalle et du cervelet. Rupture de la barrière hémato-méningée. Méningites. Dépression mentale. Crises épileptiformes.	[4], [125], [136], [137]
Appareil digestif	colite hémorragique chronique. vomissements et diarrhée.	[4], [125]
squelette	polyarthrite, périostite, ostéolyse, synovite et œdèmes. Arthralgies ambulatoires. Boiterie.	[4], [136], [138]

Cependant, certains chiens infectés par *Leishmania infantum* ne développent pas la maladie et sont totalement asymptomatiques. Diverses enquêtes épidémiologiques fondées sur la détection d'anticorps ou de matériel génétique (PCR) démontrent qu'au sein des foyers endémiques, vivent, jusqu'à des proportions importantes (50% !), des chiens apparemment sains [28]. Plusieurs questions se posent [4] : ces animaux sont-ils définitivement asymptomatiques ou peuvent-ils devenir malades ? Et si oui, sous l'influence de quels facteurs ? Sont-ils sources de parasites ?



Figure 3.5 : Chancre d'inoculation à la face interne du pavillon auriculaire [4].



Figure 3.6: Amaigrissement et lésions dermatologiques chez un chien leishmanien [140].



Figure 3.7: Adénomégalie poplitée [4]



Figure 3.8 : Atteintes oculaires chez un chien leishmanien [4].



Figure 3.9 : Arthralgie [4].



Figure 3.10 : Épistaxis [125].



Figure 3.11 : Onychogriphose [139].



Figure 3.12: Furfur leishmanien [4].



Figure 3.13: Ulcère et squamosis [4].



Figure 3.14: Dépilation en lunettes [4].



Figure 3.15: Alopécie généralisée [139].



Figure 3.16: Tête de « vieux chien » : amyotrophie prononcée [4].

La fréquence des signes cliniques observés chez les chiens sont rapportés différemment par les auteurs. Cependant, les lésions cutanées sont les plus fréquentes lors de leishmaniose clinique. Elles peuvent être détectées seules ou associées à d'autres types de lésions.

Tableau 3.2 : Prévalence de certains signes cliniques lors de leishmaniose canine cliniquement déclarée [75].

Signes cliniques	Prévalence chez les chiens symptomatiques
Affections cutanées	81 à 89 %
Hypertrophie des nœuds lymphatiques	62 à 90 %
Affections oculaires	16 à 81 %
Pâleur des muqueuses	58 %
Splénomégalie	10 à 53 %
Cachexie	10 à 48 %
Fièvre	4 à 36 %
Epistaxis	6 à 10 %
Onychogryphose	20 à 31 %

3.3 Diagnostic

3.3.1 Chez l'homme

Le diagnostic des leishmanioses repose sur la mise en évidence du parasite, ou de son acide désoxyribonucléique (ADN), et sur la recherche des traces immunologiques de l'infection, anticorps circulants ou hypersensibilité retardée [141].

Dans cette partie nous nous contentons de faire une synthèse (Tableau 3.3) des méthodes de diagnostic de la leishmaniose humaine, rapportées dans la littérature, sans les développer. En fait, la plupart de ces techniques de diagnostic seront détaillées, plus bas, dans la partie « Diagnostic chez le chien ».

Tableau 3.3 : Méthodes de diagnostic de la leishmaniose humaine (synthèse personnelle).

Méthodes diagnostiques	Formes cliniques			Référence
	LV	LC	LCM	
Diagnostic parasitologique	<ul style="list-style-type: none"> • Frottis (moelle osseuse) • Culture des tissus 	<ul style="list-style-type: none"> • Frottis (bordure lésion) • Culture des tissus • Histopathologie 	<ul style="list-style-type: none"> • Frottis (lésion) • Culture des tissus • Histopathologie 	[24]. [8], [106], [130].
Diagnostic moléculaire	<ul style="list-style-type: none"> • PCR • Génotypage des <i>Leishmania</i> (sondes d'hybridation de l'ADN) 	<ul style="list-style-type: none"> • PCR • Génotypage des <i>Leishmania</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • PCR • Génotypage des <i>Leishmania</i> 	[143], [42]. [106]
Diagnostic immunologique	<ul style="list-style-type: none"> • Immunofluorescence indirecte • Méthode immuno-enzymatique • Épreuve d'agglutination directe (DAT) • Épreuve rapide d'immunochromatographie • Electrosynérèse 	Épreuve d'hypersensibilité retardée (Test de Monténégro)	Test de Monténégro	[24]. [142]. [143], [8]. [130].

3.3.2 Chez le chien

3.3.2.1 Diagnostic épidémio-clinique

Selon BOURDOISEAU [34], le diagnostic peut être établi à partir des éléments épidémiologiques, ainsi que des symptômes observés. Il reste toutefois compromis par la durée d'incubation, ainsi que par le caractère protéiforme de la maladie. En matière de leishmaniose, toute combinaison de symptômes est possible : un unique symptôme peut amener à suspecter la maladie, comme toute combinaison de symptômes généraux et spécifiques des différents appareils cités ci-dessus.

Est suspect, tout chien ayant résidé en zone d'endémie même quelques jours quel que soit le temps qui s'est écoulé entre l'apparition des symptômes et le moment de résidence dans cette zone [34].

3.3.2.2 Diagnostic de laboratoire

3.3.2.2.1 Diagnostic direct

a. Examen microscopique

Les parasites intra-monocytaires sont recherchés après fixation à l'alcool et coloration par la technique de May-Grümwald-Giemsa de calques cutanés, d'adénogrammes ou de myélogrammes. Les parasites sont de forme ronde ou ovale et mesurent de 1.5 à 3 μm sur 2.5 à 5 μm [144]. Les amastigotes sont libre ou intracellulaire dans les monocytes, les macrophages et les neutrophiles. Leur cytoplasme apparaît en bleu pâle, avec un noyau relativement grand qui se colore en rouge. Au même plan que le noyau, mais à angle droit par rapport à ce dernier, on aperçoit un corps épais en forme de tige, rouge ou violet, c'est le kinétoplaste. [145].

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%) [146]. Cependant, dans une étude menée par ROSYPAL *et al.* [147], les

amastigotes ont été observées dans 93% des échantillons de moelle osseuse et du suc ganglionnaire des chiens infectés naturellement par *L.infantum*.

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 [148].

b. Histopathologie

L'analyse histopathologique des organes infectés colorés par l'hématoxyline et l'éosine a également été utilisée pour détecter la présence de parasites dans leur forme amastigote [155] Bien que la sensibilité de cette technique soit faible, MOREIRA *et al.* [150] ont constaté que des échantillons de ganglion poplité étaient plus efficaces pour détecter le parasite (43,9%, 40,0% et 39,13% en symptomatique, oligosymptomatique et asymptomatique chiens, respectivement) sachant que ces résultats ont été obtenus à partir d'échantillons prélevés en *post-mortem*.

c. Culture de leishmanies

C'est la méthode de référence, mais elle nécessite quelques semaines d'incubation. Elle n'est réalisée que par les laboratoires de recherche [146], [134].

Le milieu le plus utilisé est le milieu Novy-Mac Neal- Nicolle (N.N.N.). C'est un milieu diphasique composé d'une phase solide faite de gélose salée avec 10% de sang de lapin défibriné et une phase liquide constituée de l'exsudat produit à partir de la gélose au sang. D'autres milieux peuvent être utilisés tels que les milieux d'Evans, de Tobie, de Schneider et le RPMI qui donnent d'excellents résultats avec un minimum de risque de contamination. Tous ces milieux sont additionnés d'antibiotiques : pénicilline streptomycine ou pénicilline- gentamycine et exceptionnellement d'antifongiques, la 5-fluorocytosine [130]. Le parasite est cultivé dans l'un de ces milieux à partir d'un prélèvement, puis mis en incubation à une température comprise entre 22 et 26 C° [143].

Après une à quatre semaines d'incubation à cette température et repiquage tous les 7 jours sur un nouveau milieu, les leishmanies sont recherchées dans une goutte de la phase liquide. L'examen réalisé entre lame et lamelle, au microscope au grossissement moyen (objectif X 25 X 40), a fond clair ou à contraste de phase [106]. Dans une étude réalisée par MAIA *et al.* [151] 77,1% des cultures à partir des échantillons de rate, du suc ganglionnaire, et de la moelle osseuse se positivent dans la 1^{ère} semaine et 23% dans les 2-3^{èmes} semaines, ce qui renforce la nécessité de repiquages des cultures mères, au moins jusqu'à la 3^{ème} semaine. En général, une culture est considérée comme négative, après quatre subcultures successives négatives.

La culture des leishmanies permet aussi la caractérisation des isoenzymes, encore appelée MLEE (*multi-locus enzyme electrophoresis*) est la méthode de référence pour l'identification des espèces [158], bien qu'elle exige la culture d'un grand nombre de parasites (5×10^9 - 1×10^{10}). Selon l'OIE [143], les principes de l'électrophorèse des enzymes sont les suivantes :

- Les enzymes solubles sont extraites des organismes qui ont poussé dans les milieux pour la culture en masse.
- Une petite quantité de l'extrait est ensuite placée dans une substance inerte, la matrice, contenant un tampon à un pH fixé. La matrice est d'habitude un gel d'amidon, mais elle pourrait également être de l'acétate de cellulose absorbant, de l'acrylamide ou de l'agarose. Le pH du tampon dans la matrice est d'habitude choisi de sorte que les enzymes soient négativement chargées.
- Un courant direct est envoyé dans la matrice dans laquelle les ions du tampon jouent le rôle de conducteur.
- Quand l'électrophorèse est terminée, la plupart des protéines auront migré dans la matrice vers l'anode, selon la quantité de charge négative. Si la matrice est colorée à cette étape avec un colorant général des protéines, beaucoup de bandes seront visibles. Cependant la spécificité élevée du cofacteur et du substrat des enzymes rend possible de colorer seulement ces protéines.

Désormais, la mobilité électrophorétique d'une enzyme particulière peut être comparée entre plusieurs organismes. La matrice colorée avec sa collection de bandes d'isoenzymes colorées est reconnue comme un zymogramme.

Normalement un ou plusieurs extraits à partir des organismes de référence, dans lesquels les profils des bandes d'enzyme sont bien documentés, sont inclus dans le gel pour aider à l'interprétation des résultats. La plupart des enzymes utilisées pour les besoins de la caractérisation sont colorées par des méthodes incorporant une réaction de déshydrogénase. Au moins 12 enzymes seront examinées : les organismes présentant un zymogramme identique sont classés dans les zymodèmes d'une espèce donnée [143].

d. Technique d'immunomarquage

Cette technique peut être utilisée lorsque l'histopathologiste n'a pas mis en évidence de parasites malgré la forte suspicion de leishmaniose. Son but est de révéler la présence d'antigènes présents dans le prélèvement [134].

e. Inoculation à l'animal

L'inoculation à l'animal n'est réalisée que par des rares laboratoires spécialisés. En effet, cette technique exige une animalerie et une compétence particulière. L'animal de choix est le hamster doré syrien. L'inoculation consiste à injecter en intra-péritonéal quelques gouttes à 0,5 ml de moelle osseuse diluée dans de l'eau physiologique stérile. Très sensible à l'infection par les leishmanies, les animaux développent en quelques semaines à plusieurs mois une véritable leishmaniose même lorsque l'inoculum est pauvre en parasites. L'inoculation à l'animal est sensible, et contrairement aux cultures sur milieux spéciaux qui sont trop souvent contaminés. Cette technique permet sans risque d'isoler la souche de leishmanies. Pour ces raisons, elle reste une technique de choix. [106], [145].

f. Polymérase Chaîne Réaction (PCR)

La plupart des auteurs s'accordent à dire que le diagnostic moléculaire dont la Polymerase Chain Reaction (PCR) est de loin le plus sensible. 97% pour les PCR très sensibles [134], [153], [154] [155]. Par contre, la spécificité varie de manière significative en fonction du type de prélèvement étudié ainsi que du type d'amorce employée. Le prélèvement de choix est encore constitué par de la

moelle osseuse (ponction ganglionnaire en second lieu) [134]. La technique de la PCR permet de rechercher la présence d'ADN de leishmanies dans un large éventail de prélèvements (peau, moelle osseuse, nœud lymphatique, sang) [156] [157].

Essentiellement, les techniques développées soit pour détecter les organismes à partir de biopsies fraîches, congelées ou fixées au formol et incluses dans la paraffine, soit pour identifier des isolats établis de *Leishmania* comprend :

- La digestion du matériel avec de la protéine K et l'extraction de l'ADN ;
- L'amplification par la PCR standard utilisant des séquences d'oligonucléotides (amorces) sélectionnées à partir de petites sous-unités du gène ARNr [158], ou des mini-cercles d'ADN du kinétoplaste [159], ou d'autres séquences d'ADN génomique hautement répétitives [160].
- L'analyse des produits d'amplification par gel d'agarose à 1-2 %. Pour augmenter la sensibilité, une PCR nichée ou semi-nichée utilisant des amorces internes à partir des séquences ci-dessus peut être réalisée.

Dans la leishmaniose viscérale humaine, la PCR a une sensibilité comparable à celle des méthodes basées sur la culture, mais donne des résultats beaucoup plus rapides. Dans la leishmaniose canine, l'efficacité du diagnostic par la PCR comparée à la sérologie dépend du cours naturel de la maladie, la sensibilité étant la plus élevée brièvement après infection (88 %), déclinant par la suite (50 %) [161].

Diverses techniques ont été décrites qui améliorent aussi bien la sensibilité que la spécificité de l'épreuve, telle que la PCR-RFLP au cours de laquelle les produits amplifiés par PCR sont digérés par les enzymes appropriées et le profil des fragments résultant de la restriction est analysé pour l'identification de l'espèce ou de la souche [162]. Des techniques de PCR en temps réel permettant le suivi permanent des produits obtenus au cours de l'amplification par la PCR ont été décrites et sont disponibles dans le commerce. Elles peuvent être plus sensibles que la PCR classique et sont surtout destinées à l'étude des cinétiques d'infection et le suivi de la réponse au traitement [163], [164]. En outre, la PCR en

temps réel a été signalée comme étant utile pour le dépistage des infections dans des prélèvements peu envahis comme le sang [165].

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 [148].

3.3.2.2.2 Diagnostic indirect

a. Immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence indirecte, ou IFI, est la méthode quantitative de référence agréée par l'Office International des Épizooties [166]. Ce test est utile dans les études épidémiologiques, en pratique clinique, ainsi que dans le suivi du traitement [145].

Cependant, son application nécessite un haut niveau de compétence et d'expérience et des installations de laboratoire fort onéreuse. Une autre facette de ses limites est le fait que des dilutions successives de sérum sont nécessaires à sa réalisation, ce qui rend le test laborieux et pas pratique pour le dépistage d'un grand nombre d'échantillons [167]. C'est une méthode considérée comme sensible et spécifique. La sensibilité varie entre 92 et 99 % [146], [168] ; la spécificité est de 98 % [143].

Les anticorps dirigés contre *Trypanosoma cruzi* ont longtemps été reconnus comme la principale cause de réaction croisée à l'IFI lors du diagnostic de l'infection leishmanienne dans les régions où les deux infections sont endémiques, c'est à dire l'Amérique latine et le Sud des États-Unis [169].

Principe de la technique IFI : selon ROSSET, in HARRAT [129] :

Cette technique sérologique est basée sur la réaction Antigène-Anticorps révélée par un réactif sous la lumière UV. La fixation des anticorps spécifiques sur l'antigène figuré est révélée par l'adjonction d'anti-immunoglobuline marquée à l'isothionate de fluorescéine (Figure 3.17). Le mode opératoire de cette technique sera bien développé, plus loin, dans la partie expérimentale.

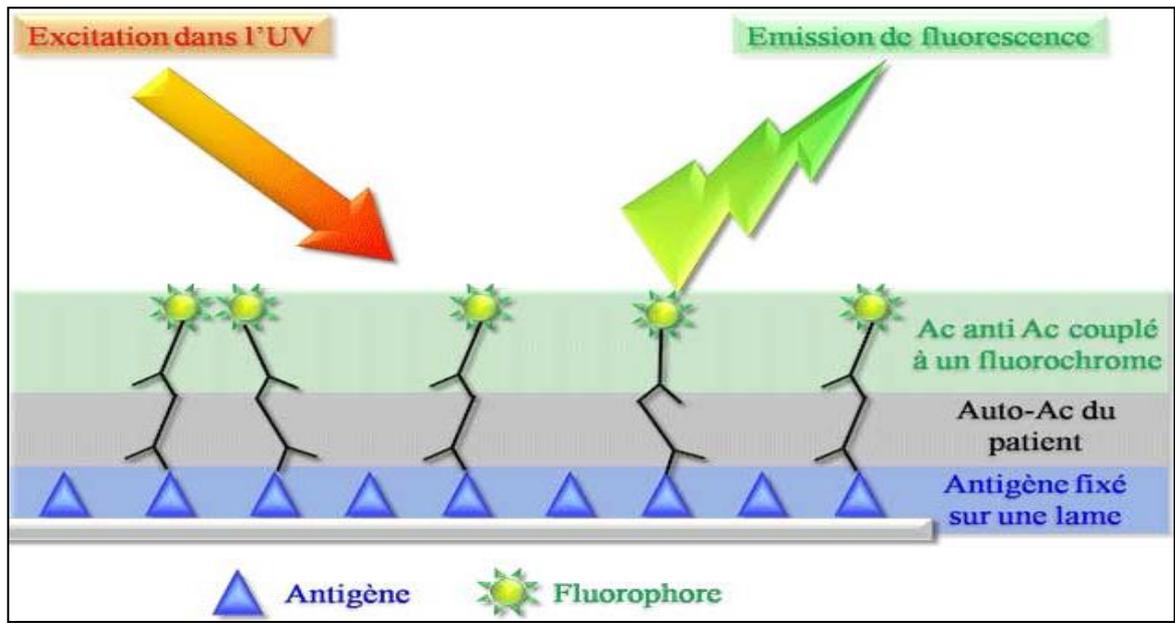


Figure 3.17 : Technique d'immunofluorescence indirecte (IFI). Source : www.memobio.fr

b. Méthode immuno-enzymatique

La technique ELISA est une méthode quantitative qui peut être exécutée sur sérum ou sur un volume de sang précis. Cette épreuve peut être utilisée pour des enquêtes séro-épidémiologiques dans les conditions du terrain. [143], [146]

L'ELISA est utile pour le diagnostic des leishmanioses du Vieux et du Nouveau Monde. Il y a peu ou pas de réactions croisées avec d'autres maladies et, selon les souches de *Leishmania* utilisées, la sensibilité peut varier de 86 % à 99 % [143], tandis que sa spécificité était comparable avec celle de l'épreuve d'IFI (97 %) [170].

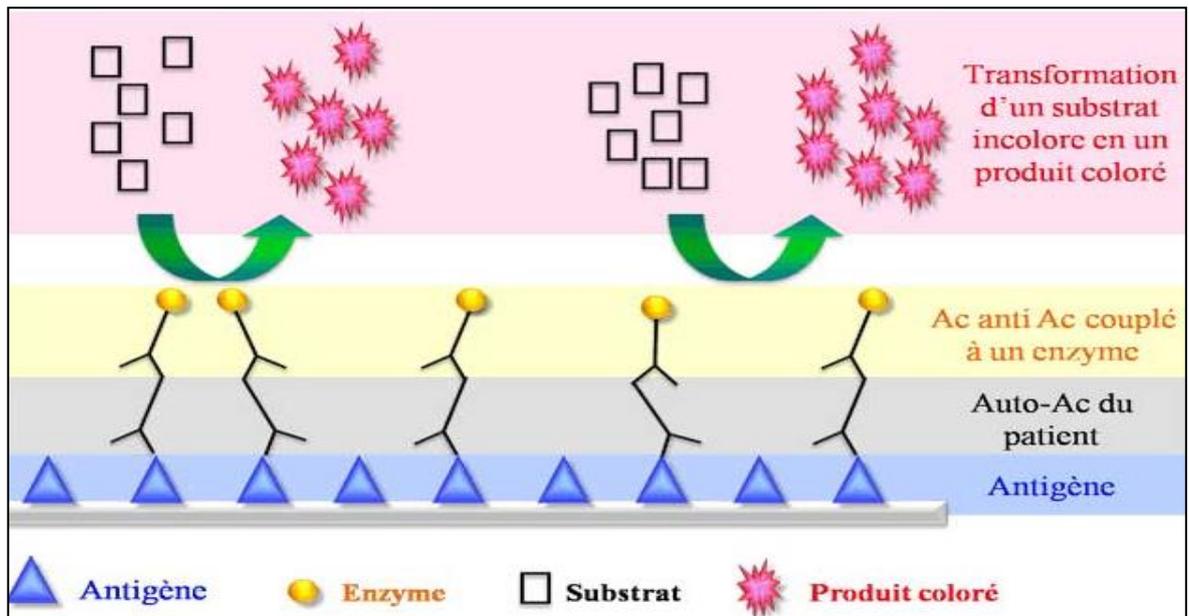


Figure 3.18 : Technique ELISA. Source : www.memobio.fr

c. Test d'Agglutination Directe

L'épreuve d'agglutination directe (DAT) a été décrite pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale et de la leishmaniose canine. Après le développement de l'épreuve, le DAT a été validé comme un test sensible et spécifique pour les investigations de terrain. [143], [167]. MOHEBALI *et al.* [171] ont montré, dans leur étude menées sur des chiens en zone endémique, que la sensibilité et la spécificité du DAT était de 70.6% et de 84.9% respectivement SILVA *et al.* [172] ont estimé dans leur étude une sensibilité proche de 100% alors que la spécificité était de 100%.

Une des limites de cette méthode est le temps d'incubation relativement long de dix huit heures et le fait que plusieurs dilutions de sang ou de sérum doivent être réalisées. Néanmoins, le développement d'antigènes séchés puis congelés rend le DAT approprié à son utilisation dans des conditions difficiles sur le terrain puisqu'ils restent stables à des températures élevées [167].

d. Western blot (WB)

Le Western Blot est une méthode qualitative mais elle est très sensible et très spécifique. Elle est pour cela considérée comme la méthode de référence en

sérologie. Elle permet de détecter les anticorps spécifiques d'antigènes de *Leishmania infantum* préalablement séparés par électrophorèse [146].

Grâce à sa très forte sensibilité, ce test permet de dépister les porteurs asymptomatiques, et de différencier les chiens malades vivant en zone endémique des chiens asymptomatiques vivant en zone d'endémie ou non. On utilise pour statuer sur le résultat des témoins négatifs (sérum de chien appartenant à une zone non enzootique et n'ayant jamais voyagé dans une zone enzootique) ainsi que des témoins positifs (sérum de chien appartenant à une zone enzootique et ayant déclaré une leishmaniose) [134].

En 2007, INIESTA *et al.* [173] utilisa le Western Blot pour analyser l'expression des isotypes d'immunoglobulines G1 et G2 chez des chiens naturellement infectés et concluent que l'infection par *Leishmania infantum* est caractérisée par la reconnaissance de fractions polypeptidiques de 14, 16, 18 kDa par les Ig G1 et les fractions 14 et 16 kDa par les Ig G2. ZARAGOZA *et al.* [174] ont réalisé le WB sur l'urine de 20 chiens sains et chez 22 chiens atteints de leishmaniose, la technique a révélé la présence de plusieurs bandes chez les chiens malades.

e. Test d'immuno-diffusion (IDA)

Le test d'immuno-diffusion a été mis au point par BERNADINA *et al.* [175] pour le diagnostic de la leishmaniose canine. Cette technique consiste en une double immuno-diffusion sur un gel d'agarose 1% contenant 3 % de polyéthylène glycol, elle utilise des échantillons de sang et des antigènes solubles de leishmanies. La formation de bandes est notée après 24 heures à l'aide de coloration avec du bleu de Coomassie. Cette méthode est facile à réaliser, elle ne requiert pas d'équipements sophistiqués et a un débit élevé facilitant l'analyse de plusieurs échantillons en même temps [167].

BERNADINA *et al.* [175] ont montré que la spécificité de cette technique est de 98% chez des chiens venant de zones endémiques et de 100% pour ceux de zones non-endémiques et sa sensibilité varie de 69% chez des chiens

symptomatiques avec culture négative et de 100% chez les chiens symptomatiques.

f. CIE : Contre-immunoelectrophorèse

Il s'agit d'une méthode qualitative pour détecter les anticorps spécifiques antileishmanies. Elle est basée sur la visualisation d'un arc précipité bleu sur une bande de Cellogel® consécutive à l'interaction entre les antigènes de leishmanies et les anticorps présents dans le sérum soumis à l'électrophorèse [167].

De nombreuses études ont montré que la CIE a une sensibilité de 96,1% chez les chiens atteints de leishmaniose clinique sévère, 80% chez les animaux présentant des signes modérés de la maladie et de 72,7% chez les chiens asymptomatiques; la spécificité était de 100% pour les chiens en bonne santé et de 90,5% pour les chiens atteints d'autres maladies. Plus récemment, dans une étude réalisée sur 143 chiens provenant d'une zone d'endémie, la sensibilité et la spécificité ont été jugés de 85,5% et de 94,7%, respectivement [151].

g. Cytométrie de flux

La cytométrie de flux est une technique de comptage, de contrôle et de tri des particules microscopiques en suspension dans un flot de fluide. Elle permet l'analyse de multiples paramètres simultanément, notamment les caractéristiques physiques et/ou chimiques de cellules qui passent simplement à travers un appareil de détection optique ou électronique. La cytométrie devient un outil utile de plus en plus employé dans la santé et la recherche dans la mesure où il s'agit d'une méthode rapide, précise, et reproductible [167].

Une étude menée par ANDRAD *et al.* [176] chez des chiens infectés ou vaccinés dans le but d'évaluer les performances de cette méthode en détectant les lymphocytes B portant à leur surface des anticorps antipromastigotes de *L. chagasi* (immunoglobulines G1 et G2), a montré qu'il s'agissait d'une méthode utile pour différencier ces derniers et ceci avec une spécificité de 100% pour les

deux isotypes d'immunoglobulines et une sensibilité de 97% pour les Ig G1 et 93% pour les Ig G2.

3.3.2.2.3 Exploration de l'immunité cellulaire : Test de Monténégro ou Epreuve d'hypersensibilité retardée

Ce test met en évidence une hypersensibilité de type retardée vis-à-vis d'antigènes de leishmanies. Il consiste en l'inoculation intradermique d'une suspension de promastigotes inactivés ($3 \times 10^{6-8}$ /ml), dilués dans du phénol ou une solution saline de merthiolate. Un diluant est injecté en tant que contrôle au niveau d'un site cutané voisin. L'observation d'une induration d'au moins 5 mm de diamètre, 48 à 72 h après correspond à une réponse positive. [167], [143].

En général, lors de maladie active, ce test est négatif alors qu'il sera positif lors d'infection sub-clinique ou de stade précoce de leishmaniose viscérale ou à la suite d'un traitement efficace. RODRIGUEZ-CORTES *et al.* [177] ont constaté qu'il existe une corrélation significative entre le résultat d'un test Monténégro et le statut clinique d'un animal infecté. Ce test est simple, peu coûteux, ce qui le rend adéquat pour le terrain impliquant un grand nombre de chiens. Cependant, l'inconvénient réside en la nécessité d'un suivi 48 à 72 h après et la possibilité de produire une réaction positive de manière iatrogénique conduisant à de faux positifs, d'où sa non-utilisation [178] ; de plus, les leishmanines ne sont plus disponibles commercialement [143].

3.3.2.3 Diagnostic différentiel

3.3.2.3.1 Chez l'homme

Les diagnostics différentiels des leishmanioses viscérales sont nombreux, car il n'y a pas de signes pathognomoniques chez cette parasitose.

Le diagnostic peut se confondre avec une hémopathie maligne de par l'atteinte de la moelle osseuse, du foie, et de la rate. Il peut alors s'agir d'une leucémie, notamment d'une leucémie aiguë, d'un lymphome, ou d'un syndrome myéloprolifératif. Ces hypothèses sont écartées lors de la réalisation de

l'hémogramme et du myélogramme. Par ailleurs, on doit éliminer les autres splénomégalies fébriles, essentiellement d'origine palustre [24].

Krauss *et al.* [179] précisent que le diagnostic différentiel s'effectue avec des maladies bactériennes : typhus, fièvre typhoïde ou paratyphoïde, brucellose, tuberculose ; avec des maladies virales : mononucléose infectieuse, hépatites et rubéole ; avec des parasitoses : trypanosomiasés africaines, malaria, schistosomiase, amibiase, et maladie de Chaggas ; et avec des maladies organosystémiques : l'anémie et splénomégalie tropicales, la cirrhose hépatique, la sarcoïdose. Quant à la leishmaniose cutanée, le diagnostic différentiel se fait avec la furonculose, l'impétigo, la pyodermite, l'érysipèle, le lupus érythémateux, le lupus vulgaire, la syphilis tertiaire, la lèpre, les kéloïdes, la tuberculose verruqueuse, l'ulcère tropical, le chancroïde, l'acné vulgaire, le psoriasis et les carcinomes cutanés.

3.3.2.3.2 Chez le chien

De nombreuses maladies interviennent dans le diagnostic différentiel de la leishmaniose canine. En effet, l'amaigrissement et/ou l'abattement, qui accompagnent la leishmaniose chez le chien, sont présents dans de nombreux processus pathologiques parfois fort différents à savoir [180]:

Des dermatoses (Tableau 3.4) à savoir gale sarcoptique, démodécie, teigne, et surtout les dermatoses auto-immunes, cliniquement très proches de la leishmaniose.

Des maladies générales : évolutions cancéreuses, pyodermites, ehrlichiose (abattement et épistaxis), lupus érythémateux disséminé (dont le tableau clinique global est presque identique à celui de la leishmaniose).

Tableau 3.4: Dermatoses intervenant dans le diagnostic différentiel de la leishmaniose canine.

Teignes	Démodécie	Gale sarcoptique	Maladies auto-immunes
<ul style="list-style-type: none"> - Aires alopeciques à contour généralement géométrique, extensives, - Elles sont contagieuses, et zoonotiques, - Elles ne sont pas accompagnées d'atteinte de l'état général ; - L'examen direct et la mise en culture permettent de lever le doute. 	<ul style="list-style-type: none"> - Aires de calvoscence intéressant préférentiellement la face, l'encolure et la face proximale des membres antérieurs, - La démodécie n'est pas contagieuse ni zoonotique, - les raclages cutanés ne mettant pas en évidence de nombreux stades immatures de <i>Demodex</i> donc ne permettent pas d'éliminer la démodécie 	<p>Elle est fortement prurigineuse, contagieuse, zoonotique.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - les lésions peu ou non prurigineuses, croûteuses et ulcératives, intéressent très souvent la face symétrique, concernant la peau et les muqueuses et sont quelquefois associées à une dégradation importante de l'état général, à une polyadénomégalie et une glomérulonéphrite. - La biopsie est souvent indispensable et permet à coup sûr de confirmer ou d'infirmier l'hypothèse.

3.4 Pronostic

3.4.1 Chez l'homme

Les leishmanioses englobent des affections viscérales ou tégumentaires dont les taux de morbidité-mortalité sont variables. Elles comprennent des formes mortelles, comme la leishmaniose viscérale et d'autres sévèrement mutilantes, telles que la leishmaniose cutanéomuqueuse, des formes spontanément curables (leishmaniose cutanée localisée) et d'autres rebelles à toute thérapeutique (leishmaniose cutanée diffuse) [8].

Cependant, associés à une bonne médication, les taux de guérison sont élevés. Les patients doivent être soumis à un traitement avant que des dommages irréversibles du système immunitaire se produisent.

La leishmaniose cutanée peut conduire à une mutilation du visage. La mort est habituellement causée par des complications à la suite d'infections secondaires. Elle survient souvent dans les 2 ans [181].

3.4.2 Chez le chien

Le pronostic en matière de leishmaniose canine reste difficile à établir, les études consacrées à cette question sont limitées. Bien entendu, le pronostic varie en fonction du statut clinique et para-clinique initial de l'animal. Le clinicien doit prendre en compte à la fois [4]:

- Le caractère zoonotique de la maladie, le chien étant réservoir de parasites, même après traitement spécifique ; l'animal présent dans un foyer où vit un sujet immunodéprimé peut alors constituer un danger ;
- Certains éléments biologiques signes d'une insuffisance rénale grave (protéinurie, créatininémie et urémie élevées) ou d'une anémie arégénérative, qui vont assombrir le pronostic.

BOURDOISEAU [182] rajoute que du fait de son caractère généralisé, la leishmaniose canine doit toujours faire l'objet d'un pronostic réservé. C'est une maladie grave, dont le traitement, long et coûteux, ne permet souvent qu'une rémission transitoire, les rechutes sont fréquentes.

CHAPITRE 04

TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

4.1 Traitement des leishmanioses chez l'homme

Le traitement des leishmanioses reste encore difficile, en raison d'une part de la multiplicité des espèces de leishmanies de sensibilité variable aux produits disponibles, qui sont de surcroît anciens, toxiques et coûteux, mais aussi de par l'émergence croissante de phénomènes de résistance à travers le monde, principalement à l'antimoine. Enfin l'existence des produits dont l'efficacité n'est pas prouvée complique encore le problème [8], [24]. La thérapeutique des leishmanioses est dominée, depuis les années 1920 par les dérivés stibiés qui demeurent encore de nos jours les médicaments de première intention. [4], [42]

4.1.1 Traitement de la leishmaniose viscérale

Pendant les sept dernières décennies, les dérivés de l'antimoine pentavalent ont constitué les médicaments de première intention classiques pour le traitement de la leishmaniose viscérale. Le désoxycholate d'amphotéricine B et la pentamidine ont été utilisés en deuxième intention [183], [1].

De nombreux éléments doivent être pris en compte dans la prise en charge thérapeutique de la LV, parmi eux le rapport efficacité/tolérance des traitements, les facteurs socio-économiques et culturels, le statut immunitaire et nutritionnel de la population ainsi que le degré de résistance du parasite aux différentes molécules [24]

4.1.1.1 Molécules de première intention

➤ **Dérivés pentavalents de l'antimoine (DPA)**

Actuellement, deux sels d'antimoine chimiquement voisins (Sb5) sont disponibles : l'antimoniote de méglumine, traitement de référence de la LV méditerranéenne à *L. infantum* (Glucantime®) et le stibogluconate de sodium (Pentostam®), d'efficacité similaire. Ils ont une teneur en antimoine distincte, de 8,5 % pour le Glucantime® (85 mg/mL) et de 10 % pour le Pentostam® (100 mg/mL). Un générique de ce dernier sel est produit depuis quelques années en Inde [26].

Le traitement initial d'une leishmaniose viscérale doit comporter une injection quotidienne d'une dose de 20 mg de Sb5+ par kg de poids corporel (soit 60 mg/kg/j d'antimoniote de méglumine). Les injections s'étendent généralement sur une durée de 28 à 30 jours, la dose quotidienne ne devant pas excéder 850 mg Sb5/j [1].

➤ **Amphotéricine B (AmB)**

Antibiotique macrolide polyène (heptaène de formule brute C₄₆H₇₃NO₂₀) isolé en 1955 d'un *Streptomyces*, l'amphotéricine B est le plus puissant des agents anti-leishmaniens. Son efficacité dans le traitement de la LV est reconnue dans l'ensemble des zones d'endémies. Elle est actuellement l'alternative thérapeutique de choix pour les leishmanioses graves ou résistantes aux antimoniés pentavalents, et la thérapeutique de première intention au cours de la LV de l'immunodéprimé, mais sa toxicité rénale limite son utilisation. [24], [42].

L'amphotéricine B administré quotidiennement ou un jour sur deux par perfusion intraveineuse dans une solution de D-glucose à 5 % pendant 4 h à la dose de 0,75 - 1,0 mg/kg (15 à 20 doses au total) s'est révélée efficace à 99 % en Inde. Les données manquent pour les autres régions d'endémie [1].

➤ **Amphotéricine B complexée avec des lipides**

Lorsqu'elle est complexée avec des lipides, l'amphotéricine B ne se dissocie pas dans la circulation générale, elle est captée par les cellules du système des phagocytes mononuclées. Elle s'accumule dans les tissus infectés et les cellules, en particulier les macrophages, ce qui revient à une augmentation de

l'index thérapeutique du produit [8]. Seule AmBisome® a obtenu l'AMM pour son usage dans la LV [24].

AmB diluée dans l'Intralipid® 20 % : Cette modalité d'administration ne permet qu'une légère augmentation de la posologie. En pratique, cette formulation est abandonnée du fait de sa tolérance variable et du risque de mauvaise dispersion des molécules d'AmB dans l'Intralipid 20 %. Complexe lipidique d'AmB (Abelcet®) et dispersion colloïdale d'AmB (Amphocil®) : Ces formulations permettent une augmentation sensible de la dose totale d'AmB (3 mg/kg/j pendant 5 J pour Abelcet® et 2 mg/kg/j pendant 7 à 10 J pour Amphocil®). Leur tolérance rénale est nettement accrue, mais des effets secondaires au moment de l'injection persistent [24].

L'efficacité de l'amphotéricine B liposomale a été démontrée dans le cas de diverses mycoses profondes et dans la LV où une quinzaine d'essais cliniques probants ont été réalisés aussi bien chez des patients immunocompétents que chez des immunodéprimés [184]. Comparée aux traitements classiques, l'AmB liposomale a des rapports efficacité/tolérance et profil coût/efficacité tous deux favorables. L'AmB liposomale est recommandée en traitement de première ligne de la LV et est devenue en pratique le traitement de référence [183].

➤ **Miltéfosine**

Phospholipide alkylé originellement développé comme antitumoral, la miltéfosine est active sur la membrane cellulaire (transport et transduction du signal) ; elle intervient spécifiquement dans la synthèse des phospholipides de *leishmania*. Elle a de plus une activité immuno-modulatrice sur les cellules T et les macrophages [8], [42].

Selon les recommandations de l'OMS [1] la miltéfosine est administrée pendant 28 jours à la dose quotidienne de 2,5 mg/kg à des enfants de 2 à 11 ans , à la dose de 50 mg/jour à des sujets de 12 ans ou plus pesant moins de 25 kg, à la dose de 100 mg/jour à ceux pesant de 25 à 50 kg et à la dose de 150 mg/jour pour un poids corporel supérieur à 50 kg. Ce traitement a donné un taux de

guérison chez les sujets immunocompétents égal à 94 % en Inde et à environ 90 % en Éthiopie.

4.1.1.2 Molécules de deuxième intention

D'après CARRE *et al.* [24] l'utilisation de ces molécules ne se conçoit qu'en seconde intention et offre la possibilité de les utiliser dans le cadre d'associations médicamenteuses, afin de potentialiser l'efficacité et de diminuer la durée totale du traitement.

➤ **Aminosidine (= paromomycine)**

La paromomycine est un antibiotique aminoside naturel produit par un *Streptomyces*. On suppose que le mode d'action de l'aminosidine est analogue à celui de la streptomycine et que ce produit agit en inhibant la synthèse de protéines parasitaires par liaison aux ribosomes [8]. L'avantage majeur de cette molécule est son faible coût d'achat. La paromomycine en association a démontré une supériorité face aux antimonies seuls [26]. L'association permet de raccourcir la durée du traitement stibié de 28 à 20 voire 17 jours [185] et semble être l'association thérapeutique de choix dans les zones où les échecs de traitement par l'antimoine sont fréquents [186]. L'aminosidine s'est révélée efficace en Inde contre la leishmaniose viscérale : une dose de 15 mg/kg de sulfate de paromomycine (11 mg de base) pendant 21 jours a permis un taux de guérison de 93 à 95 % . L'efficacité n'a été que de 85 % en Afrique orientale en portant la dose à 20 mg/kg (15 mg de base) par jour pendant 21 jours. De nos jours aucune enquête n'a rapportée l'utilisation de ce médicament dans les foyers de *L. infantum* en Méditerranée et en Amérique du Sud [1].

➤ **Pentamidine**

La pentamidine est une diamine aromatique introduite dans le traitement de la LV en 1939. L'iséthionate de pentamidine commercialisée sous le nom de Pentacarinat® n'est utilisée qu'exceptionnellement dans le traitement de la LV en raison de graves effets indésirables observés [187]. En revanche, ce produit est utilisé en première intention dans la LC. La pentamidine agit en inhibant la

synthèse de l'ADN parasite par blocage de la thymidine synthétase, par fixation à l'ARN de transfert et en perturbant l'activité mitochondriale [24], [8].

L'iséthionate de pentamidine se présente sous forme de flacons de 300 mg. Il s'utilise par voie parentérale, à la dose de 4 mg/kg et par injection. Les injections doivent être réalisées chez un malade alité et à jeun. Le flacon est dissous dans 10 ml d'eau stérile, la suspension étant administrée en seule injection intramusculaire ou diluée dans 50 à 250 ml de soluté glucosé à 5% et administrée en perfusion lente de 1 heure. L'intervalle entre deux injections dépend de la forme de leishmaniose, trois à cinq injections étant le nombre le plus couramment admis [8].

➤ Imidazolés

Inhibiteurs de la synthèse de l'ergostérol (antifongiques azolés). La membrane cellulaire des leishmanies étant composée d'ergostérol, sa synthèse représente donc une cible privilégiée pour plusieurs antifongiques tels que les dérivés azolés [24].

- ✚ Le kétoconazole : la dose utilisée et l'espèce parasite impliquée paraissent déterminantes dans son efficacité [187]. Des résultats satisfaisants ont été obtenus en Inde pour des cures de 600 mg/j en monothérapie pendant 4 semaines.
- ✚ Le fluconazole a également donné de bons résultats en association avec l'allopurinol. La molécule a été évaluée à la posologie de 400 mg/j pendant 21 jours [24].
- ✚ L'itraconazole a principalement été évalué dans le traitement de la LC. Dans le cadre de la LV, il a été testé sur 2 malades immunodéprimés, aux doses de 200 à 400 mg/j pendant plusieurs mois : des rémissions prolongées ont été ainsi obtenues [24].

➤ Allopurinol

Cet analogue structural de l'hypoxanthine a la propriété de s'incorporer à l'ARN des leishmanies sur lesquelles il a un effet létal. Produit administré par voie

orale, il s'élimine rapidement par voie rénale. Ses effets indésirables sont limités à des troubles digestifs, des réactions cutanées ou de rares hypersensibilités généralisées. D'où son utilisation dans le traitement des leishmanioses humaines [8]. Aucun protocole précis n'a été défini, et c'est principalement en association avec le glucantime, le kétoconazole, le fluconazole ou l'itraconazole que les résultats sont les meilleurs [187].

➤ Interféron-gamma (Immunothérapie)

L'interféron-gamma (IFN- γ) est une lymphokine produite naturellement par les lymphocytes T helper (LT) et les cellules tueuses NK. Il possède des propriétés immunomodulatrices, en particulier l'activation macrophagique. De nombreuses études ont mis en évidence l'insuffisance de production d'IFN- γ et d'IL-2 chez le sujet atteint de LV, engendrant un défaut d'activation des macrophages parasités, élément fondamental du développement de l'infection leishmanienne. L'IFN- γ est donc la clé de l'activité anti-leishmanie des macrophages [24], [8].

L'apport de cette lymphokine de synthèse paraît intéressant dans la LV comme moyen thérapeutique substitutif destiné à relancer la production de radicaux oxygénés et de dérivés nitrogénés et à augmenter l'activité microbicide des macrophages. Il est aujourd'hui admis que cette thérapeutique n'a aucun intérêt en monothérapie : associé aux dérivés stibiés (antimoniote de méglumine aux doses usuelles) l'IFN- γ en injection IM de 100 mg/m²/j durant 30 à 60 jours [24].

Les options thérapeutiques pour la leishmaniose viscérale (Leishmaniose viscérale due à *L. infantum* : Bassin méditerranéen, Moyen -Orient, Asie centrale, Amérique du Sud) sont récapitulées dans le tableau suivant (Tableau 4.1)

Tableau 4.1 : Schémas thérapeutiques recommandés pour la leishmaniose viscérale due à *L. infantum* : Bassin méditerranéen, Moyen -Orient, Asie centrale, Amérique du Sud [1].

Médicament	Posologie et voie d'administration
Amphotéricine B liposomale	3-5 mg/kg en dose quotidienne administrée par perfusion sur une durée de 3 à 6 jours jusqu'à une dose totale de 18 à 21 mg/kg
Dérivés de l'antimoine pentavalent	20 mg de Sb5+ par kg en dose quotidienne par voie intramusculaire ou intraveineuse pendant 28 jours
Amphotéricine B	0,75 - 1,0 mg/kg en dose quotidienne administrée par perfusion ou bien un jour sur deux jusqu'à un total de 20 à 30 doses (dose totale : 2 à 3 g)

4.1.2 Traitement de la leishmaniose cutanée

Un grand nombre d'interventions thérapeutiques, qu'il s'agisse de traitements topiques, généraux ou non pharmacologiques, ont été décrites.

La décision thérapeutique repose en premier lieu sur le rapport bénéfice/risque de l'intervention dans chaque cas particulier. Opter pour un traitement qui comporte un risque de graves effets indésirables est acceptable si le malade présente de nombreuses (habituellement plus de quatre) lésions qui le défigurent ou de lésions compliquées dont la taille ou la localisation rendent impossible tout traitement local, ou encore si les tentatives de traitement local ont échoué. Il importe d'être suffisamment attentif aux contre-indications et au suivi du malade [1].

Selon les recommandations de l'OMS [1], un traitement local des lésions avec suivi attentif est indiqué dans le cas de patients qui répondent aux conditions suivantes :

- ✓ Infestation par *L. major* confirmée ou fortement suspectée ;
- ✓ Moins de quatre lésions nécessitant un traitement immédiat ;
- ✓ Lésions de moins de 5 cm de diamètre ;

- ✓ Pas de lésions défigurantes ou incapacitantes (face, articulations, orteils, doigts) et possibilité de suivi.

Les options thérapeutiques sont synthétisées dans le tableau suivant (Tableau 4.2)

Tableau 4.2 : Posologie des médicaments utilisés dans le traitement contre la leishmaniose cutanée [188].

Médicament	Dosage
Antimoniés pentavalents (comme le stibogluconate et l'antimoniote de méglumine)	20 mg/kg/jour IM ou IV x 20 jours
Antimoniés pentavalents intralésionel	1 ml par lésion/jour x 8-15 fois
Miltefosine	2,5 mg/kg/jour x 28 jours
Pentamidine	2-4 mg/kg/jour ou chaque 2 jour IV x 15 doses
Paromomycine	Topique, deux fois/jour

IM: administration intramusculaire, IV: administration intraveineuse

4.2 Traitement chez le chien

La thérapeutique de la leishmaniose comprend deux aspects : l'un symptomatique, l'autre spécifique.

4.2.1 Traitement symptomatique

Il vise à dépister et corriger l'insuffisance rénale préalablement détectée dans la mesure où la thérapeutique spécifique peut présenter des effets secondaires néphrotoxiques potentiellement mortels. Dans l'hypothèse d'une insuffisance rénale confirmée, celle-ci doit être corrigée par perfusion et par administration de corticoïdes (prednisone, de 1 à 2 mg/kg/ j, *per os*, durant une semaine) afin de freiner la formation des complexes immuns responsables de la glomérulonéphrite. Cette thérapeutique doit induire une amélioration clinique et biologique significative autorisant la thérapeutique spécifique ; dans le cas contraire, les lésions rénales sont irréversibles et incompatibles avec la survie de

l'animal. De la même façon, l'uvéïte doit être considérée comme relevant de l'administration locale de corticoïdes (injection sous-conjonctivale [4], [189]).

4.2.2 Traitement spécifique

Il repose sur l'association de l'antimoniote de méglumine et de l'allopurinol (Tableau 4.3), celui-ci pouvant être prescrit dès le premier jour du diagnostic, y compris lors d'insuffisance rénale confirmée. Ce protocole doit être rigoureusement suivi quant aux doses utilisées, à la durée de prescription et aux voies d'administration choisies : toute modification de ce protocole entraîne des risques d'apparition de chimiorésistance, une diminution d'efficacité et/ou une augmentation de la toxicité. Il remplace les anciens protocoles fondés sur des quantités d'antimoniote administrées plus élevées, plus toxiques et dont l'efficacité n'est pas meilleure [4].

Tableau 4.3 : Traitement de consensus de la leishmaniose canine [4].

Molécules	Nom déposé	Posologie
Antimoniote de méglumine	Glucantime [®]	100mg/kg/j tous les jours pendant 21 à 28 jours, voie sous-cutanée
Allopurinol	Zyloric [®]	30mg/kg/j, voie orale, tous les jours

Toutefois l'association de l'antimoniote de méglumine avec l'allopurinol, si elle diminue les risques de rechute, ne stérilise pas l'animal sur le plan parasitaire à long terme. La rémission clinique s'accompagne d'une diminution du nombre de parasites dans la peau et les nœuds lymphatiques, mais même au terme d'une longue période d'administration d'allopurinol seul, les leishmanies persistent dans les tissus [190].

D'autres molécules sont ou ont été utilisées mais présentent des inconvénients majeurs [191].

- L'amphotéricine B (Fungizone[®]), très efficace mais néphrotoxique, difficile d'administration (voie intraveineuse stricte) ;
- La miltéfosine, efficace et facile d'administration (voie orale), peu toxique (sauf tératogénicité) ;
- La paromomycine, efficace mais néphrotoxique.

Ces molécules doivent être réservées à un usage hospitalier strict : « l'usage vétérinaire de l'amphotéricine B liposomale et des autres molécules antileishmaniennes nouvelles (miltéfosine, paromomycine) doit être évité afin d'empêcher le développement de chimiorésistance » [190]. Les autres molécules citées dans la littérature ne sont pas efficaces ou nécessitent des études complémentaires (quinolones, métronidazole, etc.) [4].

D'après BOURDOISEAU et FRANC [4] L'animal traité doit être suivi régulièrement par :

- un examen clinique rigoureux afin de détecter aussi précocement que possible toute rechute ; le propriétaire doit être informé du fait que l'animal reste source de parasites même après traitement et connaître les signes cliniques évocateurs (amaigrissement, abattement, etc.) ; l'administration continue d'allopurinol diminue significativement les risques de rechute ;
- par un examen biologique complet (numération et formule, protéinémie et électrophorèse, urémie, créatininémie, densité urinaire) pour suivre l'évolution de l'anémie (a)régénérative et de l'insuffisance rénale ;
- Par un examen sérologique (immunofluorescence indirecte par exemple) quantitatif, l'augmentation significative du titre (au moins de deux dilutions) étant préalable ou synchrone d'une rechute ; c'est l'augmentation du titre qui est significative et non le maintien du titre à un niveau élevé, la séronégativité n'étant pas une finalité.

4.3 Prophylaxie

Vouloir prévenir l'infection humaine, ou canine, est d'autant plus fondé que le traitement des cas avérés est difficile. Pourtant peu de moyens efficaces sont disponibles. Il n'existe pas encore à l'heure actuelle de vaccin ni à usage canin, ni à usage humain, et pas d'espoir d'en disposer avant de nombreuses années [8].

4.3.1 Prophylaxie de la leishmaniose humaine

La lutte anti-vectorielle diminue le risque de contamination mais n'a pas amené de succès durables à l'échelle des populations [192]. Toute lutte anti-vectorielle doit tenir compte des différences de comportement des vecteurs liées aux différences d'espèces impliquées entre l'Amérique du Sud, le pourtour méditerranéen, le sous-continent Indien et l'Asie centrale. Les moustiquaires, pour être efficaces, doivent être constituées de mailles très fines de préférence imprégnées de pyréthrinoïdes de synthèse (l'imprégnation des moustiquaires par des pyréthrinoïdes de synthèse permet l'utilisation de mailles plus larges) qui donne une bonne protection individuelle, notamment dans les foyers où l'homme est le seul réservoir [1], [193]. Bien utilisée, cette technique réduit de deux tiers l'exposition aux phlébotomes et peut donc être très profitable à l'échelle individuelle. L'utilisation massive de DDT ou d'autres molécules a montré une efficacité certaine, mais n'a pas permis l'éradication de la maladie et l'interruption des épandages a été suivie d'une flambée épidémique en Inde [192], [194]. L'aspersion péri-domiciliaire de répulsifs, si le vecteur est domestique, a montré une efficacité partielle, au moins dans la leishmaniose cutanée, mais est difficile à appliquer sur de longues périodes [192].

La lutte ciblant le réservoir a été appliquée pour la zoonose à *L. infantum*. Les stratégies d'élimination des chiens malades n'ont pas été efficaces au Brésil, probablement à cause de la réintroduction fréquente d'animaux infectés, des délais diagnostiques et des difficultés à assurer une couverture optimale [195]. La fréquence, chez le chien, du portage asymptomatique qui permet la contamination du vecteur, complique encore cette approche [102]. La protection du réservoir canin par des colliers imprégnés de deltaméthrine est porteuse d'espoir. En Italie, cette méthode a montré sa capacité à diminuer jusqu'à 90 % l'infestation des

chiens. En Iran, elle a permis de diminuer l'incidence de la leishmaniose viscérale humaine [196], [197]. L'immunisation des chiens reste une voie de recherche. Un premier vaccin polyprotéique a été autorisé au Brésil après avoir montré son efficacité [198]. En effet, la vaccination canine au Brésil s'est accompagnée d'une diminution de l'incidence des cas humains [199]. Notons aussi que des essais de vaccination préventive, chez l'homme, de phase I et II ont été initiés en Amérique du Sud et en Inde [200].

4.3.2 Prophylaxie de la leishmaniose canine

4.3.2.1 La vaccination contre la leishmaniose canine

Une vaccination efficace contre la leishmaniose canine peut empêcher la survenue de la maladie chez le chien et constitue une stratégie majeure pour diminuer la menace de la transmission à l'homme. Deux vaccins contre la leishmaniose canine ont été commercialisés au Brésil. Les résultats des essais de phase 1 et 2 auxquels ces vaccins ont été soumis montrent qu'ils réduisent de façon prometteuse la gravité de la maladie clinique chez le chien et ils ont d'ailleurs été homologués par le ministère de l'agriculture [1].

Le vaccin contre la leishmaniose canine devrait avoir les propriétés suivantes [201]:

- ✓ Induction d'une réponse immunitaire de type Th1 conférant à l'animal une résistance à l'infection ;
- ✓ Efficacité sur tous les stades parasitaires ;
- ✓ Stabilité, coût modéré, efficacité durable ;
- ✓ Induction d'une immunité stérile, c'est-à-dire empêcher l'infection par les leishmanies et pas seulement éviter le développement de la maladie. Ceci est important dans le cadre de la leishmaniose car les chiens leishmaniens asymptomatiques constituent un réservoir de parasites. Ce type de vaccin présenterait une mesure prophylactique à la fois pour la leishmaniose canine et pour la leishmaniose humaine.

4.3.2.2 Lutte anti-vectorielle

La lutte anti-vectorielle a pour but de réduire ou d'interrompre la transmission de la maladie.

➤ Prophylaxie sanitaire

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 certains phlébotomes étant endophiles (on les retrouve en intérieur) [37]. De plus, l'utilisation de moustiquaires est sans effet car ces insectes sont de taille inférieure à leur maillage. En revanche, l'utilisation nocturne de ventilateurs les fait fuir. Il faut également veiller à limiter les niches et les abris favorables aux phlébotomes (stades larvaire et adulte) autour des zones d'habitation [37] :

- 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.

➤ Prophylaxie médicale

Le recours aux insecticides peut prévenir les piqûres infectantes de phlébotomes. Deux présentations commercialisées ont une indication préventive :

- un *spot-on* d'une association imidaclopride-perméthrine (Advantix[®]), dont l'action répulsive dure de 2 à 3 semaines [202] ;
- un collier à base de deltaméthrine (Scalibor[®]), dont l'action préventive contre les phlébotomes est de 5 mois [203].

L'utilisation massive et prolongée de ces colliers sur des chiens vivant en zone d'endémie a démontré non seulement une diminution du nombre de cas d'infection chez le chien [197], mais également chez l'homme [204] confirmant ainsi que la lutte contre la leishmaniose canine est à la base de la protection de l'homme [4].

CONCLUSION GENERALE DE LA PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

La leishmaniose est une zoonose parasitaire vectorielle provoquée par des protozoaires de genre *leishmania*. Elle affecte les mammifères dont l'homme et provoque des lésions cutanées, viscérales, et cutanéomuqueuses. Chez le chien, le principal réservoir, *leishmania infantum* provoque une symptomatologie très protéiforme, d'où son appellation leishmaniose générale du chien. En l'absence de traitement, le pronostic est grave que ce soit chez l'homme ou bien chez le chien.

Jusqu'aujourd'hui, les phlébotomes sont les seuls vecteurs incriminés dans la transmission de cette métazoonose. La distribution géographique et la densité de ces derniers est conditionnée par certains biotopes à savoir la température, l'humidité, la nourriture, l'altitude... (etc.). En effet, la leishmaniose est une maladie influencée par le climat ; avec le réchauffement climatique le nombre de cas devrait être plus important.

L'émergence et la ré-émergence de certaines maladies humaines comme la tuberculose et le SIDA ne pourraient qu'augmenter le risque de contracter la leishmaniose. De nombreux malades co-infectés ont été déjà signalés partout dans le monde, dont la part des pays sous développés reste la plus importante.

En Algérie, trois formes nosoépidémiologiques distinctes ont été décrites : la LCZ (leishmaniose cutanée zoonotique) ou bien le fameux clou de Biskra qui sévit à l'état endémo-épidémique dans les haut plateaux et le Nord du Sahara ; la LV (leishmaniose viscérale) du Nord et la LCS (leishmaniose cutanée sporadique). Ces deux dernières sévissent sur toute la partie nord de notre pays.

De nombreuses campagnes de lutte anti-leishmaniose ont été menées au niveau des foyers actifs. Ces dernières étaient renforcées, en 2006, par la mise en place d'un programme national de lutte ciblant tous les maillons épidémiologiques des leishmanioses. Ainsi, le taux d'incidence devrait diminuer quelques ans après.

CHAPITRE 5

ETUDE I : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE RETROSPECTIVE DES LEISHMANIOSES HUMAINES

5.1 Introduction

Les études épidémiologiques des leishmanioses dans le monde ont révélés leur distribution endémique dans 88 pays et 4 continents (Afrique, Amérique du nord et du sud, Asie et Europe). Ces parasitoses affectent aussi bien les hommes que les animaux et leur évolution peut parfois revêtir un aspect endémo-épidémique. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [1], 350 millions de personnes présenteraient un risque de contamination alors que 12 millions seulement seraient infectées. Le nombre de nouveaux cas diagnostiqués cliniquement s'élève à deux millions de personnes par an à savoir 500 000 pour la LVH (leishmaniose viscérale humaine) et 1500 000 pour la LCH (leishmaniose cutanée humaine).

En Algérie la leishmaniose serait de loin la parasitose la plus fréquemment recensée et représenterait 35 % des maladies à déclaration obligatoire. Cependant avec l'extension de la maladie le risque de co-infection avec la tuberculose et le VIH/sida viendrait assombrir La situation épidémiologique de ces dernières [2].

Les objectifs de cette étude sont de :

1. Suivre l'évolution dans le temps et la répartition dans l'espace des cas de leishmanioses, viscérale et cutanée, archivés au sein du service d'épidémiologie de l'Institut National de Santé Public (INSP), cela durant la période comprise entre janvier 2002 et décembre 2011.
2. Faire un classement national des wilayas en termes de leishmanioses viscérales et cutanées.

3. Effectuer une analyse épidémiologique rétrospective des cas de leishmanioses cutanées et viscérales recensés sur une période de dix ans (de janvier 2003 à décembre 2012), au niveau de la Direction de la Santé et de la Population (DSP) de la Wilaya de Béjaia.

5.2 Matériel & Méthodes

Au niveau national : Pour la récolte des données sur les leishmanioses humaines pendant ces dix dernières années au niveau national; nous nous sommes adressés à L'I.N.S.P. qui a mis à notre disposition les Relevés Épidémiologiques Mensuels (REM) relatif aux bilans annuels du nombre de cas de leishmanioses humaines déclarés, de 2002 à 2011.

Au niveau de la Wilaya de Béjaia : Pour la récolte des données sur les leishmanioses humaines de ces dix dernières années, dans les 52 communes de la Wilaya de Béjaia; nous nous sommes adressés à la Direction de la Santé et de la Population (DSP) qui nous a fourni les données suivantes:

- Le nombre de cas humains atteints de maladies zoonotiques dont les leishmanioses (Appendice C).
- Les données épidémiologiques des cas humains atteints des leishmanioses (LV et LC) à savoir : l'âge ; le sexe ; la date de déclaration et l'origine géographique (Appendice D).

5.3 Résultats

5.3.1 Au niveau National

5.3.1.1 Evolution dans le temps

Tableau 5.1 : Évolution de l'incidence (nombre et taux) déclarés de leishmaniose humaine en Algérie de 2002 à 2011.

Année	Population	Nombre de cas déclarés		Incidences annuelles pour 10 ⁵ habitants	
		LV	LC	LV	LC

2002	31235006	106	8049	0,34	25,77
2003	31645000	131	13749	0,41	43,45
2004	32075000	130	14822	0,40	46,22
2005	32500000	115	25511	0,35	78,52
2006	32975000	93	14714	0,28	44,63
2007	33415000	104	6755	0,31	20,21
2008	33850000	80	7632	0,23	22,54
2009	34310000	89	12097	0,25	35,26
2010	35715878	121	21049	0,33	58,95
2011	36536041	94	16585	0,25	45,40
Total	/	1063	140825	/	/

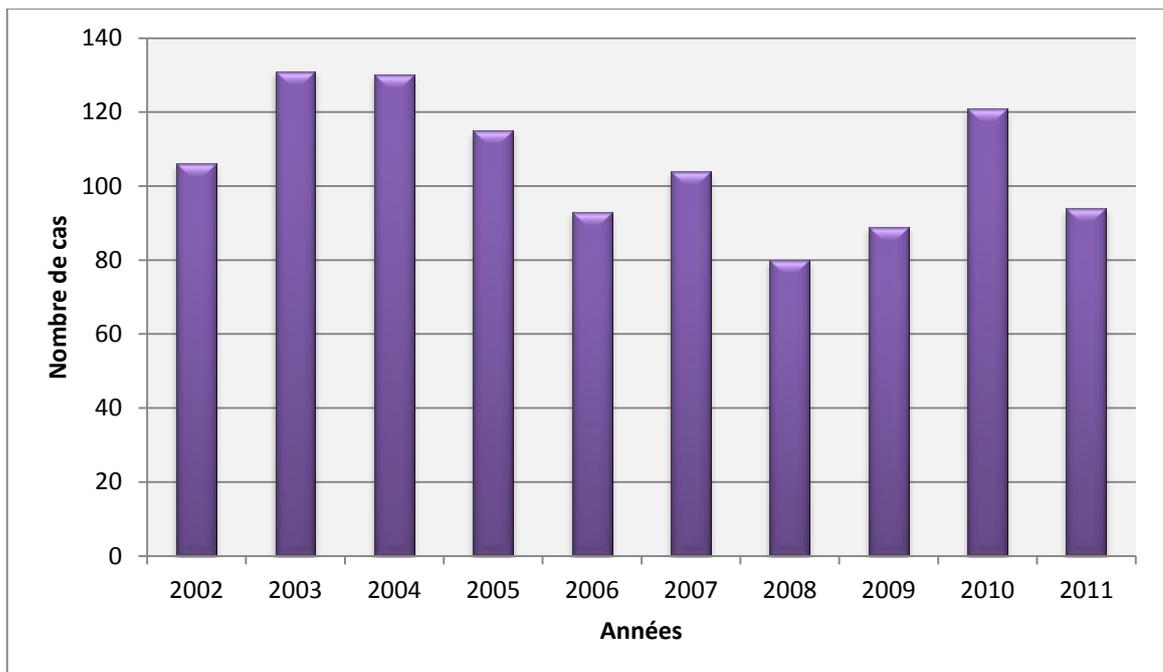


Figure 5.1 : Évolution de l'incidence (nombre de cas) de la LV en Algérie de 2002 à 2011.

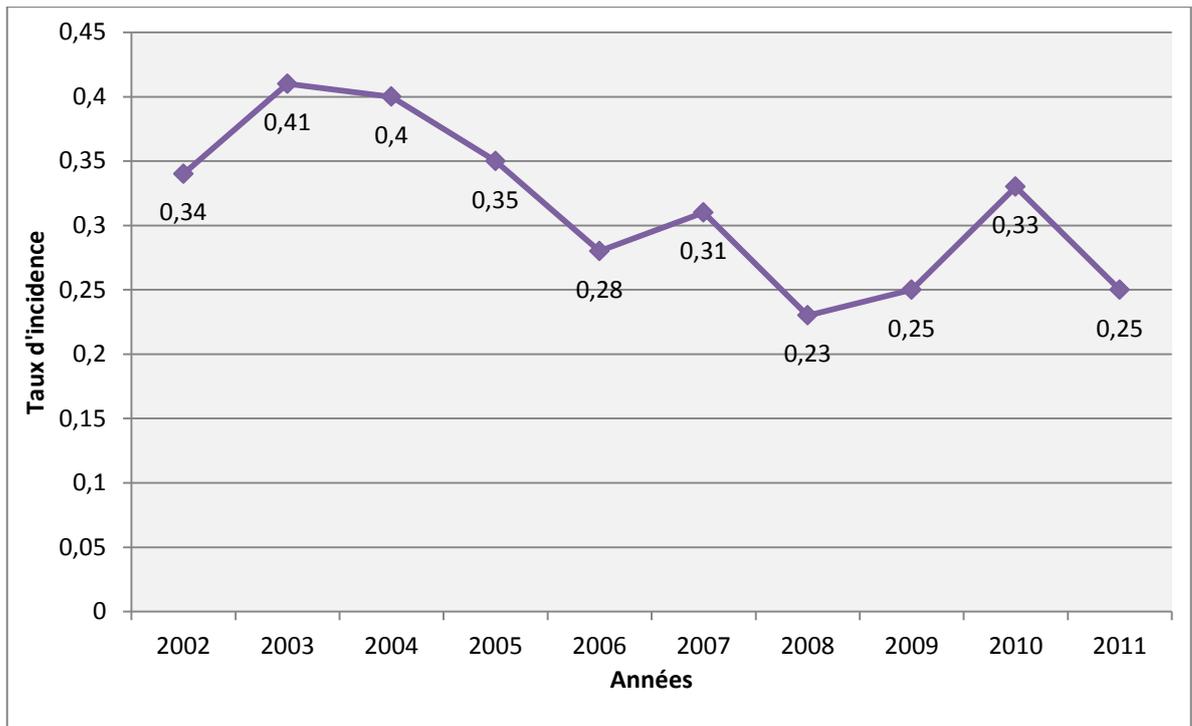


Figure 5.2 : Évolution de l'incidence (taux) de la LV en Algérie de 2002 à 2011 (pour 10^5 habitants).

D'après les illustrations ci-dessus, on remarque qu'au sein d'un intervalle de dix ans, l'incidence de la leishmaniose viscérale a connue des fluctuations avec trois pics d'enregistrement : le premier et le deuxième pic ont été enregistrés en 2003 et en 2007 avec 131(0,41/ 10^5 habitants) et 104 cas (0,31/ 10^5 habitants), respectivement. Le troisième pic a été enregistré en 2010 avec 121 cas (0,33/ 10^5 habitants). L'incidence la plus basse est enregistrée en 2008 avec 80 cas ce qui fait un taux d'incidence de 0,23/ 10^5 habitants.

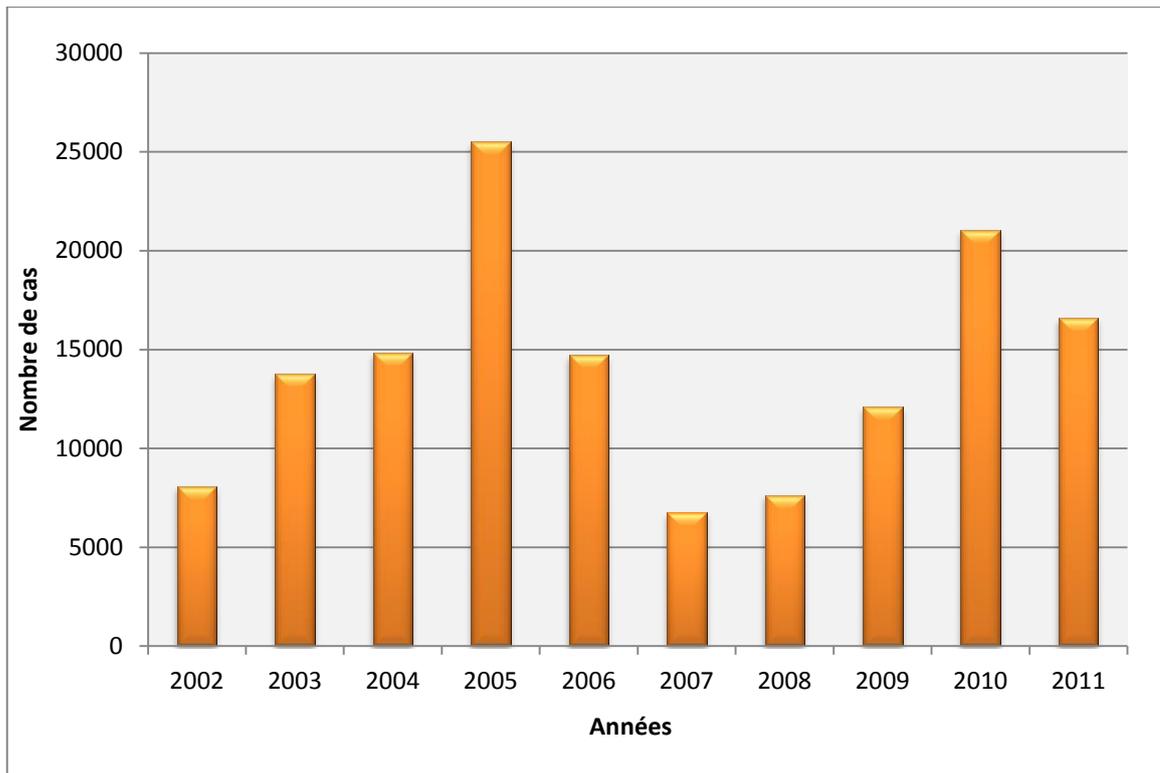


Figure 5.3 : Évolution de l'incidence (nombre de cas) de la LC en Algérie de 2002 à 2011.

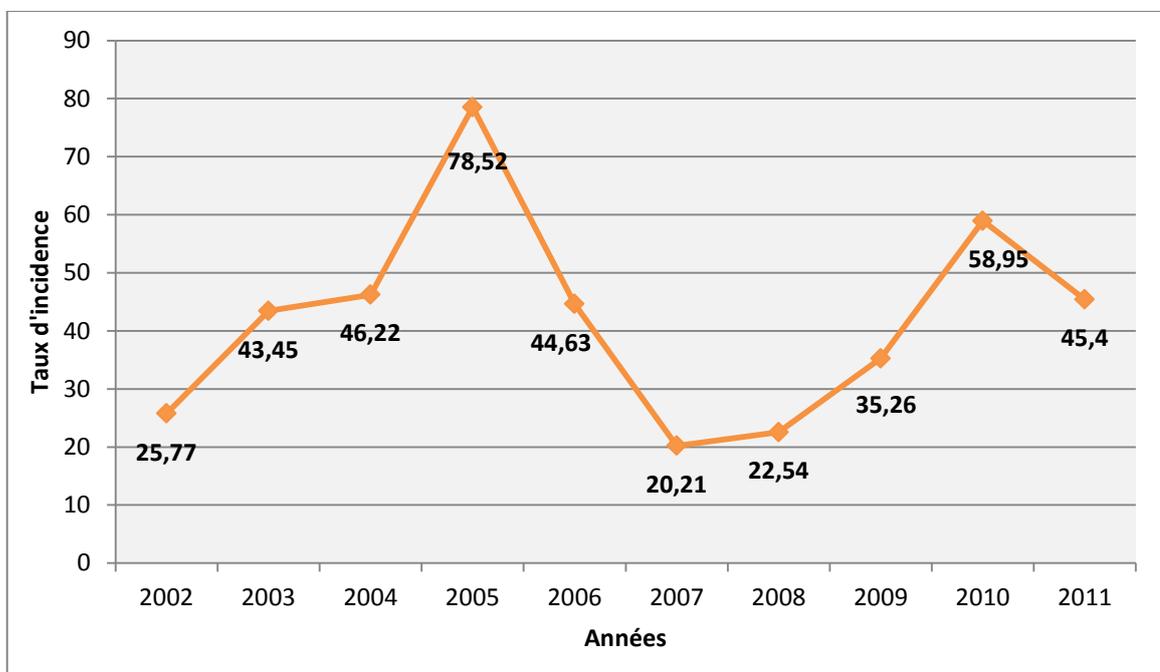


Figure 5.4 : Évolution de l'incidence (taux) de la LC en Algérie de 2002 à 2011 (pour 10^5 habitants).

Nous remarquons que, pour la LC, le nombre de cas enregistrés en dix ans varie d'une année à l'autre avec cependant deux pics : le premier pic, qui est le plus élevé, a été signalé en 2005 avec un nombre de cas dépassant les 2500, soit un taux d'incidence de $78,49/10^5$ habitants. Le deuxième pic a été enregistré en 2010 avec un taux d'incidence de $58,93/10^5$ habitants. Toutefois, la plus basse incidence a été enregistrée avec 6755 cas ($20,21/10^5$ habitants) en 2007

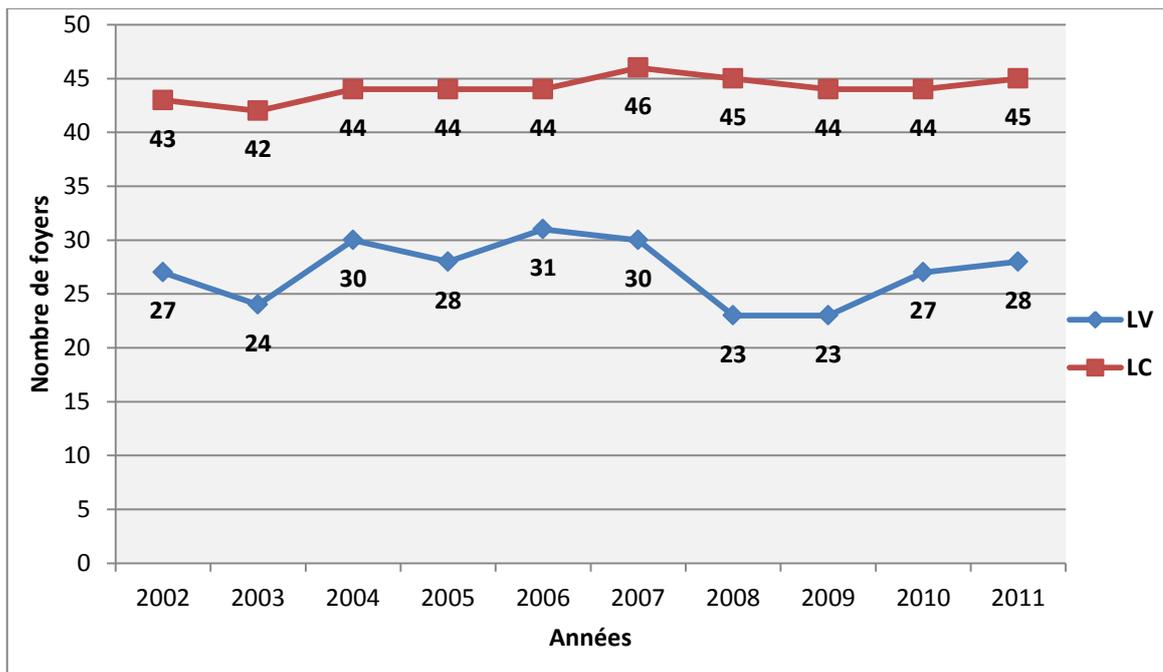


Figure 5.5 : Évolution du nombre de wilayas présentant des foyers de leishmaniose (LV et LC) en Algérie de 2002 à 2011.

Les résultats de la figure ci-dessus montrent que le nombre de wilayas présentant des foyers de leishmaniose est presque stable pour la LC, il varie de 42 à 46 foyers. Quant à la LV ce nombre fluctue au cours des années: le nombre le plus bas comptant 23 foyers a été enregistré en 2008 et en 2009 alors que le nombre le plus élevé correspondant à 31 foyer a quant à lui été enregistré en 2006.

5.3.1.2 Répartition dans l'espace (Origine géographique des cas)

La répartition géographique de 1063 cas de LV et de 140825 cas de LC est précisée dans le tableau 5.2. Cependant, nous avons procédé au calcul du taux d'incidence étalée sur une dizaine d'années pour chaque wilaya, en utilisant la formule suivante :

$$TI \text{ (Taux d'Incidence)} = N/PA$$

N : la somme des cas de 10 ans

PA: personnes à risque de 10 ans

PA = la somme (nombre d'habitants dans la wilaya dans l'année - (nombre de cas dans l'année n/2)).

Les taux d'incidence ainsi calculés sont représentés dans le tableau 5.2.

Tableau 5.2: Régions (wilayas) d'origine des cas de leishmanioses déclarés au niveau de l'INSP, de 2002 à 2011: nombre de cas par formes de leishmanioses, nombres totaux de cas, nombres moyens annuels et taux d'incidences annuelles moyennes pour 10⁵ habitants.

Wilaya	Nombre de cas total		Nombre moyen annuel		Taux d'incidence/ 10 ⁵ habitants	
	LV	LC	LV	LC	LV	LC
ADRAR	3	71	0,3	7,1	0,083	1,98
CHLEF	19	71	1,9	7,1	0,19	0,73
LAGHOUAT	4	7668	0,4	766,8	0,10	204,50
OUM EL BOUAGHI	22	53	2,2	5,3	0,37	0,89
BATNA	33	16821	3,3	1682,1	0,30	153,63
BEJAIA	75	76	7,5	7,6	0,77	0,78
BISKRA	89	33046	8,9	3304,6	1,34	499,60
BECHAR	1	6567	0,1	656,7	0,038	253,73
BLIDA	17	178	1,7	17,8	0,18	1,93

BUIRA	58	581	5,8	58,1	0,81	8,14
TAMANRASSET	28	22	2,8	2,2	1,76	1,38
TEBESSA	14	4422	1,4	442,2	0,22	70,69
TLEMCEEN	6	177	0,6	17,7	0,061	1,81
TIARET	6	3310	0,6	331,0	0,072	39,96
TIZI OUZOU	47	193	4,7	19,3	0,37	1,53
ALGER	17	65	1,7	6,5	0,056	0,21
DJELFA	1	4966	0,1	496,6	0,010	53,76
JIJEL	20	387	2,0	38,7	0,30	5,98
SETIF	98	561	9,8	56,1	0,65	3,77
SAIDA	2	992	0,2	99,2	0,062	30,80
SKIKDA	16	206	1,6	20,6	0,17	2,28
SIDI BEL ABBES	4	69	0,4	6,9	0,065	1,13
ANNABA	2	55	0,2	5,5	0,03	0,85
GUELMA	16	28	1,6	2,8	0,32	0,56
CONSTANTINE	31	133	3,1	13,3	0,33	1,41
MEDEA	43	1675	4,3	167,5	0,47	18,68
MOSTAGANEM	3	95	0,3	9,5	0,041	1,31
M'SILA	7	31431	0,7	3143,1	0,04	181,29
MASCARA	3	41	0,3	4,1	0,038	0,52
OUARGLA	7	3425	0,7	342,5	0,13	67,11
ORAN	21	8	2,1	0,8	0,14	0,056
EL BAYADH	0	2300	0	230,0	0	116,03
ILLIZI	16	37	1,6	3,7	2,13	4,94
BOURDJ BOU ARRERIDJ	41	1699	4,1	169,9	0,65	27,08
BOUMERDES	21	197	2,1	19,7	0,27	2,62
EL TARF	1	28	0,1	2,8	0,024	0,68
TINDIUF	0	7	0	0,7	0	2,07
TISSEMSILT	23	92	2,3	9,2	0,77	3,09

EL OUED	10	8320	1,0	832,0	0,17	144,36
KHENCHELA	5	1070	0,5	107,0	0,13	28,59
SOUK AHRAS	24	15	2,4	1,5	0,56	0,35
TIPAZA	15	126	1,5	12,6	0,25	2,16
MILA	119	366	11,9	36,6	1,55	5,31
AIN DEFLA	24	83	2,4	8,3	0,31	1,10
NAAMA	2	2947	0,2	294,7	0,13	193,19
AIN TEMOUCHENT	8	6	0,8	0,6	0,21	0,15
GHARDAIA	9	6227	0,9	622,7	0,26	180,25
RELIZANE	32	12	3,2	1,2	0,44	0,16
TOTAL	1063	140825	/	/	/	/

Les résultats du tableau ci-dessus montrent que:

- Le nombre de cas de LC recensé en dix ans (140825) est largement supérieur à celui de la LV (1063).
- Pour la LV, les premières six Wilayas qui ont enregistré les plus grands nombres de cas sont les suivantes : Mila (119 cas), Sétif (98 cas), Biskra (89 cas), Béjaïa (75cas), Bouira (58 cas), Tizi Ouzou (47). Néanmoins, le taux d'incidence pour 100000 habitants révèle un autre classement à savoir : Illizi (2,13), Tamanrasset (1,76), Mila (1,55), Biskra (1,34), Bouira (0,81), Béjaïa (0,77).
- Pour la LC, les Wilayas qui viennent en tête du classement, selon le nombre de cas, sont les suivantes : Biskra (33046), M'sila (31431), Batna (16821), El-oued (8320), Laghouat (7668), Bechar (6567), puis Ghardaïa avec 6227 cas.

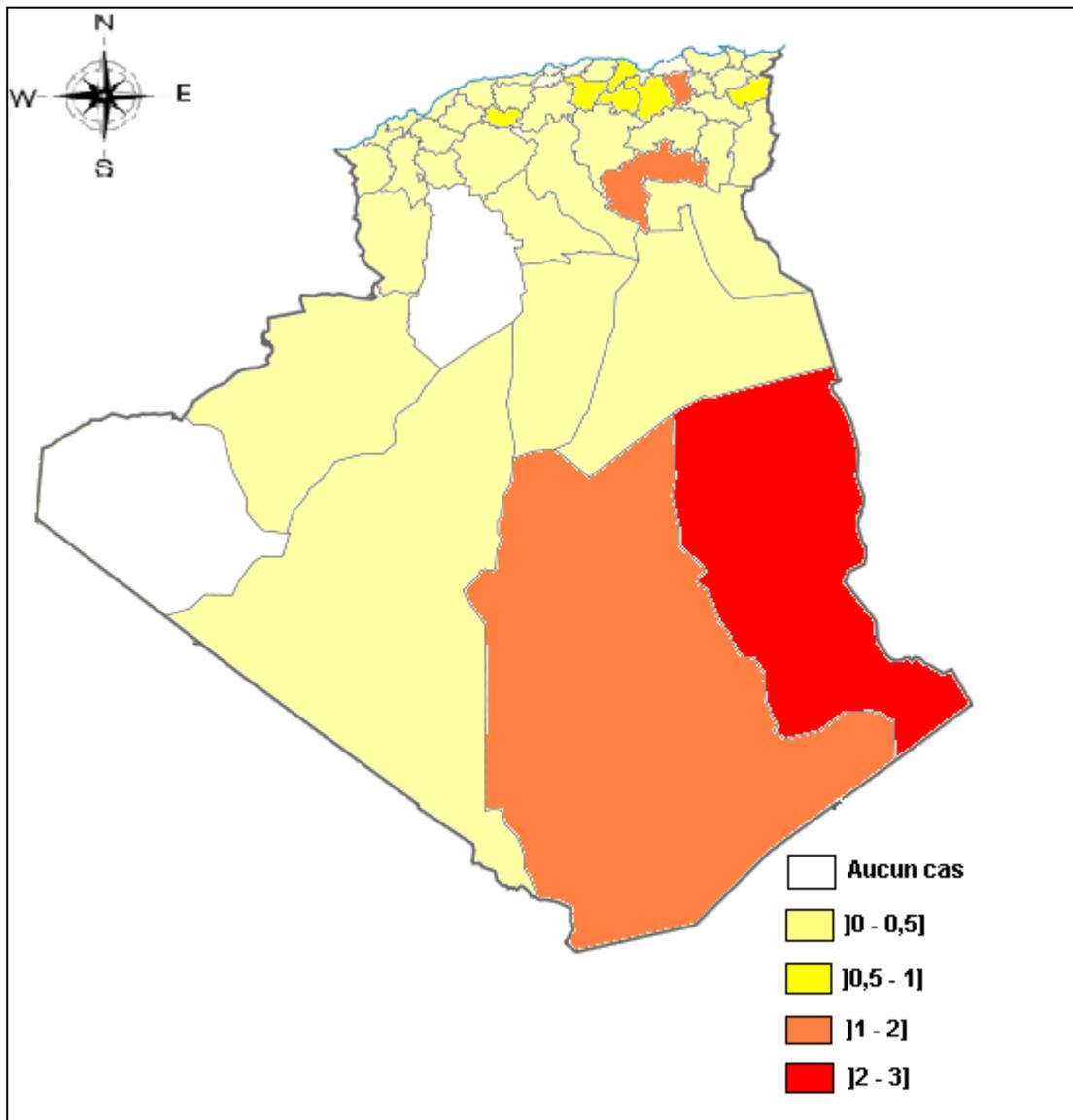


Figure 5.6: Taux d'incidence pour 10^5 habitants et par wilayas des leishmanioses viscérales rapportées au niveau de l'Institut National de Santé Public (INSP) entre 2002 et 2011.

La figure 5.6 montre qu'en dix ans (du 2002 au 2011) :

- Deux wilayas (Tindouf et El bayadh) n'ont pas enregistré de cas de LV.
- Le Sud-est du pays semble être plus touché par la LV
- Le foyer du Sud est représenté par les wilayas de Illizi et Tamanrasset.
- Le foyer du Nord est représenté par les wilayas de Mila, Sétif, Béjaïa, Buir, Bourj Bou Arrej (au centre), Souk Ahras (à l'Est), et Tissemsilt (à l'Ouest).
- Biskra constitue le foyer du Nord du Sahara.

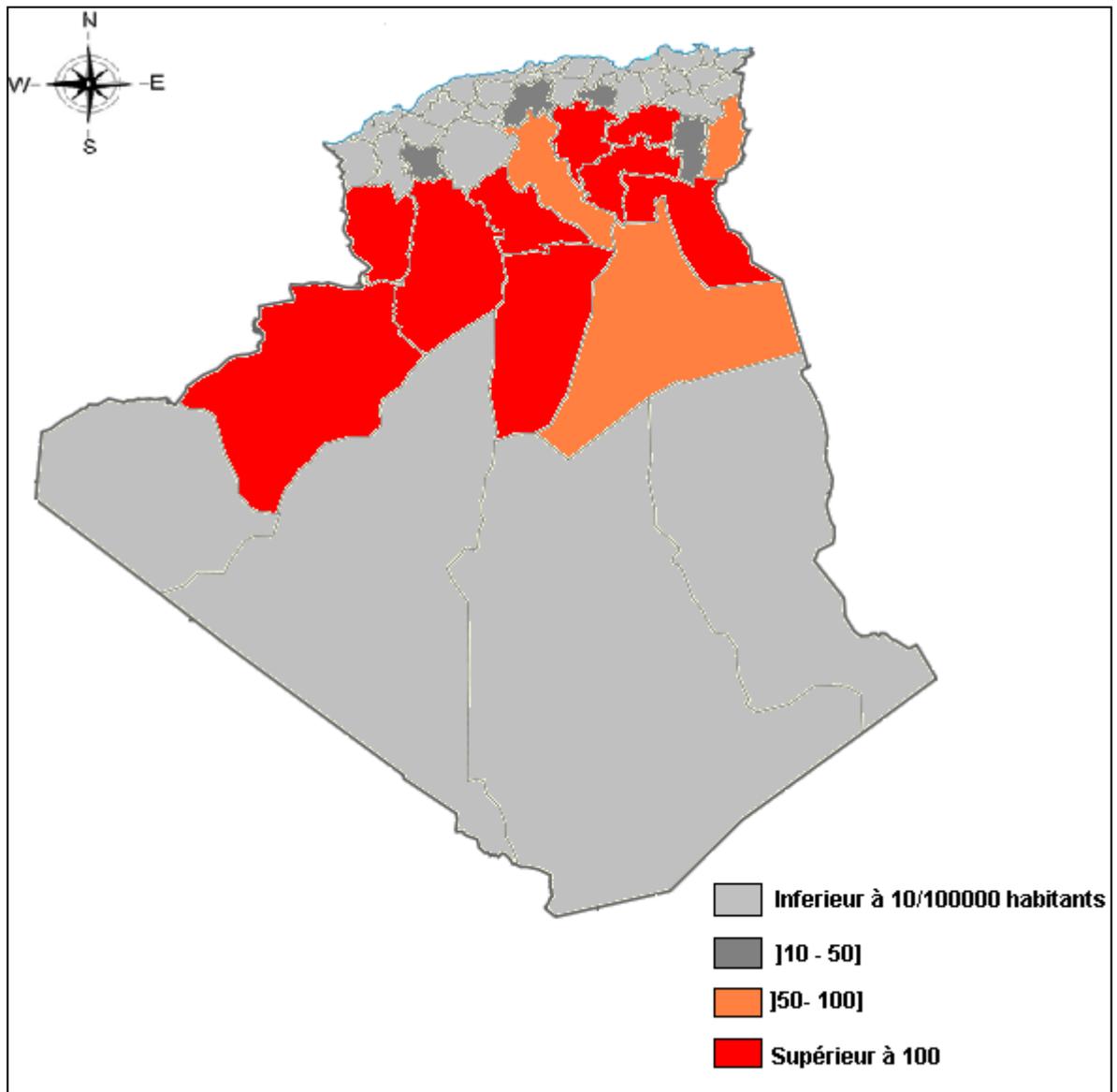


Figure 5.7 : Taux d'incidence pour 10^5 habitants et par wilayas des leishmanioses cutanées rapportées au niveau de l'Institut National de Santé Public (INSP) entre 2002 et 2011.

Les résultats de la figure ci-dessus montrent que :

- Tout le territoire national est touché par la LC ;
- Les wilayas du Nord du Sahara (Bechar, El Bayadh, Ghardaïa, Naama, Laghouat, Ouargla, El oued, Djelfa, M'sila, Biskra) et des Oureses (Batna, Khenchela, Tebessa) constituent une bande de forte incidence qui s'étend de l'Est à l'Ouest.

N.B : Pour plus de détails sur le nom de chaque wilaya, consulter l'appendice B

5.3.2 Au niveau de la wilaya de Béjaia

5.3.2.1 Evolution dans le temps

5.3.2.1.1 Evolution des zoonoses

L'évolution en dix ans de l'incidence (nombre de cas et taux) des zoonoses à Béjaia révèle des fluctuations représentées tantôt par une augmentation, tantôt par une diminution et même par une stabilité du nombre de cas recensé (Tableau 5.3). Cependant le taux d'incidence le plus élevé (57,32) correspondant au nombre de cas le plus important (581) a été enregistré en 2009.

Tableau 5.3 : Evolution du nombre de cas de zoonoses à Béjaia, de 2002 à 2012.

Année Maladies	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	TOTAL
Tuberculose	482	484	463	419	411	536	550	498	486	443	4772
Brucellose	00	03	01	01	00	04	02	02	00	02	15
Leishmaniose viscérale	12	11	16	05	04	09	07	09	02	01	76
Leishmaniose cutanée	07	12	10	07	04	04	05	08	05	03	65
Hydatidose	06	04	08	05	03	02	09	07	06	13	63
Fièvre boutonneuse	03	04	18	05	12	10	03	07	08	11	81
Paludisme	06	00	00	00	00	00	00	00	00	00	06
Leptospirose	00	02	00	02	04	04	02	01	03	00	18
Rage	00	01	00	00	02	01	03	00	00	00	07
TOTAL : Nombre de cas	516	521	516	444	440	570	581	532	510	473	5103
TOTAL : Incidences annuelles pour 10⁵ habitants	55,15	54,93	53,65	45,53	44,54	56,98	57,32	52,14	53,69	50,27	/

Tableau 5.4 : Prévalence (nombre de cas) des zoonoses à Béjaia et leurs proportions, sur une période de 10 ans (de 2002 à 2012).

Maladies	Tub	Bru	LV et LC	Hyd	F.Bu	Pal	Lep	Rag	Total
Nombre de cas	4772	15	141	63	81	06	18	07	5103
Proportion (%)	93,51	0,29	2,76	1,23	1,59	0,12	0,35	0,14	100

Tub : tuberculose, Bru : brucellose, LV : leishmaniose viscérale, LC : leishmaniose cutanée
Hyd : hydatidose, F.Bu : fièvre boutonneuse, Pal : paludisme, Lep : leptospirose, Rag : rage

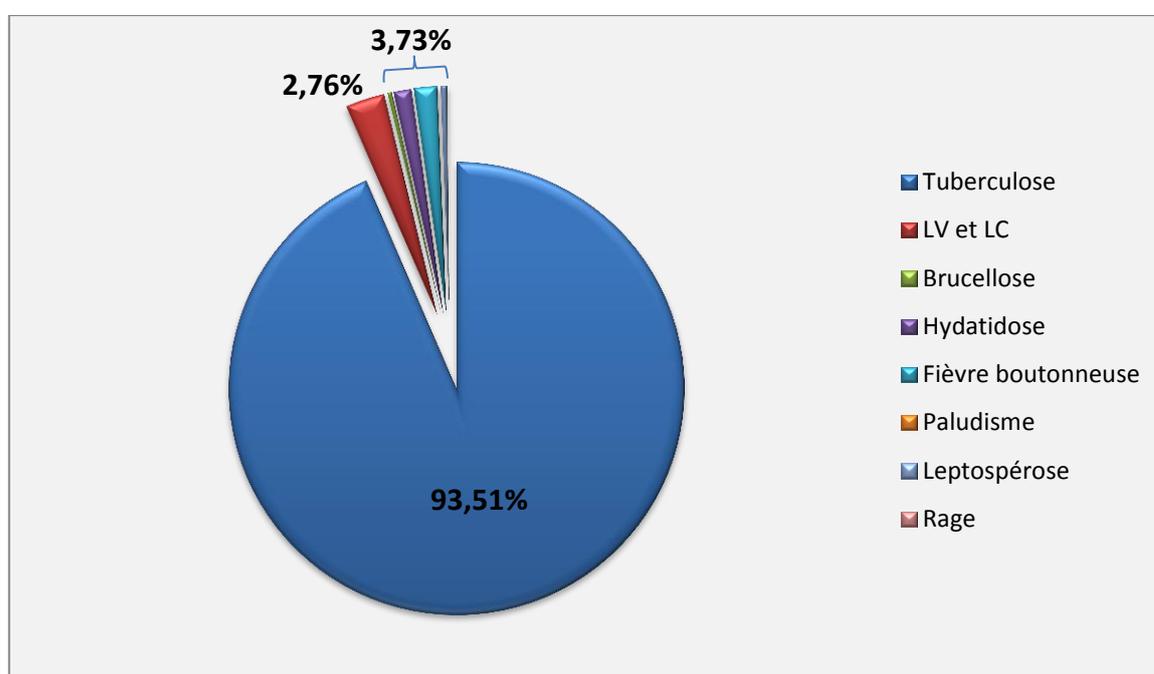


Figure 5.8 : Proportion des zoonoses à Béjaia, sur une période de 10 ans (de 2002 à 2012).

Les résultats obtenus montrent que :

- La tuberculose humaine demeure la zoonose la plus importante avec une incidence de 4772 cas (incidence annuelle moyenne est de 477,2 cas) ce qui fait une proportion de 93,51% de la totalité des zoonoses déclarés au niveau wilaya.
- Les leishmanioses humaines (LV et LC) viennent en 2^{ème} position avec une incidence de 141 cas, équivalente à 2,76% des zoonoses.
- Les leishmanioses humaines constituent la 1^{ère} zoonose parasitaire.

- Les autres zoonoses constituent, seulement 3,73% de la totalité des cas zoonotiques déclarés en dix ans.

5.3.2.1.2 Evolution des leishmanioses

L'évolution de l'incidence des leishmanioses viscérales et cutanées (nombre de cas) est illustrée dans le tableau 5.5 et dans la figure 5.9 ; pendant que la figure 5.10 et une partie du tableau 5.5 illustrent l'évolution du taux d'incidence de ces deux types de leishmaniose.

Tableau 5.5 : Évolution de l'incidence (nombre et taux) déclarés de leishmaniose humaine à Béjaia de 2003 à 2012.

Année	Population	Nombre de cas déclarés		Incidences annuelles pour 10 ⁵ habitants	
		LV	LC	LV	LC
2003	935743	12	7	1,28	0,74
2004	948680	11	12	1,15	1,26
2005	961908	16	10	1,66	1,03
2006	975231	05	07	0,51	0,71
2007	988015	04	04	0,40	0,40
2008	1000528	09	04	0,89	0,49
2009	1013814	07	05	0,69	0,49
2010	1020445	09	08	0,88	0,78
2011	950013	02	05	0,21	0,52
2012	941110	01	03	0,1	0,31
Total	/	76	65	/	/

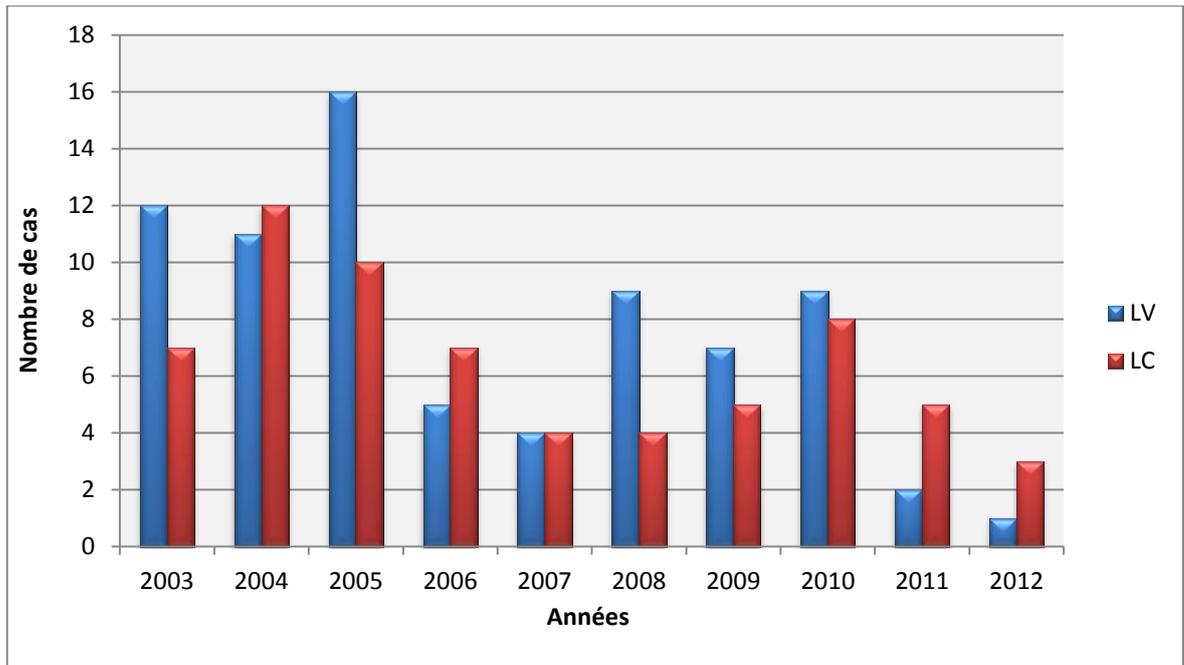


Figure 5.9 : Évolution de l'incidence (nombre des cas) des leishmanioses (LV et LC) à Béjaia de 2003 à 2012.

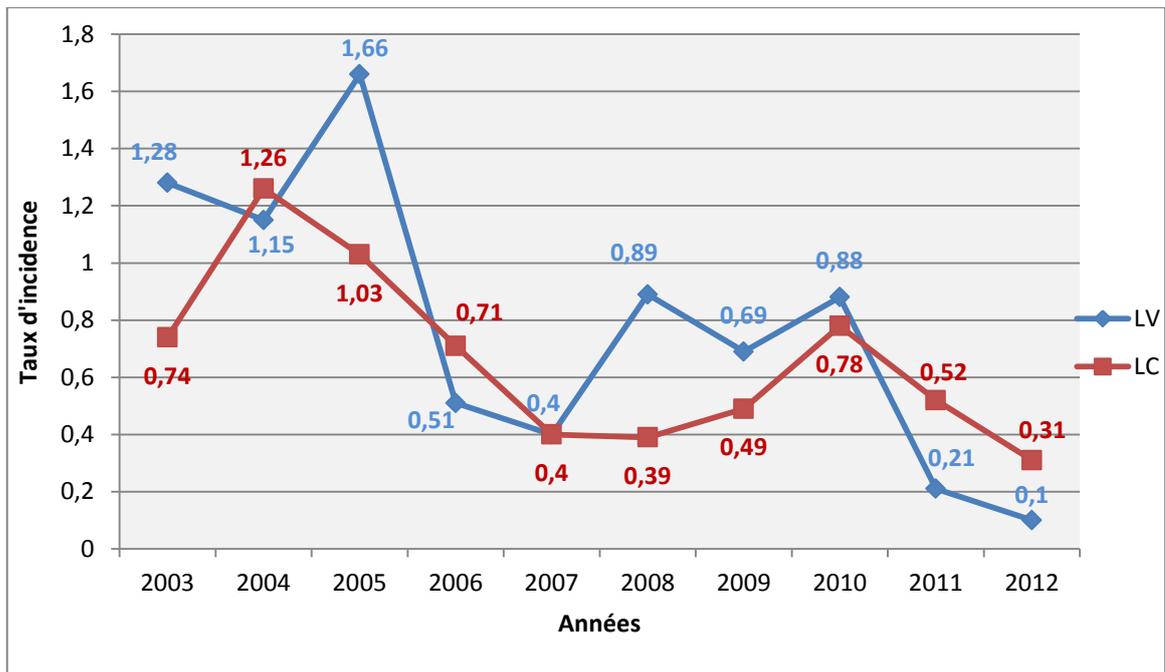


Figure 5.10 : Évolution de taux d'incidence pour 10^5 habitants des leishmanioses (LV et LC) à Béjaia de 2003 à 2012.

5.3.2.2 Répartition selon l'âge

Les tranches d'âge proposées étaient : 0-5 ans, 6-10 ans, puis tous les 10 ans jusqu'à 60 ans, puis > 60 ans.

Tableau 5.6 : Répartition de nombre des cas selon l'âge.

Année Age	200 3	200 4	200 5	200 6	200 7	200 8	200 9	201 0	201 1	201 2	Total	Total %
[0-5]	18	21	21	09	07	09	10	09	06	02	112	79,43
[6-10]	00	00	03	03	01	02	00	03	00	01	13	9,22
[11-20]	01	00	00	00	00	00	01	00	00	00	02	1,42
[21-30]	00	02	00	00	00	02	01	03	01	01	10	7,09
[31-40]	00	00	02	00	00	00	00	00	00	00	02	1,42
[41-50]	00	00	00	00	00	00	00	01	00	00	01	0,71
[51-60]	00	00	00	00	00	00	00	01	00	00	01	0,71
> 60	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
Total	19	23	26	12	08	13	12	17	07	04	141	100

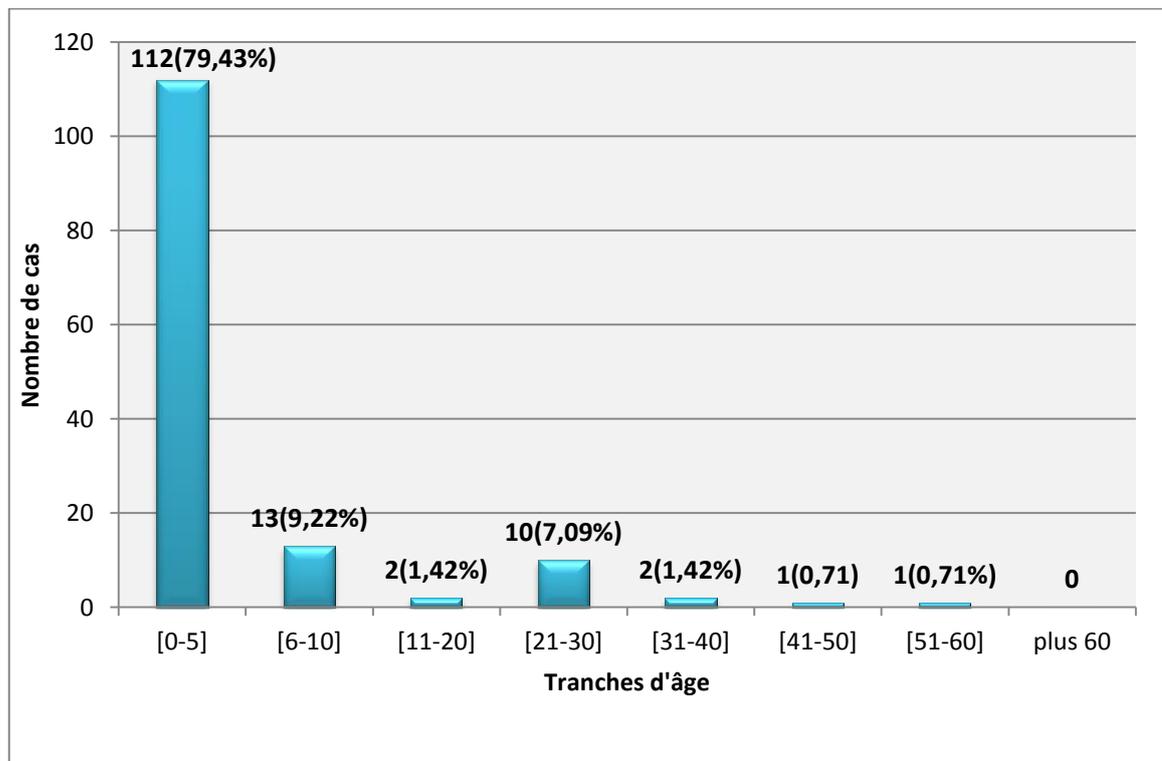


Figure 5.11: Répartition du nombre et du pourcentage des cas de leishmaniose (les deux formes combinées) en fonction de l'âge.

Le tableau 5.6 et la figure 5.11 montrent que sur un total de 141 cas, la majorité (79,43%) avait un âge égal ou inférieur à 5 ans. Aucun cas âgé plus de 60 ans n'a été enregistré.

5.3.2.3 Répartition selon le sexe

Les résultats synthétisés dans le tableau 5.7 montrent une prédominance de l'atteinte masculine. Le ratio du sexe masculin était de 1,31

Tableau 5.7 : Nombre de cas selon le sexe.

Année \ Sexe	200	200	200	200	200	200	200	201	201	201	Total	%
	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2		
Masculin	08	14	11	09	05	06	08	12	04	03	80	56,74
Féminin	11	09	15	03	03	07	04	05	03	01	61	43,26
Total	19	23	26	12	08	13	12	17	07	04	141	100

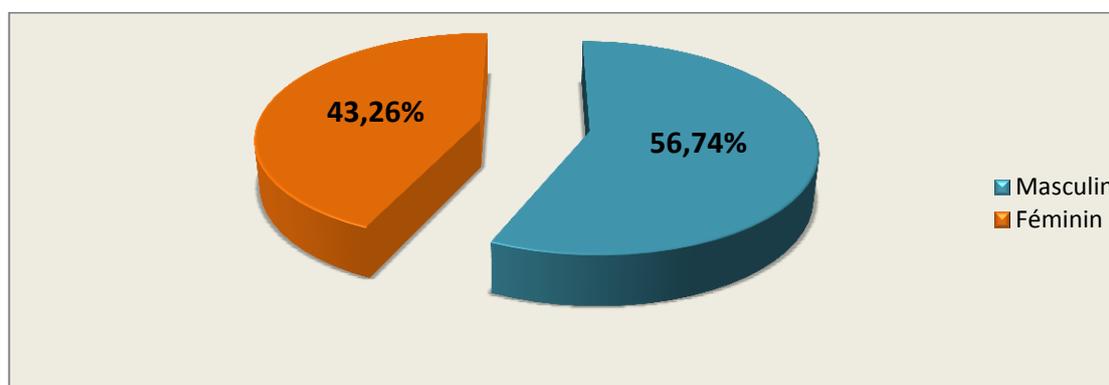


Figure 5.12 : Répartition des leishmanioses humaines à Béjaia selon le sexe.

5.3.2.4 Répartition saisonnière

Les résultats de la répartition des cas de leishmanioses selon les mois de l'année sont résumés dans le tableau 5.8 et la figure 5.13. En effet, sur un total de 141 cas, un pic d'enregistrement a été signalé en mois de juillet avec 23 cas, la

plus faible incidence a été enregistrée en février (04 cas). Pour les autres mois de l'année, le nombre de cas enregistré était presque stable, il varie de 9 à 14 cas, avec une moyenne de $11,4 \pm 1,77$.

Tableau 5.8 : Répartition mensuelle des cas.

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Jui	Aout	Sep	Oct	Nou	Dec	Total
Nbr de cas	14	04	12	14	12	12	23	11	09	09	11	10	141

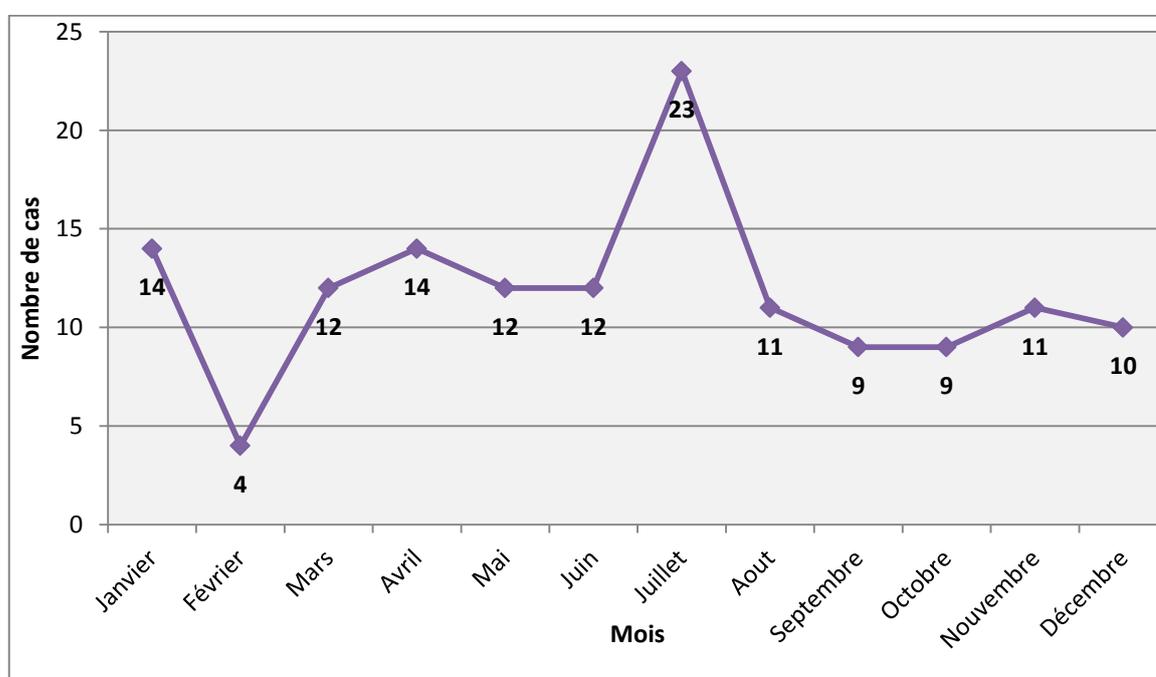


Figure 5.13 : Répartition mensuelles des leishmanioses humaines à Béjaia.

5.3.2.5 Répartition dans l'espace (distribution géographique des cas)

Elle est précisée dans le tableau 5.9 et la figure 5.14 Le plus grand nombre de cas (36 cas, 20 pour la LV et 16 pour la LC) a été enregistré dans la commune de Kherrata suivi par ceux de la commune de Béjaia avec 27 cas (11 pour la LV et 16 pour la LC), et Akbou avec 19 cas (08 pour la LV et 11 pour la LC). Cependant, le calcul du taux d'incidence annuel moyen par commune (Tableau 5.9 et figure

5.15) révèle que la commune de Kharrata est la plus affectée avec un taux d'incidence de 10,16/10⁵ habitants, suivi par ceux de Sidi-Aiche (7,26), Amizour (3,73) et Akbou (3,57). Quant à la commune de Béjaia, elle vient en 10^{ème} position avec un taux d'incidence de 1,52/10⁵, après avoir été en 2^{ème} position si on parle de nombre de cas.

N.B : Les incidences ont été établies sur la base des données du Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH) de 2008 sur le site de l'ONS. Pour plus de détails, veuillez consulter l'appendice E.

Tableau 5.9 : Communes d'origine des cas de leishmanioses déclarés au niveau de la DSP de la wilaya de Béjaia, de 2003 à 2012: nombre de cas par formes de leishmanioses, nombres totaux de cas, nombres moyens annuels et taux d'incidences pour 10⁵ habitants.

Commune	LV	LC	Nombre de cas total	Nombre moyen annuel	Taux d'incidence/ 10 ⁵ habitants
Béjaia	11	16	27	2,7	1,52
Oued-Ghir	01	00	01	0,1	0,52
Amizour	10	04	14	1,4	3,73
Tazmalt	05	01	06	0,6	2,08
Kherrata	20	16	36	3,6	10,16
Draa el gaid	03	02	05	0,5	1,71
El Kseur	01	01	02	0,2	0,67
Toudja	00	01	01	0,1	1,02
Akbou	08	11	19	1,9	3,57
Taskriout	01	02	03	0,3	1,86
Amalou	00	01	01	0,1	1,16
Adekar	01	00	01	0,1	0,77
Beni-Maouche	00	02	02	0,2	1,49
Sidi- Aiche	09	01	10	01	7,26
Darguina	01	01	02	0,2	1,41
Souk-tenine	00	01	01	0,1	0,71

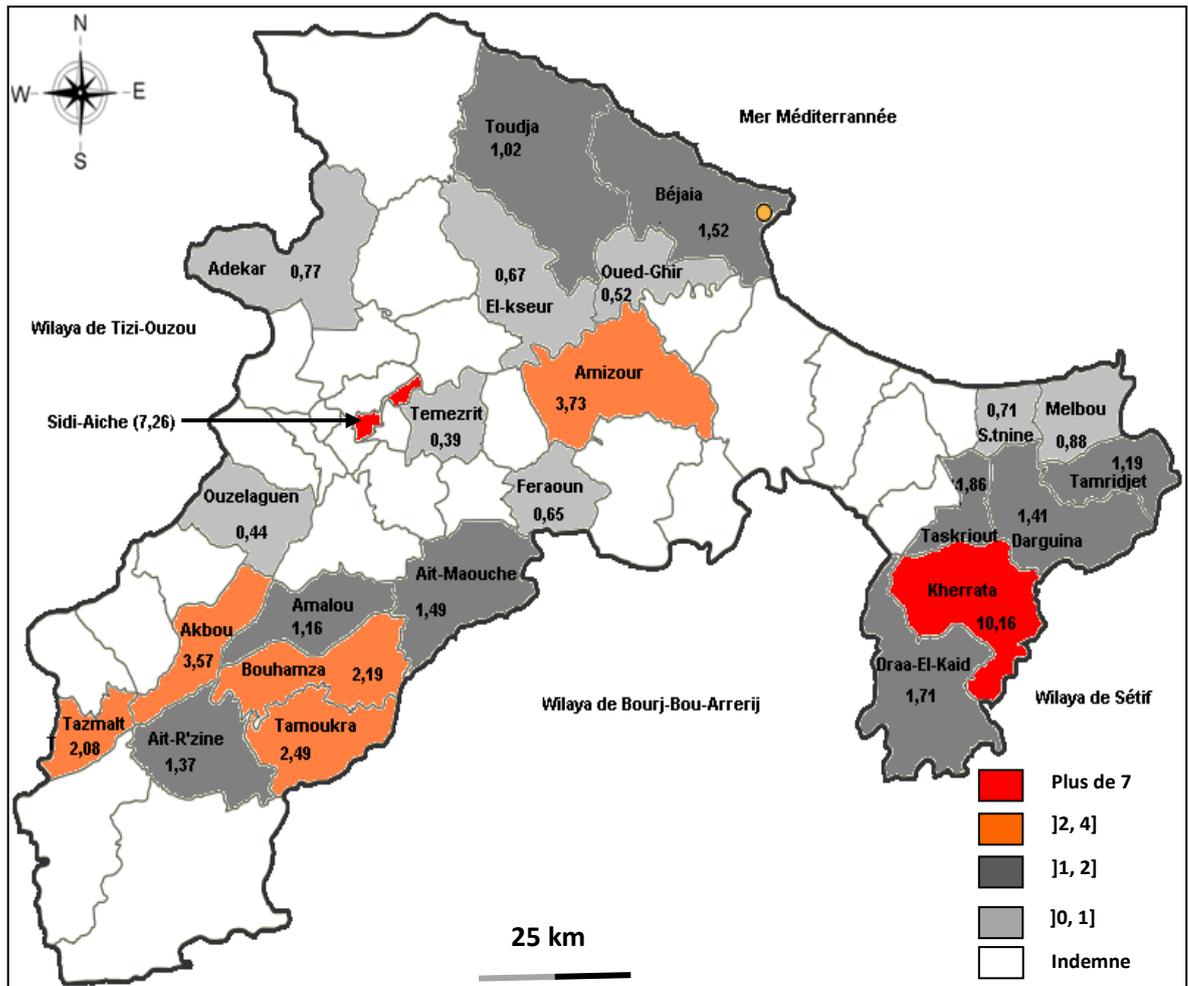


Figure 5.15 : Incidence annuelle moyenne pour 10⁵ habitants et par commune des leishmanioses rapportées au niveau de la Direction de la Santé et de la Population (DSP) de la wilaya de Béjaia entre 2003 et 2012.

5.4 Discussion

5.4.1 Au niveau national

5.4.1.1 Evolution dans le temps

Les recensements effectués au niveau de l'institut national de santé public concernant la fourchette s'étalant de janvier 2002 à décembre 2011 ont révélés 1063 cas de LV. Selon certains spécialistes du terrain, ce chiffre relatif aux cas hospitalisés, est sans doute inférieur à la réalité dans la mesure où plusieurs cas échappent au diagnostic à cause de l'insuffisance des infrastructures sanitaires dans les régions rurales. Cependant, l'absence de déclaration systématique de cas de leishmaniose par le secteur privé vient perturber inmanquablement les statistiques du moment [2].

Le nombre de cas déclarés entre 2002 et 2011 est passé de 106 à 94 cas. Une incidence en diminution apparente marquée par de basses incidences enregistrées en 2008 et en 2009 évaluées à 80 ($0,23/10^5$ hab) et 89 cas ($0,25/10^5$ hab) respectivement. En effet, notre analyse statistique a pu mettre en évidence une différence légèrement significative relative à l'évolution du taux d'incidence au fil du temps ceci pourrait s'expliquer par la valeur de tendance calculé X^2 (16,77) qui reste légèrement inférieure à celle de $X^2_{0,05}$ (16,92) mais avec une valeur $p < 0,05$. (Rejet de l'hypothèse nulle !)

Les données sur l'évolution de l'incidence annuelle de la LV enregistrés en Tunisie, ont montré que comparativement à notre pays cette dernière est largement affectée par la LV [2006 (128 cas), 2005 (166), 2004 (95), 2003 (45), 2002 (57)] [205]. Bien qu'en 2002, 2003, et 2004 le nombre de cas était supérieur en Algérie qu'en Tunisie, cela n'est nullement significatif statistiquement tenant compte de la population algérienne de loin supérieure à sa voisine tunisienne d'où bien sûr la nécessité d'apprécier cette différence par le calcul du taux d'incidence annuelle [en 2002 ($0,58/10^5$ hab), 2003 (0,45), 2004 (0,95), 2005 (1,65) et en 2006 (1,26)]. Cette forte incidence en Tunisie pourrait être expliquée par l'aridification progressive d'Est en Ouest du climat nord-africain [206].

Selon les rapports annuels du Ministère de la santé du Maroc [207], ce dernier a enregistré en 2003 (115 cas), 2004 (154), 2005 (114), 2006 (170), 2008 (163), 2009 (134), 2010 (139), et 2011(107). Ces résultats montrent qu'à l'exception de deux années (2003 et 2005) le nombre de cas déclaré au Maroc était supérieur à celui déclaré en Algérie. Nous signalons que le nombre d'habitants est supérieur en Algérie qu'au Maroc. Cela veut dire que les taux d'incidence pourraient être supérieurs au Maroc.

Pour la LC, le nombre de cas enregistré est passé de 8049 en 2002 à 16585 en 2011. En 2005, l'Algérie a enregistré la plus forte incidence avec 25511 cas, ce qui correspond à un taux d'incidence de $78,52/10^5$ habitants. Nous signalons que devant l'ampleur et l'extension géographique de la maladie enregistrée en 2005, un programme national de lutte ciblant les différents maillons du cycle épidémiologique de la leishmaniose a été lancé en 2006 (Projet de plan d'action national de lutte contre les leishmanioses) [3]. Cela pourrait expliquer la diminution de l'incidence à 14714 cas en 2006, et de moitié (6755 cas) en 2007. A partir de 2008, l'incidence des LC a commencé à augmenter pour atteindre 12097 cas en 2009, et 21049 cas en 2010. Cette augmentation du nombre de cas et évidemment du taux d'incidence, suggère une évaluation objective du programme de lutte instauré depuis mars 2006. Contrairement à la LV, l'évolution de l'incidence de la LC, au fil du temps, était largement significative. En effet, la valeur de Chi² de tendance calculé est égale à 41,69 (elle est largement supérieure à X² théorique qui égale à 16,92), avec une valeur $p < 0,0001$.

Quant aux autres pays du Maghreb, le Maroc a enregistré une nette recrudescence des LC ; le nombre total des cas est passé de 1440 en 2002 à 8707 en 2010 [207]. Contrairement à la LV, l'Algérie semble être plus touchée que le Maroc par la LC. Cela pourrait être expliqué par le fait que la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) sévit à l'état endémo épidémique sur toute la partie nord Saharienne correspondant à l'étage bioclimatique aride et semi-aride. D'après BACHI [208], dans ces étages bioclimatiques pullule *Phlébotomus papatasi* (vecteur de la LCZ) et s'adapte bien au climat.

5.4.1.2 Répartition dans l'espace

5.4.1.2.1 Leishmaniose viscérale

Selon certains auteurs dont BACHI [208], la LV s'étend sur toute la partie Nord du pays au niveau des étages bioclimatiques humide et subhumide. Nos résultats montrent que les wilayas du nord algérien continuent à fournir le plus grand nombre de cas. Ainsi, la wilaya de Mila est depuis longtemps considérée comme foyer classique du kala-azar, avec 119 cas enregistrés en dix ans, suivie des wilayas de Sétif et Béjaïa avec, respectivement, 98 et 75 cas. Vient ensuite la wilaya de Bouira avec 58 cas, puis la wilaya de Tizi-Ouzou, région connue d'endémie de leishmanioses viscérales infantiles [2], [208] avec 47 cas, et enfin la wilaya de Bordj Bou Arreridj avec 41 cas.

Au total, les six (06) wilayas citées ci-dessus qui sont géographiquement voisines, constituent seuls 438 sur 1063 cas, soit 41,20 %, ce qui nous a permis de qualifier ces régions comme foyer de kala-azar algérien. Nos résultats s'accordent avec ceux de BELLAZOUG *et al.* [206]. En effet, les wilayas de l'Ouest sont moins touchées par la LV car elles correspondent à l'étage semi aride. Cependant, nous notons une extension de la LV vers l'Ouest du pays (21 cas déclarés à Oran ces dix dernières années), auparavant considéré comme indemne de leishmaniose viscérale humaine [209]. Il a été noté que, la distribution de *P. perniciosus* dans les pays du Maghreb était dépendante des températures minimales et maximales ; une augmentation de la température minimale moyenne et de la température maximale moyenne, serait susceptible d'entraîner une extension vers les régions semi arides et sahariennes de *P. perniciosus* et, vers les régions humides de *P. papatasi*. Partant de là, il va y avoir propagation de la leishmaniose viscérale vers les régions semi arides et sahariennes ainsi que de la leishmaniose cutanée zoonotique vers les régions sub-humides.

Nos résultats dévoilent une réalité inquiétante, dans la wilaya de Biskra, foyer de leishmaniose cutanée, où il a été diagnostiqué pendant ces dix dernières années 89 cas de LV. BELLAZOUG *et al.* [206] signalait déjà la présence de 21 cas dans cette région. Selon cet auteur, les cas de Biskra sont un mystère

épidémiologique ; ils surviennent, en effet, dans l'étage aride, en plein foyer de LC.

D'après les résultats de BELLAZOUG *et al.* [206] l'étage saharien est indemne de leishmaniose viscérale si l'on excepte les cas sporadiques survenant dans le Hoggar et le Tassili n'Ajjer où l'altitude modifie le climat. Nos résultats ne sont pas en parfaite concordance avec ceux cités ci-dessus, en effet, à l'exception de deux wilayas (Tindouf et El Bayadh) toutes les wilayas du Sud algérien ont déclaré, au moins, un cas de LV qu'on peut qualifier comme sporadiques. Cependant, un nombre de cas important a été diagnostiqué dans les wilayas de Tamanrasset et Illizi avec, respectivement, 28 et 16 cas. Nous signalons aussi que la wilaya de Illizi a fourni un taux d'incidence ($2,13/10^5$ habitants) le plus élevé au niveau national, cela nous permet de conclure qu'il ya persistance de l'extension de la LV en direction du Sud avec désormais le franchissement de la barrière naturelle représentée par le climat saharien.

Pour expliquer ces résultats, nous avons émis deux hypothèses intéressantes :

- Il ya modification de l'aire de dispersion de *Phlébotomus perniciosus*, vecteur de la LV, cela par une extension par adaptation vers les zones bioclimatiques aride (c'est l'exemple de Biskra) et saharienne (Tamanrasset et Illizi).
- Emergence d'espèces de phlébotome, naturellement vectrices de LV, qui s'adaptent bien aux étages bioclimatique aride et saharien.

5.4.1.2.2 Leishmaniose cutanée

Nous rappelons que la LC existe en Algérie sous deux entités nosoépidémiologiques distinctes : la leishmaniose cutanée zoonotique, due à *L. major* MON-25, et la leishmaniose cutanée sporadique du Nord, due à *L. infantum* MON-24 [208], [106].

Nos résultats montrent qu'en Algérie, la wilaya de Biskra demeure encore le foyer le plus actif avec une incidence de 33046 cas en dix ans, soit un nombre

annuel moyen de 3304,6 cas. Par ailleurs, d'autres foyers importants ont été enregistré tels que (nous avons choisi les quinze premiers foyers que nous avons classés par ordre décroissant selon le nombre de cas) : M'sila (31431 cas, soit $181,29/10^5$ hab), Batna (16821cas, soit $153,63/10^5$ hab), El-Oued (8320 cas, soit $144,36/10^5$ hab), Laghouat (7668 cas, soit $204,50/10^5$ hab), Bechar (6567 cas, soit $253,73/10^5$ hab), et Ghardaïa (6227 cas, soit $180,25/10^5$ hab), Djelfa (4966 cas, soit $53,76/10^5$ hab), Tébessa (4422 cas, soit $70,69/10^5$ hab), Ouargla (3425 cas, soit $67,11/10^5$ hab), Tiaret (3310 cas, soit $39,96/10^5$ hab), Naama (2947 cas, soit $193,19/10^5$ hab). El-Bayadh (2300 cas, soit $116,03/10^5$ hab), Bordj Bou Arreridj (1699 cas, soit $27,08/10^5$ hab), et Médéa (1675 cas, soit $18,68/10^5$ hab).

Comme nous le remarquons, ce sont beaucoup plus les wilayas nord Sahariennes et steppiques qui sont touchées par la LCZ. Cela était déjà signalé dans la littérature. En effet, le clou de Biskra s'observe dans les régions steppiques, arides et semi-arides, principalement au niveau de la frange nord du Sahara [109]. Néanmoins, nos résultats montrent que de nouveaux et importants foyers sont apparus dans le nord du pays à savoir : Médéa, Tiaret, Bordj Bou Arreridj, sans oublier le principal foyer qui est celui de Batna avec 16821 cas. Ce résultat conforte celui de BACHI [208], ZAIT *et al.* [107], ACHOUR BARCHICHE *et al.* [2] et IZRI *et al.* [106] qui estiment qu'il ya une extension géographique, vers le nord, de la LCZ avec apparition de nouveaux foyers épidémiques.

Cette propagation alarmante vers le nord du pays de la LCZ, pourrait être expliquée par plusieurs facteurs :

- ✓ Modification de l'environnement ou bien transformations écologiques : au nombre des transformations écologiques susceptibles d'influer sur l'incidence de la leishmaniose figure l'urbanisation. En effet, on observe une incidence accrue de la leishmaniose cutanée lorsque les banlieues s'étendent sur des terrains auparavant inhabités où la densité des rongeurs jouant le rôle d'hôtes réservoirs est élevée [1].
- ✓ Changements climatiques : ils contribuent de façon importante dans l'augmentation et l'extension des maladies à transmission vectorielle,

notamment des leishmanioses [210]. Selon l'OMS [1] La leishmaniose occupe un « espace climatique » caractéristique qui dépend fortement des changements qui se produisent dans les précipitations, la température atmosphérique et le degré d'humidité. Tout cela peut avoir de puissants effets sur l'écologie des vecteurs et des hôtes réservoirs en modifiant leur distribution et en influant sur leur survie et la taille de leurs populations. De plus, de petites variations de température peuvent avoir une profonde influence sur le cycle de développement des promastigotes chez le phlébotome et permettre éventuellement la transmission du parasite dans des régions où la maladie n'était pas jusqu'ici endémique.

5.4.2 Au niveau de la wilaya de Béjaia

5.4.2.1 Evolution dans le temps

Nos résultats montrent que, sur une période de dix ans (du 2003 au 2012), la wilaya de Béjaia a enregistré 76 cas de LV et 65 cas de LC, ce qui fait un total de 141 cas comme leishmaniose humaine. Signalons que durant la même période, la direction de la santé et de la population a déclaré 5103 cas de zoonose, en l'occurrence : la tuberculose (4772), la brucellose(15), l'hydatidose (63), la fièvre boutonneuse (81), le paludisme (06), la leptospirose (18), et la rage (07). Cela veut dire que sur l'ensemble des zoonoses, les leishmanioses humaines viennent en deuxième position (après la tuberculose), et en première position par rapport aux zoonoses parasitaires. Ceci est similaire à ce qui a été rapporté dans la littérature précisant qu'en Algérie, les leishmanioses humaines occupent la première place dans les maladies parasitaires et représentent 35 % des maladies à déclaration obligatoire. [2]

Les résultats obtenus montrent que l'évolution de la LV à Béjaia, pendant ces dix dernières années, a connue de fluctuations avec enregistrement de trois pics : le premier pic qui est le plus important (16 cas, soit $1,66/10^5$ hab.) a été enregistré en 2005. Nous rappelons que l'Algérie a connue, en cette même année, une flambée épidémique des leishmanioses humaines y compris la LV. Le

deuxième et le troisième pic ont été enregistrés en 2008, et en 2010 avec, respectivement, 09 cas, soit $0,89/10^5$ hab. et 09 autres cas, soit $0,88/10^5$ hab.

Le graphe de la Figure 5.8 nous donne l'impression que l'incidence de la LV diminue au fur et à mesure qu'on avance dans le temps. Sauf que, le test statistique que nous avons appliqué (Test de Chi-2 de tendance) montre que l'évolution de l'incidence de la LV, tout au long de ces dix dernières années, n'a pas connue de grande différence car, la valeur de Chi-2 calculé égale à 14,66 reste inférieure à Chi-2 théorique (16,92) avec une valeur $p = 0,10$ (non rejet de l'hypothèse nulle dont nous avons supposé que les incidences sont identiques).

Enfin, la DSP de la wilaya de Béjaia a enregistré ces deux dernières années (2011 et 2012) les plus basses incidences. Cela pourrait être lié aux mesures draconiennes (pulvérisation d'insecticides, capture des chiens errants) que les autorités locales ont déployés afin d'éradiquer cette zoonose.

Concernant la LC, du 2003 au 2012, la direction de la santé et de la population de la wilaya de Béjaia avait recensé 65 cas, soit un taux d'incidence de $0,63/10^5$ hab. avec deux pics d'enregistrement : le premier pic, qui est le plus important, a lieu en 2004 avec 12 cas soit un taux d'incidence de $1,26/10^5$ hab. le second pic a été enregistré en 2010 avec 08 cas, ce qui fait un taux d'incidence de $0,88/10^5$ hab. Nos résultats montrent aussi, que Béjaia fait parti des wilayas dont l'incidence des LC est la plus basse. Son taux d'incidence de 2002 à 2003 était de $0,78/10^5$ hab.

Les taux d'incidence annuelle pour 10^5 habitants représentés par le graphe de la figure 5.8 montrent qu'il ya une tendance relative vers une diminution des LC. Néanmoins, notre test statistique n'a pas mis en évidence une différence significative (la valeur de Chi-2 est estimée à 5,17. Une valeur qui est largement inférieure à celle de Chi-2 théorique qui est égale 16,92) avec une valeur $p > 0,9$. Cela voudrait dire que les fluctuations du nombre de cas observées durant notre période d'étude ne reflètent pas un grand changement de la situation de cette zoonose à Béjaia.

5.4.2.2 Répartition selon l'âge

Notre résultat sur la distribution des cas selon l'âge montre que sur un total de 141 cas (LV et LC), plus de trois tiers (112 cas) étaient des enfants âgés de moins de 05 ans. Ce résultat est légèrement supérieur à celui retrouvé par ZAIT *et al.* [107], lorsqu'ils ont rapporté que les enfants de moins de 5 ans étaient particulièrement affectés et représentaient 65 % du total des enfants atteints. Cela pourrait être expliqué par le fait que dans notre étude nous avons pris les cas des deux types de leishmanioses comme une seule entité. ACHOUR BARCHICHE *et al.* [2] ont noté que sur un total de 213 cas de LC, 128 soit 60,09% avaient un âge compris entre 0 et 4 ans. Donc, nos résultats montrent qu'à côté de la LV infantile, la forme la plus fréquente dans le pourtour du bassin méditerranéen et qui touche beaucoup plus les très jeunes enfants entre 1 et 4 ans [208], la LC du nord touche aussi les enfants. Ce résultat s'accorde avec celui de ZOUGAGHI, *et al.* [213] : au Maroc, près de la moitié des cas de LC avaient touché les enfants et les adultes jeunes. Cette prédominance de l'atteinte infantile serait en rapport avec l'immaturité des moyens de défense immunitaire. [24], [1].

5.4.2.3 Répartition selon le sexe

Concernant le sexe comme facteur de risque pour les leishmanioses humaines, notre étude ne permettait pas de mettre en évidence cette relation. En effet nous n'avons pas une population témoin pour conclure à une prédisposition du sexe masculin ou bien du sexe féminin. Nous signalons que des études focalisées sur ce sujet, ont rapportée qu'il n'y avait aucune différence concernant le sexe des patients atteints. [211], [212], [213].

5.4.2.4 Répartition saisonnière

Notre résultat montre que les leishmanioses humaines à Béjaia ont été observées au cours des douze mois de l'année avec une moyenne de $11,4 \pm 1,77$ par mois. Cependant, le mois de juillet s'est distingué par la plus haute incidence enregistrée, estimée à 23 cas (sur un total de 141 cas). Ce résultat est proche de celui retrouvé par ACHOUR BARCHICHE *et al.* [2] dont l'étude sur les LC au

niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou, dévoile un discret pic de recensement en mars–avril et juillet. Notre résultat est cependant loin de celui obtenu par ZAIT *et al.* [107] car ces auteurs ont estimé que c'est en automne (28,4 %) et en hiver (36,5 %) seulement que les plus forts taux de positivité ont été enregistrés.

5.4.2.5 Distribution géographique des cas

La répartition géographique de 141 cas des leishmanioses humaines à Béjaia, durant ces dix dernières années est représentée dans la Figure 5.12 (Cf. IV, étude I). Nos résultats montrent que sur un total de 52 communes, près de la moitié (23 communes) ont fait l'objet de déclaration des leishmanioses humaines. Aussi nos résultats montrent que, dans la wilaya de Béjaia, nous pouvons distinguer au moins 04 communes (Akbou, Kherrata, Amizour et Sidi-aiche) qui pourraient être considérées comme foyers classiques de leishmanioses humaines. Déjà en 1985, BELAZZOUG et ses collaborateurs [206] ont rapporté dans leur étude l'importance de la région d'Akbou comme étant un foyer du Kala-azar algérien.

En effet, ces incidences élevées au niveau des quatre communes citées ci-dessus pourraient être dues à l'existence d'établissements publics hospitaliers (EPH) ; point de convergence de plusieurs localités dépourvues de services sanitaires, dont l'adresse exact des cas déclarés pourrait ne pas être prise soigneusement (village, commune), sachant que les cas de leishmaniose reflètent, en réalité, les localités où le diagnostic a lieu. Néanmoins, pour la commune d'Aokas dont il existe un EPH, on n'a déclaré aucun cas de leishmaniose.

Enfin, nous rappelons que les communes qui ont enregistré les taux d'incidence les plus élevés, sont des zones à caractère rural (communication personnelle avec le responsable du service des maladies infectieuses au niveau de la DSP de la wilaya de Béjaia). Cela pourrait être considéré comme un facteur de risque de leishmaniose humaine. Il a été déjà rapporté dans la littérature que la densité des cas leishmaniens est plus élevée en zone rurale qu'en zone suburbaine ou urbaine. En effet, le biotope en zone rurale est beaucoup plus favorable au développement des phlébotomes [214].

5.5 Conclusion

Les leishmanioses humaines (LV et LC) sont des maladies parasitaires fréquentes en Algérie. Elles représentent un problème majeur en santé publique.

Une étude épidémiologique rétrospective a montré que de 2001 à 2011, l'incidence nationale de la LV est passée de 0,34 à 0,25 cas par 100 000 habitants ; une diminution qui n'est pas significative. Quant à la LC, l'incidence nationale est passée de 25,77 à 45,40 cas par 100 000 habitants. Selon ACHOUR-BARCHICHE *et al.* [2] l'Algérie est actuellement parmi les pays les plus touchés dans le bassin méditerranéen.

Concernant la wilaya de Béjaïa, notre étude rétrospective a montré qu'au cours de cette dernière décennie les leishmanioses (LV et LC) constituaient la première zoonose parasitaire avec une incidence de 141 cas. Quant au taux d'incidence de la LV, un classement national des wilayas a montré que Béjaïa vient en 6^{ème} position, ce qui nous permet de conclure que cette wilaya fait partie du foyer de LV du Nord.

Les enfants âgés de moins de 5 ans sont les plus touchés par les deux types de leishmaniose. Ils représentent à eux seuls plus de 79% des cas. Cependant du fait de la vétusté du cadre de vie en zone rurale, on y a enregistré les taux d'incidence les plus élevés.

L'extension des aires de distribution du kala-azar infantile, vers le centre et le sud, constitue l'événement le plus marquant de l'épidémiologie des leishmanioses en Algérie, au cours de ces dernières années. Nous rapportons aussi une extension géographique, vers le nord, de la LCZ avec apparition de nouveaux foyers épidémiques. D'après HARRAT *et al.* [104], l'extension de la maladie à plusieurs départements avoisinant les foyers classiques d'infection nécessitent une surveillance accrue de l'évolution de ces zoonoses et l'application de mesures de lutte adéquates.

CHAPITRE 6

ETUDE II : ETUDE SEROLOGIQUE DE LA LEISHMANIOSE CANINE

6.1 Introduction

Dans le bassin méditerranéen ainsi que dans une grande partie du monde (voir partie bibliographique) les leishmanioses humaines viscérale et cutanée sont principalement causées par *Leishmania infantum*. Cette dernière est aussi responsable de la leishmaniose canine, un syndrome cutané-viscéral chronique.

En Algérie et dans l'ensemble du bassin méditerranéen la leishmaniose canine est une maladie endémique dont le seul réservoir domestique reconnu est le chien.

Des études épidémiologiques effectuées au Brésil ont montré qu'il y a une association fortement significative entre les leishmanioses humaines et la leishmaniose canine : l'incidence des cas humains augmente dans les zones où les taux de prévalence de la leishmaniose canine sont élevés.

La leishmaniose viscérale humaine est une maladie grave ré-émergente dans tout le bassin méditerranéen d'où l'importance d'estimer sa prévalence chez le chien dans le but d'évaluer le risque pour l'homme et pour la santé animale.

Les objectifs de cette étude sont de :

1. Estimer la prévalence de la leishmaniose canine à Béjaia ;
2. Décrire les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de la leishmaniose chez le chien

6.2 Matériel & Méthodes

6.2.1 Définition des indicateurs épidémiologiques

Les indicateurs épidémiologiques doivent permettre de définir précisément la quantification du phénomène mesuré et correspondre exactement aux objectifs du projet.

6.2.1.1 Zone d'étude

Comme nous l'avons cité précédemment, l'étude porte sur la wilaya de Béjaïa. Cette dernière occupe une superficie de 3223,5 km², elle est limitée par :

- ✓ La mer Méditerranée au Nord
- ✓ La Wilaya de Jijel à l'Est
- ✓ Les Wilaya de Bordj Bou Arreridj et Sétif au Sud
- ✓ La Wilaya de Tizi Ouzou à l'Ouest

A. Reliefs :

En partie Situé dans l'atlas tellien le territoire de la wilaya de Bejaia se présente comme une masse montagneuse compacte et bosselée, traversée par le couloir formé par la vallée de la Soummam.

On peut distinguer trois ensembles de reliefs:

- ✓ **L'ensemble de montagnes:** occupe 75% (3/4) de la superficie totale de la Wilaya. Elle est constituée des chaînes des Bibans, Babors et Djurdjura ;
- ✓ **L'ensemble de piémonts:** d'une morphologie ondulée constitué d'une succession de collines, il apparaît moins accidenté que la zone de montagne. Il représente la zone intermédiaire entre la plaine et la montagne ;
- ✓ **L'ensemble de plaines:** composé des plaines de la vallée de la Soummam qui apparaît comme une bande sinueuse de 80 Kms de long sur

une largeur maximale de 04 Kms ainsi que d'une plaine côtière qui sépare la mer et la chaîne des Babors. Cette dernière se présente comme une bande étroite qui s'étend de l'embouchure de l'Oued Soummam à celle de l'Oued Agrioun.

B. Climat

Appartenant au domaine méditerranéen, le climat de la wilaya de Bejaia varie d'une zone à une autre :

- La zone littorale jouit d'un climat pluvieux et doux en hivers, sec et chaud en été.
- Le climat des zones de montagnes est caractérisé par un été sec et chaud et un hiver pluvieux et froid, la température atteint parfois 0 c° voire moins, ce qui s'accompagne souvent par la chute de neige.

6.2.1.2 Période d'étude

Notre enquête sérologique transversale s'est déroulée sur une période de 3 mois (de mi-avril jusqu'à la fin juillet 2013).

6.2.1.3 Définition du « cas »

La définition préalable du cas est indispensable dans toute étude épidémiologique descriptive, car elle vise à fournir une information qui correspond effectivement à ce que l'on cherche et à garantir la standardisation des conditions d'observation. Dans notre enquête, on entend par cas (chien leishmanien), lorsque l'animal fournit une réponse positive au test de laboratoire, qui est l'Immunofluorescence Indirecte (IFI) à un seuil de positivité de 1/80.

6.2.1.4 Unité épidémiologique

Dans notre étude, nous avons opté pour l'unité « animal » comme unité démographique et non pas un groupe d'animaux. Il s'agit de chiens généralement non regroupés et c'est l'animal qui constitue l'unité de base.

6.2.1.5 Population d'étude

La population mère a été constituée de tous les chiens de la région d'étude. Néanmoins, un critère d'exclusion (âge) a été introduit : les chiens âgés de moins de six mois ont été exclus, cela est en relation avec la durée d'incubation de la maladie qui est assez longue, de l'ordre de plusieurs mois à plusieurs années. Un délai minimal de six mois est indispensable pour l'apparition des anticorps sériques [4].

Cependant, une autre population cible a été constituée, il s'agit des chiens capturés par la fourrière canine de la wilaya de Béjaia pendant la même période d'étude.

6.2.2 Echantillonnage

La population canine n'étant pas recensée, il a été décidé d'utiliser une méthode d'échantillonnage ne nécessitant pas de recensement exhaustif des individus. Un sondage stratifié puis à deux degrés ont été retenus :

6.2.2.1 Sondage stratifié

Selon TOMA *et al.* [68]. le principe de la stratification est de définir des « sous-ensembles » dans lesquels les individus sont plus homogènes entre eux que dans la population.

Dans notre enquête nous avons supposé qu'il y a une hétérogénéité dans la répartition de la leishmaniose canine, d'où une variabilité de prévalence dans la région d'étude. Ces différences de localisation semblent être en rapport avec la répartition des phlébotomes vecteurs [65]. En effet, la répartition et la densité du vecteur (phlébotome) est en relation étroite avec certains biotopes comme la végétation, la température, l'humidité, le vent, l'altitude et la nourriture...(Etc.). L'avantage de la stratification est de pouvoir mettre en évidence les disparités écologiques de chaque milieu et leur effet sur la distribution spatiale de la maladie [215]. Pour cela, nous avons divisé la région d'étude en deux strates écologiques (Figure 6.1) :

➤ **Strate littorale** : bande de plus de 150 km de long constituée de plaines et une partie des piémonts. Elle est principalement composée de terre sablonneuse du fait de la pression maritime proche. Quant à la végétation, elle est composée d'agrumes, de chêne-liège (partie Ouest), de pin d'Alep et de champs. Cette zone littorale, située dans l'étage bioclimatique humide à hivers doux, subit les effets de brise de mer et reçoit les vents du Nord et du Nord Est. Nous rappelons que les phlébotomes ne vivent pas sur la côte, où la salinité, l'excès d'humidité et surtout, les vents souvent forts leur sont défavorables.

➤ **Strate sub-littorale** : elle constitue la partie Sud de Béjaïa et regroupe l'ensemble des montagnes et une grande partie des piémonts. Cette zone est surplombée par le Massif du Bouselam et les Babors et en plein milieu de la région se trouve la vallée de la Soummam, qui sépare les montagnes. En effet, cette zone subit beaucoup plus l'effet de continentalité qui est dû à la chaîne littorale discontinue (chaîne des Babores), qui prive la région des brises de mer et des vents du Nord et du Nord Est. Ainsi, cette zone appartient à l'étage bioclimatique semi-aride à hivers doux. La végétation qui y prédomine est l'olivier.

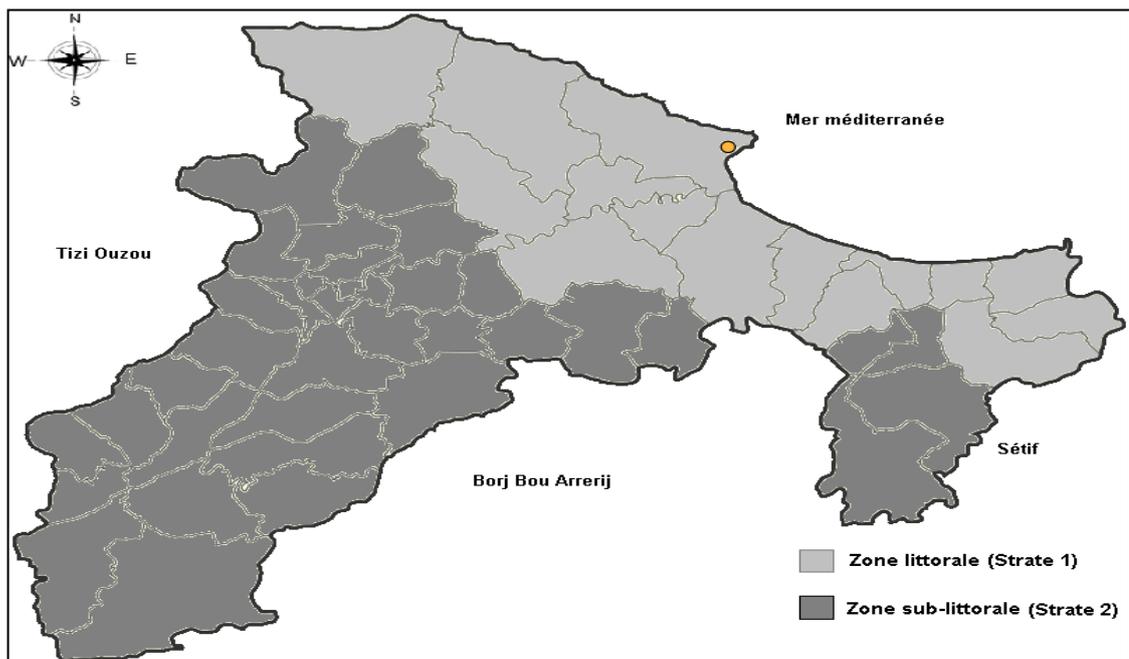


Figure 6.1 : les deux strates définies dans la région d'étude.

6.2.2.2 Sondage à deux degrés

6.2.2.2.1 Premier degré : Echantillonnage aléatoire simple

Nous avons considéré comme unité d'échantillonnage les communes. Une base de sondage regroupant toutes les communes (52 communes) de la zone d'étude a été constituée à partir d'un document administratif (Annuaire Statistique de la wilaya de Béjaia 2011) qui a été mis à notre disposition par la Direction de la Programmation et Suivi Budgétaire de la wilaya de Béjaia.

Pour estimer le nombre de communes à prendre dans chacune des deux strates prédéfinis (Appendice F), nous avons choisi un taux de sondage de 10% ce qui fait que le nombre de communes est égal à 2 dans la zone littorale, et 4 dans la zone sub-littorale. La sélection des communes ayant recours « au hasard » a été réalisée en utilisant une table de nombre au hasard (Appendice G). La situation géographique des communes ainsi échantillonnées sont présentées dans la figure 6.2.

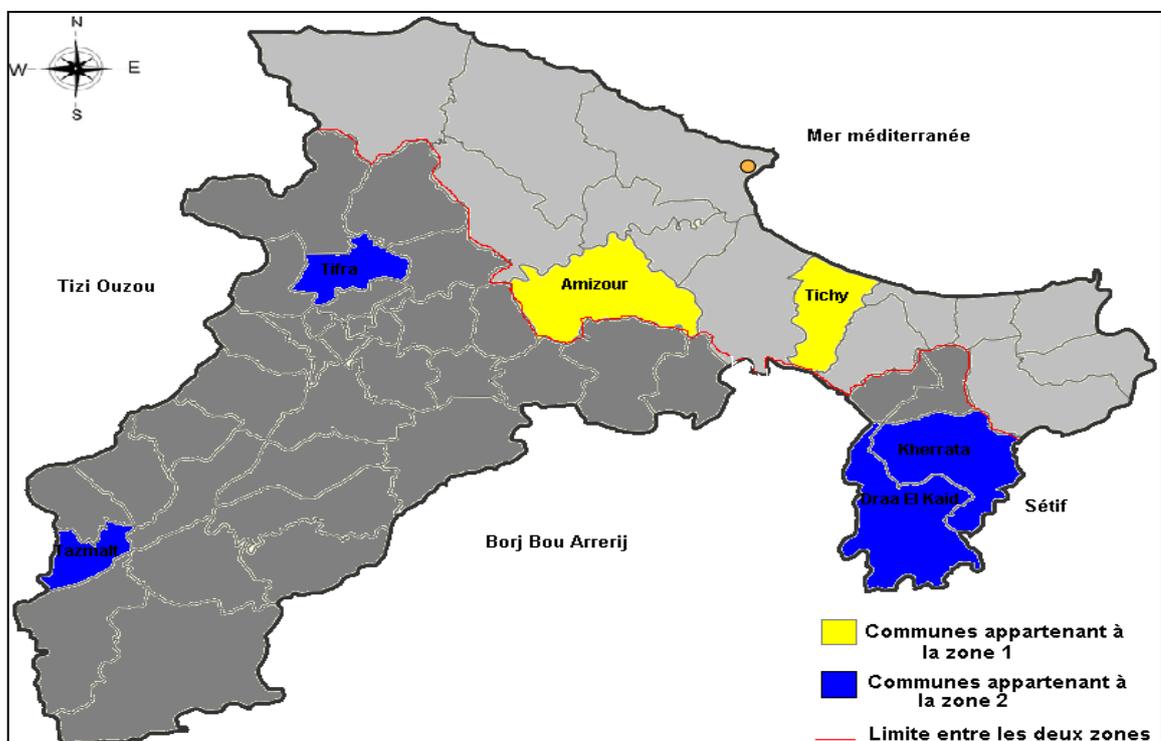


Figure 6.2 : Communes échantillonnées dans chacune des deux zones.

6.2.2.2.2 Deuxième degré : Echantillonnage aléatoire en grappe

Dans ce second sondage, nous avons considéré comme unité d'échantillonnage les villages, ce qui fait que pour notre étude un village constitue une grappe d'animaux (chiens). Pour cela nous avons constitué une base de sondage regroupant tous les villages de chacune des 6 communes sélectionnées dans le premier degré (Appendice H).

Nous avons opté pour un taux de sondage de 10% pour estimer le nombre de villages à prendre dans chaque commune. La sélection aléatoire des villages a été réalisée à l'aide d'une table de nombre au hasard. De cette façon la liste finale des grappes a été constituée (voir l'appendice H, en gras). Ensuite nous avons examiné minutieusement l'ensemble des chiens autochtones dans chaque grappe sélectionnée, ce qui fait un total de 408 chiens prélevés (408/511 chiens dont 103 ont été effectués à la fourrière canine). La population des villages concernés a été informée, par voie d'affichage, quelques jours avant la séance de prélèvement qui a été effectuée sous la tutelle de l'inspection vétérinaire de la wilaya de Béjaïa, avec l'autorisation des chefs de communes concernées. En effet, notre campagne de prélèvement chez les chiens s'est coïncidée avec la campagne de vaccination anti-claveleuse chez les petits ruminants ce qui nous a facilité davantage notre mission.

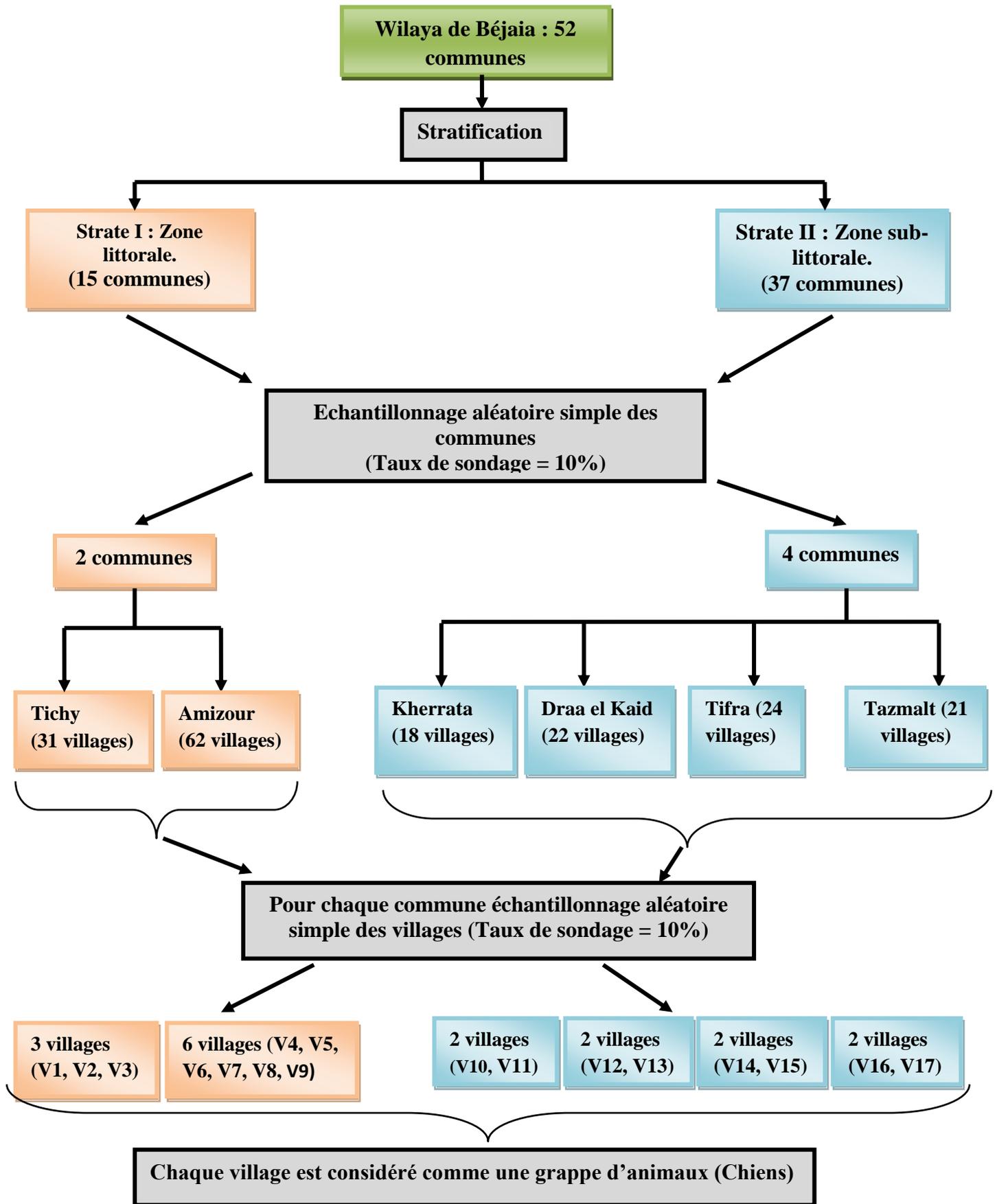


Figure 6.3 : Schéma récapitulatif d'échantillonnage.

6.2.3 La mesure :

6.2.3.1 Performances du teste utilisé

La technique sérologique utilisée est l'immunofluorescence indirecte (IFI), c'est la méthode quantitative de référence agréée par l'Office International des Épizooties [166]. Ce test est utile dans les études épidémiologiques, en pratique clinique, ainsi que dans le suivi du traitement [145].

C'est une méthode réputée pour être **sensible** et **spécifique**. La sensibilité varie entre 92 et 99 % [146], [168]. La spécificité est de 98 % [143]. De cette façon l'IFI est considérée comme le «gold standard» pour la surveillance active et le diagnostic de la leishmaniose canine [216], [143].

6.2.3.2 Standardisation du test utilisé

Afin de palier à la variabilité des résultats obtenus à l'aide d'un même teste sérologique, qui est dans ce cas l'IFI, et dans le but d'obtenir la meilleure répétabilité et reproductibilité, tous les échantillons de sérum ont été analysés selon le même protocole opératoire décrit par Lanotte (1975) et suivi par l'IPA. Cependant, la lecture du test de dépistage est toujours effectuée en présence d'une personne chevronnée, qui est le responsable de l'unité « Sérologie ».

6.2.4 Identification de l'animal et examen clinique

L'identification a porté sur :

- La race de l'animal ;
- Le sexe ;
- L'âge ;
- L'origine géographique ;
- L'activité.

De plus, un examen clinique a été systématiquement entrepris afin de signaler tout symptôme évocateur de la leishmaniose canine à savoir,

l'amaigrissement, les lésions cutanées, les adénopathies, chute de poils... (Appendice I & H). Les résultats de cet examen étaient systématiquement communiqués aux propriétaires qui ont eu l'amabilité de nous laisser leurs coordonnées à savoir leurs noms et prénoms ainsi que leurs adresses et numéros de téléphones.

6.2.5 Prélèvement

6.2.5.1 Matériel

- Muselière ;
- Alcool chirurgical 70° ;
- Cotton hydrophile ;
- Garrot ;
- Tubes sous vide type Vacutainer® ;
- Aiguilles 0,8 x 25 mm ;
- Adaptateur ;
- Glacière ;
- Fiche de renseignement.

6.2.5.2 Site et technique de prélèvement

Le plus souvent, le site de prélèvement a peu d'importance pour les prélèvements sanguins et la plupart des analyses hématologiques ou biochimiques de routine. Il s'agit habituellement d'une prise de sang veineuse. Chez les carnivores domestiques, il est classique de réaliser le prélèvement sur une veine périphérique de calibre moyen (veine radiale ou saphène) après rasage et désinfection du site de ponction [217].

Après avoir placé la muselière à l'animal, nous avons procédé aux prélèvements sanguins. Ces derniers ont été réalisés selon la technique décrite par MEDAILLE et ses collaborateurs [217] :

- Le site de ponction est préalablement rasé et désinfecté (dans notre enquête, nous n'avons pas procédé au rasage systématique de l'endroit

de prélèvement, dans la plupart des cas la désinfection avec de l'alcool chirurgical à 70° était suffisante) ;

- Après une pose de garrot modérément serré, la ponction veineuse est franche et l'écoulement du sang facile. Dans ce but, le diamètre de l'aiguille utilisée doit être suffisant (aiguille courte, 25 mm, 8/10) ;



Figure 6.4: Désinfection du site de ponction (Phot. personnelle).



Figure 6.5: Prélèvement sanguin au niveau de la veine radiale (Phot. personnelle).

L'identification de l'échantillon est notée avec précision :

- Numéro de prélèvement.
- Date de prélèvement.

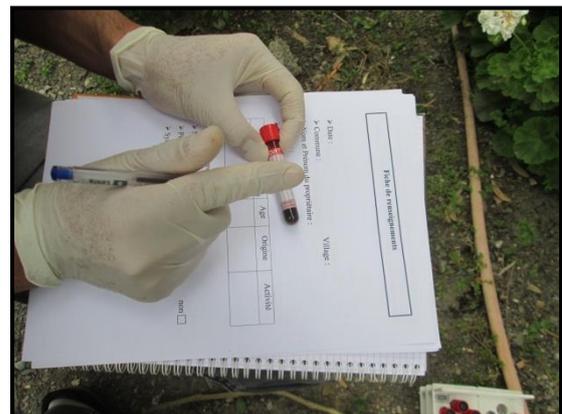


Figure 6.6: Identification de l'échantillon et remplissage de la fiche de renseignement (Phot. personnelle).

6.2.5.3 Conservation et acheminement

Les prélèvements sanguins ont été déposés dans une glacière, où la température interne est maintenue à + 4 °C, gardés au réfrigérateur et emmenés le lendemain matin au CHU Khellil Amrane (à Béjaia) pour centrifugation.

Une fois centrifugé à une vitesse de 2500 tours/mn pendant 10 mn (Fig. 6.7), les sérums ont été prélevés par une micropipette avec des embouts chargeables (Fig. 6.8) et mis dans des tubes Eppendorfs référencés (Fig. 6.9). Ces derniers sont stockés au congélateur, pour être transportés ultérieurement à l'IPA.



Figure 6.7: Centrifugation (Phot. personnelle).



Figure 6.8: Récolte du sérum (Phot. personnelle).

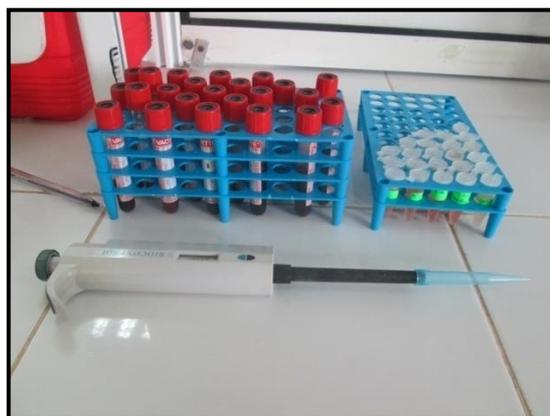


Figure 6.9: Sérums dans des tubes Eppendorfs référencés (à droite) (Phot. personnelle).

6.2.6 Au laboratoire

Nous rappelons que l'Institut Pasteur d'Algérie est composé de plusieurs services et laboratoires de recherche et de diagnostic. Le laboratoire d'Eco-Epidémiologie Parasitaire et Génétique des Populations, situé à Dély-Ibrahim, Alger, fait parti de ces services, il est qualifié de Centre National de Référence des *Leishmania* (leishmanioses). Parmi les activités assurées par ce laboratoire, on peut citer :

- ✓ Diagnostic sérologique des leishmanioses humaines et canines ;
- ✓ Cultures de leishmanies ;
- ✓ Diagnostic moléculaire des leishmanioses (PCR) ;
- ✓ Cryo-conservation des souches ;
- ✓ Typage isoenzymatique des souches de *Leishmania* ;
- ✓ Enquêtes entomologiques.

Nos échantillons (sérum) ont été analysés au niveau du laboratoire d'Eco-Epidémiologie Parasitaire et Génétique des Populations.

6.2.6.1 Matériel

- Lames sensibilisées à l'antigène
- Etuve à 37°C
- Microscope à fluorescence
- Chambre humide
- Tubes à canne en verre
- Portoirs
- Agitateur
- Plaque chauffante
- Micropipette
- Embouts
- Gants d'examen
- Sérum témoin négatif
- Sérum témoin positif
- Conjugué (Anti-Dog IgG)
- PBS tampon
- Bleu d'Evans dilué à 1/10000
- Glycérine tampon
- Acétone

6.2.6.2 Réalisation de la technique IFI

Les sérums sont décongelés en étant placés dans un réfrigérateur (+ 4°C) la veille de la réalisation de l'étude sérologique. Les sérums ainsi décongelés, sont traités par la technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) selon le mode opératoire décrit par Lanotte 1975 :

- Les lames contenant les antigènes figurés sont préalablement mises au réfrigérateur, puis à l'étuve pendant 30 min à 37°C.
- Une fixation à l'acétone à froid est ensuite réalisée pendant dix minutes (Fig. 6.11) puis séchés à l'étuve pendant 30 min (Fig. 6.12).



Figure 6.10 : Lames sensibilisées à l'antigène et séchées (Phot. personnelle).



Figure 6.11 : Fixation à l'acétone (Phot. personnelle).

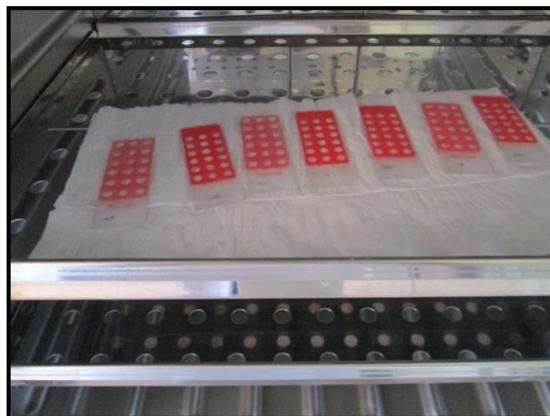


Figure 6.12 : Séchage des lames à l'étuve (Phot. personnelle).

- En deuxième étape, on procède à la dilution des sérums (Fig. 6.13) : deux témoins sont utilisés, l'un positif et l'autre négatif dilués au 1/20, ceux des chiens sont dilués au 1/20, 1/40, 1/80, 1/320 et 1/640.



Figure 6.13 : Dilution des sérums (Phot. personnelle).

- 10 μ l de chaque dilution est déposée sur un spot. Les deux premiers spots sont laissés pour les sérums témoins (le premier spot pour le sérum négatif et le deuxième pour le sérum positif).
- Les lames sont remises dans une chambre humide à l'étuve à 37°C pendant 30 min (Fig. 6.15)

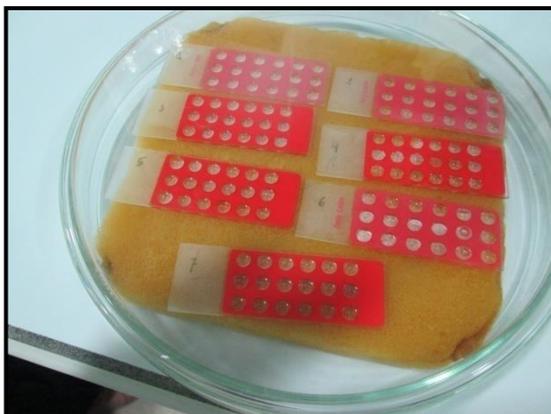


Figure 6.14 : Lames dont les spots sont recouverts de 10 μ l de chaque dilution (Phot. personnelle).

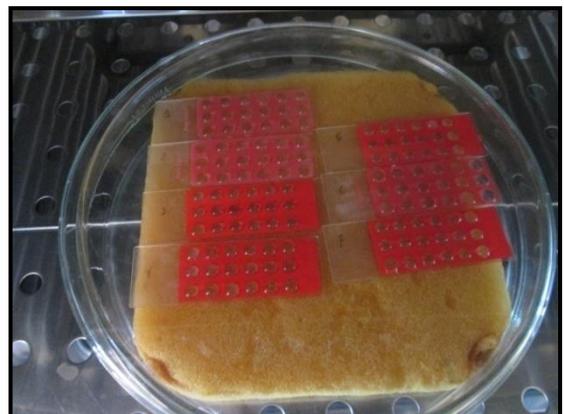


Figure 6.15 : Incubation des lames dans l'étuve (Phot. personnelle).

- Ces dernières sont ensuite lavées avec du tampon PBS pendant 5 min (Fig. 6.16), puis séchées à l'étuve.
- Dans chaque spot on rajoute une goutte de conjugué (Ig G), dilué au $1/30^{\text{ème}}$, on les laisse pendant 30 min à l'étuve dans une chambre humide.
- On lave les lames au PBS pendant 5 min, ensuite on les colore avec le bleu d'EVANS (Fig. 6.17), puis on les remet à l'étuve pendant 20 min.
- Les lames sont lavées au PBS et séchées à l'étuve.

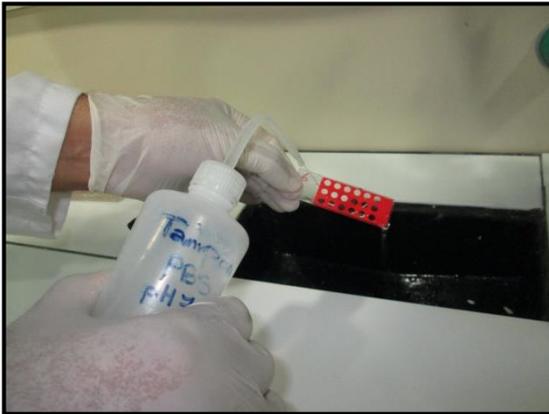


Figure 6.16 : Lavages des lames au PBS. (Phot. personnelle)

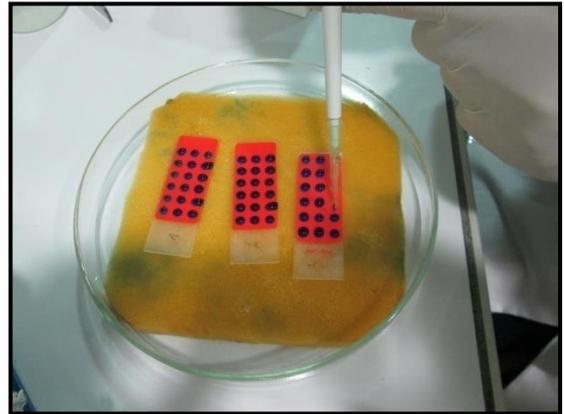


Figure 6.17 : Coloration des lames par le bleu d'EVANS. (Phot. personnelle)

- On ajoute quelques gouttes de glycérine aux lames, et on les couvre par une lamelle, puis on observe au microscope à UV, grossissement X 40.

6.2.6.3 Lecture et interprétation des résultats

La lecture au microscope à UV doit se faire dans une chambre obscure. Les parasites incubés avec des sérums positifs apparaissent colorés en vert (présence de fluorescence), ceux négatifs sont colorés en rouge (absence de fluorescence). L'interprétation se fait comme suit :

1. Absence de fluorescence = NEGATIF
2. Présence de fluorescence = deux cas de figure (selon le seuil de positivité) :
 - a) Présence de fluorescence à des dilutions élevés (1/20, 1/40) = NEGATIF ;
 - b) Présence de fluorescence à des dilutions basses (1/80 et moins) = POSITIF.

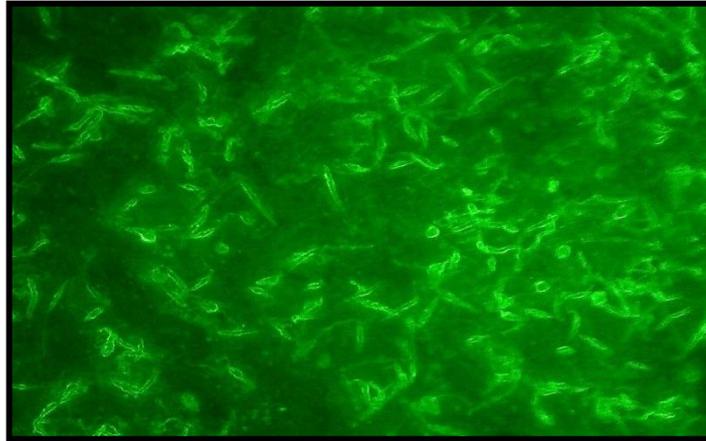


Figure 6.18 : Présence de fluorescence en microscope à fluorescence **G X40** (Phot. personnelle).

6.3 Résultats

6.3.1 Epidémiologie

6.3.1.1 Répartition selon l'âge

Les tranches d'âge proposées étaient : 6-12 mois, 1-4 ans, 4-8 ans puis >8 ans. Notons aussi que les chiens de la fourrière canine (N= 103) n'ont pas été pris en compte dans cette analyse. Car il ya eu manque de données concernant la modalité âge de cette catégorie de chiens.

Tableau 6.1: Nombre de chiens positifs et négatifs, et les pourcentages correspondants en fonction des classes d'âges.

	Positif (%)	Négatif (%)	Total (%)
Chiots 6 à 12 mois	4 (3,64)	106 (96,36)	110 (100)
Jeunes adultes] 1 ; 4]	18 (7,96)	208 (92,04)	226 (100)
Adultes] 4 ; 8]	13 (23,64)	42 (76,36)	55 (100)
Chiens âgés >8 ans	5 (29,41)	12 (70,59)	17 (100)
Total	40	368	408

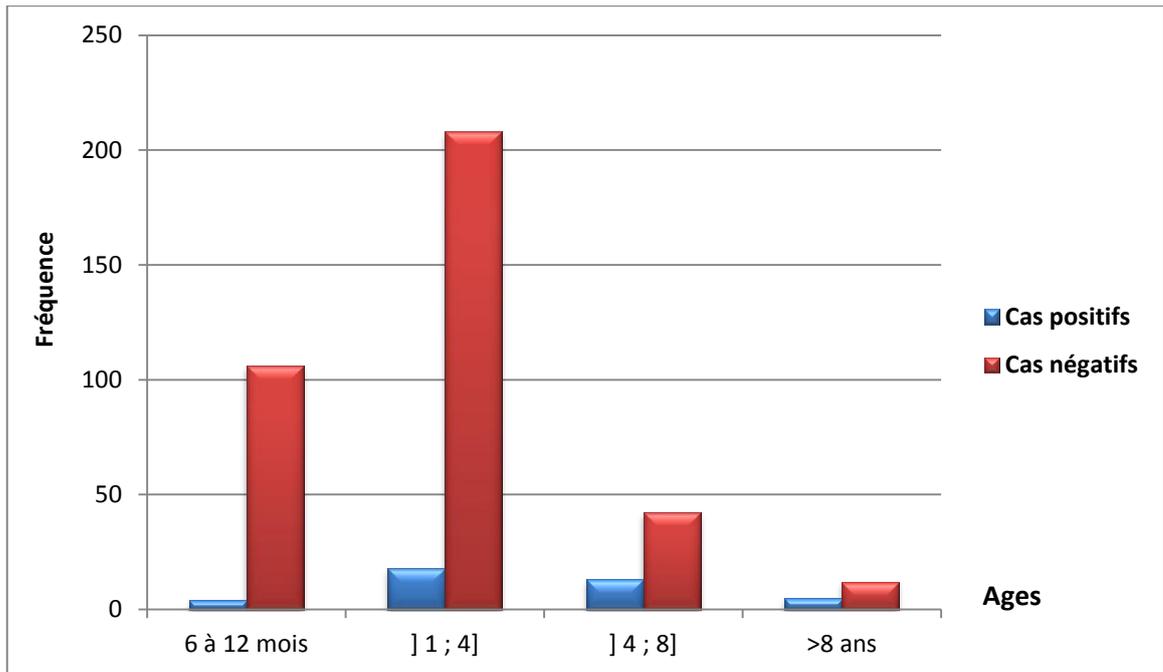


Figure 6.19 : Nombre de cas positifs et négatifs en fonction de l'âge.

➤ Test statistique : test de Chi-2 d'homogénéité

Hypothèse :

H_0 : la séropositivité est identique quelle que soit l'âge

H_1 : la séropositivité est différente selon l'âge

Synthèse : Effectifs Théoriques (Age x Séropositivité.sta)				
Effectifs en surbrillance > 10				
Chi ² de Pearson : 23,3211, dl=2, p=,000009				
Séropositivité	Age >8 ans	Age [α-4]	Age]4-8]	Totaux Ligne
positif	1,6666	32,941	5,3921	40,0000
négatif	15,3333	303,058	49,6078	368,0000
Ts Grpes	17,0000	336,000	55,0000	408,0000

α : 6 mois

Ici p est inférieur à 0,05 donc rejet de H_0 . On en déduit qu'avec une erreur de première espèce de 5%, la séropositivité diffère selon l'âge.

6.3.1.2 Répartition selon le sexe

D'après les résultats synthétisés dans le tableau 6.2. il semblerait que les femelles sont légèrement plus touchées (12,82%) que les mâles (10,14%).

Tableau 6.2 : Répartition du nombre de chiens et les pourcentages associés en fonction du sexe.

	Cas positifs (%)	Cas négatifs (%)	Total
Mâles	36 (10,14)	319 (89,86)	355
Femelles	20 (12,82)	136 (87,18)	156
Total	56 (10,96)	455 (89,04)	511

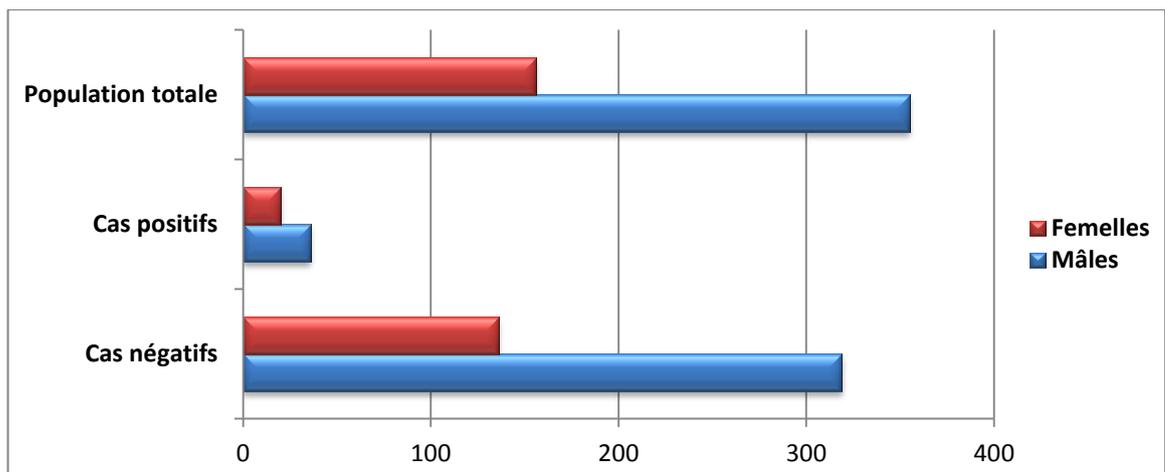


Figure 6.20 : Nombre de cas en fonction du sexe.

➤ Test statistique : test de Chi-2 d'homogénéité

Hypothèse :

H₀ : la séropositivité est identique quelle que soit le sexe

H₁ : la séropositivité est différente selon le sexe

Synthèse : Effectifs Théoriques (Sexe x Séropositivité) (sta)			
Effectifs en surbrillance > 10			
Chi ² de Pearson : ,797510, dl=1, p=,371841			
Séropositivité	Sexe mâle	Sexe femelle	Totaux Ligne
Positif	38,904	17,095	56,000
Négatif	316,095	138,904	455,000
Ts Grpes	355,000	156,000	511,000

$P = 0,37$, il est supérieur à 0,05, donc non rejet de H_0 . Ce qui voudrait dire qu'avec une erreur de 5%, la sensibilité à la maladie est identique quelle que soit le sexe.

6.3.1.3 Répartition selon la race et l'activité

Tableau 6.3 : Nombre de cas en fonction de la race.

Race	Cas positif	Cas Négatif	Total
Commune (Croisé)	31	287	318
Berger allemand	10	57	67
Berger belge	02	10	12
Beagle	00	10	10
Rottweiler	02	12	14
Epagneul breton	00	11	11
Springer anglais	00	06	06
Griffon	03	07	10
Beauceron	00	08	08
Dobermann	00	06	06
Boxer	02	06	08
Labrador	01	02	03
Braque	00	04	04
Autres espèces	05	29	34
Total	56	455	511

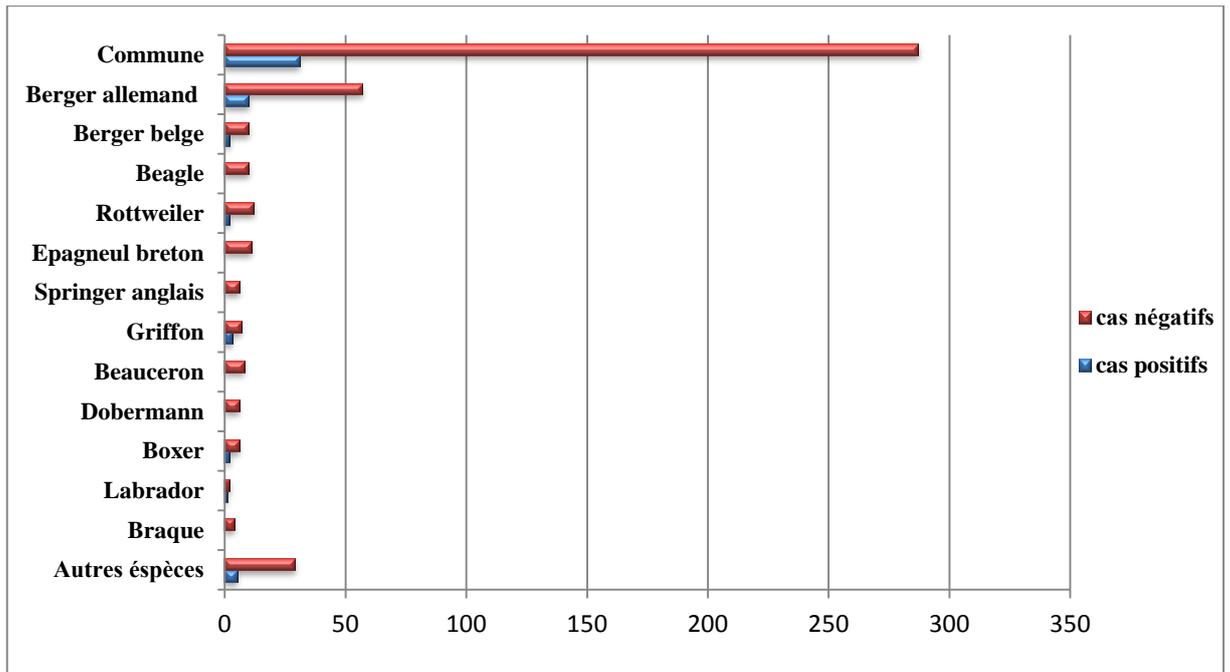


Figure 6.21 : Nombre de cas en fonction de race.

➤ Test statistique : test de Chi-2 d'homogénéité (Chi-2 de Pearson)

Hypothèse :

H_0 : la séropositivité est identique quelle que soit la race du chien

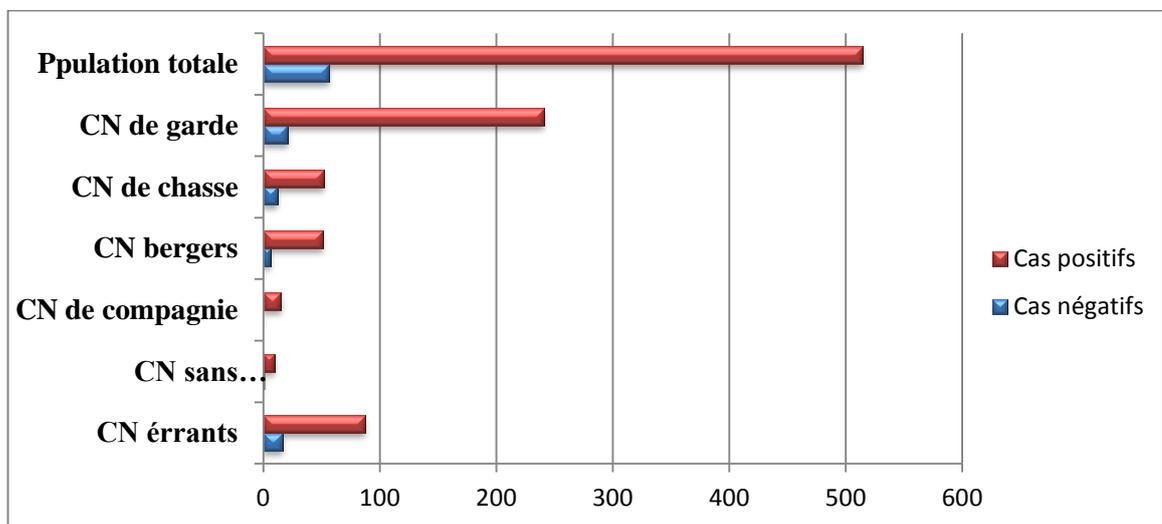
H_1 : la séropositivité est différente selon la race

Synthèse : Effectifs Théoriques (Race x Séropositivité.sta)					
Effectifs en surbrillance > 10					
Chi ² de Pearson : 3,45344, dl=3, p=,326856					
séropositivité	race commune	race berger allemand	race berger belge	race autres espèces	Totaux Ligne
positif	34,849	7,3424	5,8082	8,0000	56,0000
négatif	283,150	59,6575	47,1917	65,0000	455,0000
Ts Grpes	318,0000	67,0000	53,0000	73,0000	511,0000

Nous avons $p = 0,32$, il est supérieur à 0,05 (non rejet de H_0). Cela veut dire qu'avec une erreur de première espèce, toutes les races ont la même probabilité d'être infectée.

Tableau 6.4 : Nombre de cas en fonction de l'activité.

Activité	CN de garde	CN de chasse	CN berger	CN de compagnie	CN sans propriétaire	CN errants	Total
Positif	21 (8,01)	12 (18,75)	06 (10,52)	00 (00)	01 (10)	16 (15,53)	56
Négatif	241 (91,98)	52 (81,25)	51 (89,47)	15 (100)	09 (90)	87 (84,46)	455
Total	262 (100)	64 (100)	57 (100)	15 (100)	10 (100)	103 (100)	511

**Figure 6.22** : Nombre de cas en fonction de l'activité.

➤ Test statistique : test de Chi-2 d'homogénéité

Hypothèse :

H_0 : la séropositivité est identique quelle que soit l'activité du chien

H_1 : la séropositivité est différente selon l'activité

Synthèse : Effectifs Théoriques (Activité x Séropositivité.sta)					
Effectifs en surbrillance > 10					
Chi ² de Pearson : 8,74921, dl=3, p=,032823					
Séropositivité	Activité CN de garde	Activité CN de chasse	Activité CN berger	Activité CN errants	Totaux Ligne
Positif	28,712	7,0137	7,8904	12,383	56,000
négatif	233,287	56,9863	64,1095	100,616	455,000
Ts Grpes	262,000	64,000	72,000	113,000	511,000

Ici p est inférieur à 0,05 donc nous rejetons H_0 . On en déduit qu'avec une erreur de 5%, la séropositivité diffère selon l'activité du chien. En effet, les chiens de chasse et les chiens errants sont plus touchés par l'infection leishmanienne par rapport aux autres.

6.3.2 Symptomatologie (signes cliniques observés)

Afin de faciliter l'exploitation des données recueillies relatives aux signes cliniques observés, nous avons décidé de nous baser sur les lésions évocatrices de la leishmaniose canine à savoir l'amaigrissement, l'ulcération, la dépilation, l'adénopathie, l'abattement (asthénie), l'onychogryphose, et le squamosis. Pour les autres lésions, nous les avons classées dans la catégorie « autre signe clinique ».

Tableau 6.5 : Fréquences des signes cliniques observés chez les chiens positifs et négatifs.

Signes cliniques	Cas positifs (%)	Cas négatifs (%)	Total
Amaigrissement	15 (31,91)	32 (68,09)	47
Abattement (asthénie)	15 (35,71)	27 (64,29)	42
Dépilation	14 (36,84)	24 (63,16)	38
Adénomégalie	24 (58,54)	17 (41,46)	41
Ulcérations	15 (34,88)	28 (65,12)	43
Onychogryphose	08 (50)	08 (50)	16
Squamosis	07 (87,5)	01 (12,5)	08
Para/Hyperkératose	04 (44,44)	05 (55,56)	09
Autre signes	17 (40,48)	25 (59,52)	42
Aucun signe clinique	22 (5,82)	356 (94,17)	378
Total	141	523	664

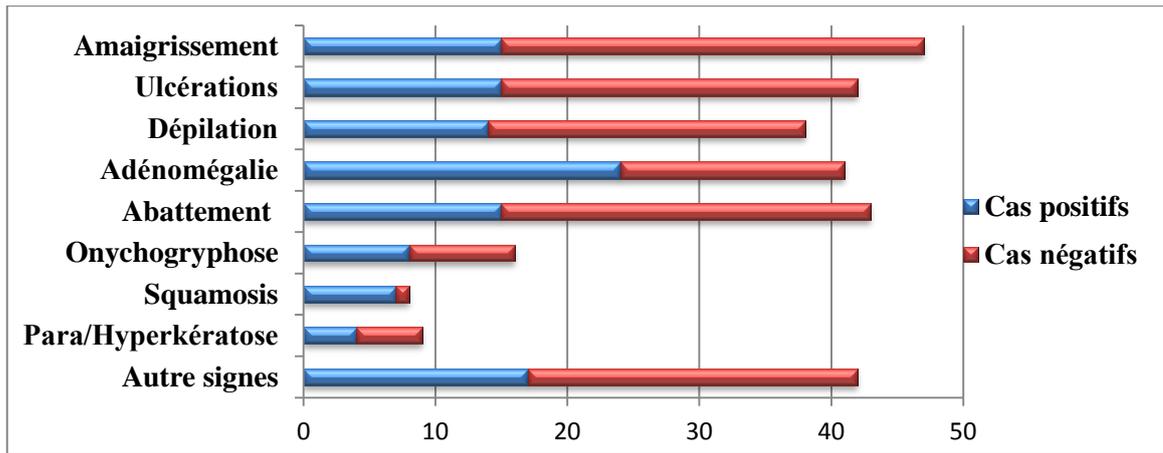


Figure 6.23: Fréquence des signes cliniques chez les chiens positifs et négatifs.

Tableau 6. 6 : Fréquence des signes cliniques chez les chiens positifs.

Signes cliniques	Fréquence (%)
Amaigrissement	15 (12,60)
Abattement (asthénie)	15 (12,60)
Dépilation	14 (11,76)
Adénomégalie	24 (20,16)
Ulcérations	15 (12,60)
Onychogryphose	08 (6,72)
Squamosis	07 (5,88)
Para/Hyperkératose	04 (3,36)
Autre signes	17 (14,28)
Total	119 (100)



Figure 6.24 : Amaigrissement
(Phot. personnelle).



Figure 6.25 : Ulcération au niveau
de l'oreille (Phot. personnelle).



Figure 6.26 : Dépilation au niveau de la face et signe de lunette (Phot. personnelle).



Figure 6.27 : Abattement et aspect du vieux chien (Phot. personnelle).



Figure 6.28 : Onychogryphose et ulcère (Phot. personnelle).



Figure 6.29 : Onychogryphose (Phot. personnelle).

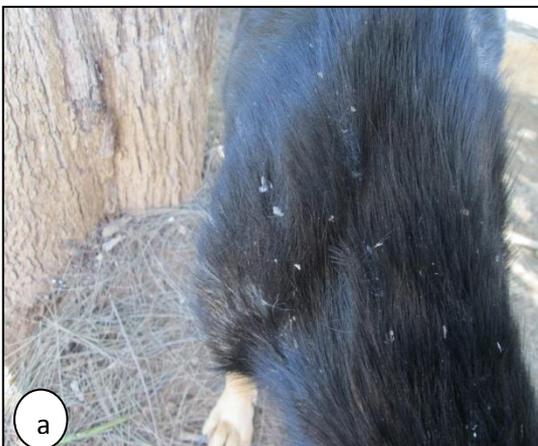


Figure 6.30 : (a) et (b) Squamousis (Phot. personnelle).



Figure 6.31 : Hyperkératose (Phot. personnelle).



Figure 6.32 : Epistaxis (Phot. personnelle).



Figure 6.33 : Aspect du vieux (Phot. personnelle).



Figure 6.34 : Escarre au niveau articulaire (Phot. personnelle).



Figure 6.35 : Signe de lunette (Phot. personnelle).



Figure 6.36 : Uvéite (Phot. personnelle).



Figure 6.37 : Amaigrissement, dépilation généralisée, ulcère (Phot. personnelle).



Figure 6.38 : Amaigrissement, abattement, dépilation, signes de lunette, lésions (Phot. personnelle).

6.3.3 Origine géographique

Tableau 6.7: Fréquences des cas positifs et négatifs selon l'origine géographique.

Strate	Commune	Cas positifs (%)	Cas négatifs (%)	Total
Strate littorale	Amizour	12 (10,68)	117 (89,31)	129
	Tichy	4 (4,08)	50 (95,92)	54
Total strate littorale		16 (8,47)	167 (91,25)	183
Strate sub-littorale	Kherrata	08 (12,12)	57 (87,87)	65
	Draa el gaid	4 (7,55)	46 (92,45)	50
	Tazmalt	7 (10,76)	58 (89,23)	65
	Tifra	5 (11,36)	40 (88,64)	45
Total strate sub-littorale		24 (10,66)	201(89,33)	225
Fourrière canine		16 (15,53)	87 (84,46)	103

Les résultats synthétisés dans le tableau ci-dessus montrent que les chiens de la fourrière canine ont fourni la prévalence la plus élevée (15,53%). Viennent, en suite, les chiens de la strate sub-littorale puis ceux de la strate littorale avec respectivement 10,66 et 8,47%.

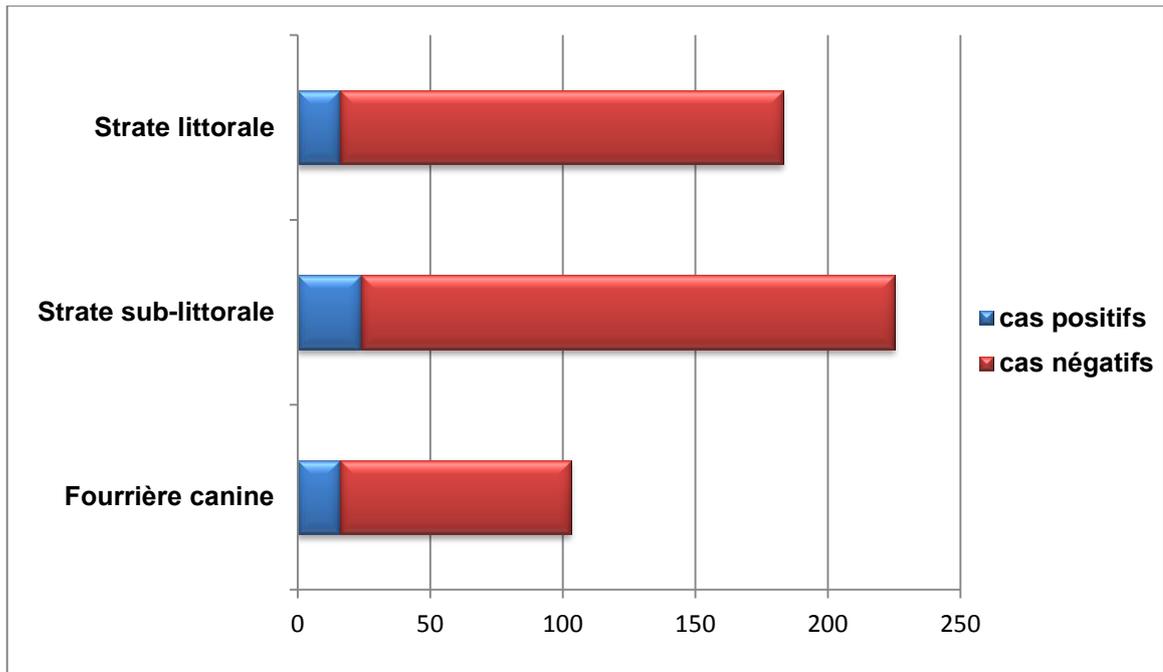


Figure 6.39 : Fréquence des cas positifs et négatifs en fonction de l'origine géographique.

➤ Test statistique : test de Chi-2 de Pearson

Hypothèse :

H_0 : la séropositivité est identique dans les deux strates

H_1 : la séropositivité est différente entre les deux strates

Synthèse : Effectifs Théoriques (Feuille de données)			
Effectifs en surbrillance > 10			
Chi ² de Pearson : ,422249, dl=1, p=,515818			
Séropositivité	strate littorale	strate sub-littorale	Totaux Ligne
positif	17,9412	22,0588	40,0000
négatif	165,0588	202,9412	368,0000
Ts Grpes	183,0000	225,0000	408,0000

Nous avons $p = 0,51$, il est supérieur à 0,05 (non rejet de H_0). Ceci veut dire que la différence observée entre les deux séroprévalences de la strate littorale (**8,74%**) et de la strate sub-littorale (**10,66%**) n'est pas statistiquement significative.

6.3.4 Séroprévalence, intervalle de confiance, et valeurs prédictives

Pour estimer la prévalence apparente, la prévalence réelle, et l'intervalle de confiance nous avons utilisé les formules suivantes :

- P_a = nombre de cas observés/ N échantillon
- $P_r = P_a + (S_p - 1) / S_e + (S_p - 1)$
- IC à 95% est : $P_a \pm 2\delta$ (δ écart type), sachant que l'écart-type est égal à la racine carrée de la variance

Alors, pour estimer les intervalles de confiance, nous calculerons la variance (A) pour chacune des deux strates, en utilisant la formule suivante :

$$A = (1/n - 1/N) * S_h^2 + [(1/(n*N)) * \sum_{i=1}^n (M_i/M_{moy})^2 * (1/m_i - 1/M_i) S_{wi}^2$$

$$S_h^2 = (P_{commune} * (1 - P_{commune})) / n$$

$$S_{wi}^2 = (P_{village} * (1 - P_{village})) / \sum m_i$$

$$M_{moy} = \sum_{i=1}^N M_i / N$$

N : nombre total des communes dans la strate

n : nombre de commune échantillonné dans la strate

n_i : commune i échantillonnée dans la strate

M_i : nombre totale de village dans la commune n_i

m_i : nombre de village sélectionnée dans la commune n_i

$P_{commune}$: prévalence au niveau communal (nombre de cas dans la commune/ nombre de sujet étudié dans la commune)

$P_{village}$: prévalence au niveau village (nombre de cas dans le village/ nombre de sujet étudié dans le village)

Tableau 6. 8 : Prévalences apparentes et réelles, variance et écart type.

	Cas positifs	Cas négatifs	Total	Prévalence		Variance	Ecart type
				apparente	réelle		
Strate littorale	16	167	183	0,08	0,09	0,001	0,03
Strate sub-littorale	24	201	225	0,10	0,11	0,0006	0,02
Fourrière canine	16	87	103	0,15	0,16	/	/

Pour estimer la valeur prédictive positive (VPP), ainsi que la valeur prédictive négative (VPN), nous avons utilisé les formules suivantes :

- $VPP = \frac{Se \times Pr}{Se \times Pr + (1 - Sp) (1 - Pr)}$
- $VPN = \frac{Sp \times (1 - Pr)}{Sp (1 - Pr) + (1 - Sp) Pr}$

Tableau 6. 9 : Valeurs prédictives positive et négative

	VPP	VPN
Strate littorale	0,81	0,99
Strate sub-littorale	0,85	0,99
Fourrière canine	0,90	0,99

6.4 Discussion

6.4.1 Méthode d'échantillonnage

La population canine n'étant pas connue, nous avons opté pour une méthode d'échantillonnage ne nécessitant pas de recensement exhaustif des individus. Un sondage stratifié puis à deux degrés a été retenu : le premier degré a été constitué par la commune et le second par le village. Notons que les tirages aléatoires ont été réalisés avec un taux de sondage identique dans chaque degré et par strate. En effet, la stratification de la région d'étude s'est effectuée selon un transect Nord-Sud en fonction de deux critères : le critère géographique et le critère météorologique généré principalement par les phénomènes de continentalité et de brise de mer.

Nous sommes persuadés que le protocole d'échantillonnage que nous avons adopté répond parfaitement à notre objectif qui est d'estimer la prévalence de la leishmaniose canine. Néanmoins, quelques biais qualifiés «obligatoires »

peuvent être signalés comme dans le cas de recrutement des chiens au niveau des villages qui était, parfois, non exhaustif.

6.4.2 Examen clinique

L'infection débute par un chancre d'inoculation transitoire, qui passe souvent inaperçu. Plusieurs formes cliniques peuvent être rencontrées: forme « classique » multiviscérale ou « oligosymptomatique » ; forme atypique très variée ainsi qu'un état de portage asymptomatique [4].

L'examen clinique des 511 chiens a fait ressortir des lésions assez « caractéristiques » de la leishmaniose chez les sujets séropositifs, notamment les adénomégalies (20,16%), l'amaigrissement (12,60%), les ulcérations (12,60%), l'abatement (12,60%), et les dépilations (11,76), ce qui se rapporte aux travaux de Greene *et al.* [125], Bourdoiseau *et al.* [4]. Néanmoins, nos résultats concernant la fréquence des symptômes sont largement inférieurs à ceux rapportés par KOUTINAS *et al.* [133], BANETH *et al.* [75], dont la Prévalence de certains signes cliniques était comme suit: adénomégalies (62 à 90 %) ; amaigrissement (10 à 48 %) ; et affections cutanées (81 à 89 %). Cela pourrait être expliqué par le fait que dans notre étude, le choix des chiens a été effectué sans aucun critère clinique de la leishmaniose.

Selon certains auteurs dont BOURATBINE *et al.* [218], COULIBALY *et al.* [219], MEUNIER [214], l'adénomégalie est le signe le plus évocateur lors de la leishmaniose canine. Les poplitées sont les plus souvent atteints, suivis par les préscapulaires et les retromandibulaires. Nos résultats confortent cette constatation car, près de la moitié (24/56) des chiens séropositifs ont présenté une adénomégalie modérée à très importante décelable à la palpation.

Nos résultats montrent que les signes cutanés étaient fréquemment observés ; à titre d'exemple 15 sur 56 chiens séropositif soit 26,78% ont présenté des ulcères cutanés parfois recouverts de croûtes. Ces ulcères siègent particulièrement sur la face et dans les pavillons auriculaires, mais aussi au niveau des coussinets plantaires, des articulations, des muqueuses buccales et

pituitaires. L'alopecie a été observée chez 14 chiens leishmaniens, soit un pourcentage de 25%. L'onychogryphose et le squamosis ont été de moindres fréquences à savoir 6,72 et 5,88% respectivement. Nous signalons que 4 chiens (4,14%) seulement, ont présenté une hyperkératose. Cette dernière siégeait notamment au niveau des coussinets, de la face (autour de la truffe et des yeux), ainsi qu'au niveau de la peau prenant un aspect plissé et grisâtre.

Signalé chez 15 chiens, l'abattement figurait parmi les signes généraux les plus fréquemment observés chez les chiens leishmaniens (26,78%). Selon BOURATBINE *et al.* [218], un abattement parfois très prononcé apparaît dans 50% des cas, et s'aggrave au cours de l'évolution de la maladie, avec difficultés de récupération, et refus d'exercice [4].

L'amaigrissement, et la cachexie principalement dues à la fonte des réserves graisseuses et de la masse musculaire, conférant au chien une allure pitoyable, l'amyotrophie des masticateurs lui donnant une tête de « vieux chien » [4]. Dans notre étude, nous avons signalé 15 chiens séropositifs avec un amaigrissement plus ou moins prononcé accompagné parfois d'une cachexie. Cette dernière est un stade avancé de la maladie, dont le pronostic est réservé.

D'autres signes cliniques associés à la leishmaniose ont été enregistrés mais avec des fréquences moins importantes par rapport à ceux cités ci-dessus. L'épistaxis, rare et intermittente est qualifiée de la forme hémorragique atypique de la leishmaniose chez le chien. Elle est uni- ou bilatérale, récidivante et rebelle à la thérapeutique antihémorragique [4]. Dans notre étude, nous avons observé un seul chien qui a présenté une épistaxis. On pense que les lésions ulcéraives ou inflammatoires de la muqueuse nasale, et les vascularites liées au dépôt d'immuns-complexes seraient la cause de ces saignements. Les signes ophtalmologiques sont rapportés dans la littérature avec des proportions différentes. Ils varient de 20 à 40% des cas [125]. Nos résultats montrent que parmi les 56 chiens séropositifs, 5 d'entre eux (8,92%) ont présenté une atteinte oculaire de type conjonctivite, Kératoconjonctivite, et/ ou uvéite.

Parmi les chiens séropositifs, 22 d'entre eux soit 39,28% des cas n'ont exprimé aucun signe clinique de leishmaniose. Ce résultat vient de confirmer que le portage asymptomatique est très important au sein des foyers endémiques. Il est de 50% selon l'étude de BERRAHAL *et al.* [102], et de 60% d'après l'étude de MOULOUA *et al.* [7], menée dans la wilaya de Tizi-Ouzou. De ce fait, plusieurs questions se posent : ces chiens sont-ils définitivement asymptomatiques ou peuvent-ils devenir malades ? Et si oui, sous l'influence de quels facteurs ? Sont-ils sources de parasites ?

Enfin, nous signalons qu'une erreur aléatoire qualifiée de « mesure » pourrait être soulevée dans notre étude. Parfois nous consacrons moins de temps pour examiner les chiens. En effet, cela pourrait diluer la précision en sous estimant la proportion des chiens leishmaniens symptomatiques, notamment ceux qui présentaient des signes discrets. Néanmoins, cette erreur de mesure n'a pas d'influence sur l'estimation de la prévalence car cette dernière a été estimée suite aux résultats de l'IFI.

6.4.3 Sérologie

Rappelant que la recherche des anticorps spécifiques a été réalisée par immunofluorescence indirecte (IFI). C'est la méthode quantitative de référence agréée par l'Office International des Épidémiologies.

6.4.3.1 Séroprévalence selon l'âge, le sexe, la race et l'activité du chien

De nombreux auteurs ont rapporté que l'infection à *Leishmania infantum* est beaucoup moins fréquente chez les jeunes chiens que chez les adultes [220], [221], [222]. De plus, les animaux plus âgés présentaient un risque de séropositivité deux fois plus élevé que les jeunes chiens [117]. Ceci a été constaté dans notre analyse et confirmé par nos résultats. En effet les chiots âgés entre 6 et 12 mois ont fourni la prévalence la plus basse qui est de 3,64% suivies des jeunes adultes avec une prévalence de 8%. Cependant les adultes âgés entre 4 et 8 années ainsi que les « vieux chiens » de plus de 8 ans, ont montré les prévalences les plus élevées avec 23, 64 et 29,41% respectivement. Ces

prévalences élevées chez les adultes et les vieux chiens pourraient être expliquées, d'une part, par la durée d'incubation qui est assez longue, et d'autre part, par la haute fréquence d'exposition aux piqures de phlébotomes.

Le test de Chi-2, que nous avons appliqué pour voir s'il y avait une différence de séropositivité entre les mâles et les femelles, a montré que le risque d'être infecté est identique quelle que soit le sexe ($p = 0,37$). Ces résultats corroborent avec ceux rapportés par BOURDOISEAU [34], CORTES *et al.* [81], BOURATBINE *et al.* [218], qui n'ont observé aucune différence significative dans la prévalence entre les mâles et les femelles. Cependant, dans son étude, DENEROLLE [53] a trouvé une nette prédominance des mâles touchés par la leishmaniose (67%).

En ce qui concerne la prédisposition raciale, la plupart des auteurs rejettent l'implication de la race dans la prédisposition à développer la maladie. En effet au sein de notre étude aucune différence significative n'a été mise en évidence entre la race et la séropositivité ($p = 0,32$). Néanmoins, DENEROLLE [53] a montré une incidence chez le Boxer plus importante par rapport à la population de référence. Il faut noter aussi que des études entreprises en Espagne ont montré que certaines races autochtones étaient probablement plus résistantes à l'infection [118].

Les résultats obtenus concernant la séropositivité et l'activité du chien, montrent qu'il y a une relation, statistiquement significative, entre ces deux variables ($p = 0,032$). En effet, les chiens de chasse et les chiens errants ont fourni les prévalences les plus élevées avec, respectivement, 18,75 et 15,53% ; suivis des chiens berger avec 10,52% et des chiens de garde avec 8%. MILHAU [223] a rapporté dans son étude que les chiens de chasse étaient les plus exposés, contrairement à KECK *et al* [85] qui ont estimé que les chiens de garde étaient plus touchés par la leishmaniose. ADEL *et al.* [108] quant à eux, ont retrouvé une fréquence d'infection plus élevée chez les chiens errants (11,7%) par rapport aux autres. Les disparités entre les prévalences retrouvées pourraient être expliquées par les résultats obtenus par CORTES *et al.* [81], selon lesquels, il y

aurait un risque croissant de développer la maladie avec l'augmentation du niveau d'exposition à l'environnement extérieur. Vivant principalement ou exclusivement à l'extérieur leur échantillon d'animaux présentait donc un risque plus accru de contracter la leishmaniose ($p < 0,001$), OR = 2,53 comparativement aux autres groupes vivant à l'intérieur.

Aucun chien de compagnie n'a été retrouvé séropositif, ceci pourrait être expliqué par le fait que les chiens de compagnie vivent à l'intérieur des maisons, donc, ils sont moins exposés aux piqûres de phlébotomes. De plus, les chiens de compagnie sont bien entretenus et, portent souvent des colliers insecticides. Il a été déjà démontré que l'utilisation massive et prolongée de ces colliers sur des chiens vivant en zone d'endémie entraînait une diminution du nombre de cas d'infection chez le chien [224].

6.4.3.2 Séroprévalence selon l'origine géographique et valeurs prédictives

Dans la présente étude, nous avons estimé une prévalence globale de 11%. Quant aux prévalences par zone géographique nous avons les valeurs suivantes : 8,74% dans la strate littorale, 10,66% dans la strate sub-littorale et 15,53% dans la fourrière canine. Alors que nous avons supposé l'existence d'une hétérogénéité dans la distribution spatiale de la leishmanie canine, le test de Chi-2 appliqué n'a montré aucune différence significative entre les deux strates ($p = 0,51$). Cela sous entend que la distribution de la leishmaniose serait, plus ou moins, homogène dans toute la wilaya de Béjaia. Etant donné que la variable « âge » pourrait constituer un facteur de confusion non négligeable, nous avons procédé à une standardisation directe des taux afin d'ajuster sur l'âge, et faire disparaître les différences qui pourraient être dues à des différences de distribution par âge entre les populations de chaque strate (Appendice K).

Le résultat obtenu de cette standardisation montre une prévalence de 0,08 et de 0,12 dans la strate littorale et sub-littorale respectivement. Cela voudrait dire que la séroprévalence dans la strate sub-littorale était aussi large (0,12) que celle observée sans standardisation (0,10). La prévalence basse au niveau de la strate littorale pourrait être expliquée par la faible densité des phlébotomes. En effet, ces

derniers ne vivent pas sur la côte, où la salinité, l'excès d'humidité et surtout, les vents souvent forts leur sont défavorables [129].

Comme nous l'avons estimé, la valeur prédictive positive varie de 0,81 dans la strate littorale, à 0,85 dans la strate sub-littorale. Quant à la fourrière canine la VPP était de 0,9. D'après TOMA *et al.* [68] lorsqu'on utilise un test de sensibilité et de spécificités voisines, le poids respectif de vrais positifs et de faux positifs dépend uniquement de la fréquence de la maladie dans la population étudiée. Il en découle que si la maladie est très fréquente, les faux positifs sont largement minoritaires par rapport aux vrais positifs. Au contraire, si la maladie est très rare, le nombre de vrais positif devient très faible. Donc dans notre étude, nous avons une probabilité de classer les animaux comme positifs qui peut aller jusqu'à 0,19, alors qu'ils ne le sont pas (faux positifs). Ceci pourrait être expliqué par le fait qu'il y ait des réactions croisées avec *Sarcocystis cruzi* l'agent causal de la sarcosporidiose pour laquelle, le chien est l'hôte définitif [108].

Quant à la valeur prédictive négative (VPN), elle est la même dans les trois sous populations étudiées (0,99). Cela sous entend que nous avons une probabilité très minime (0,01) de classer les animaux comme indemnes, alors qu'ils sont infectés, il s'agit de faux négatifs. Cette erreur prédictive négative pourrait être en rapport avec une altération de la réponse immunitaire qui s'observe à un stade avancé de la maladie [218]. D'abord deux chiens de la population d'étude avaient une symptomatologie « pathognomoniques » avec un état général très altéré. Mais, ils ont donné des sérologies négatives. Pour ces deux chiens, c'est l'examen direct (coloration par May Grunwald-Giemsa) qui nous a permis de confirmer l'infection. D'autres auteurs ont rapporté que la résistance à la leishmaniose canine est associée à une faible réponse humorale (titre bas en anticorps anti-leishmanies) [225], [226]. Ce qui explique que, des chiens infectés mais résistants peuvent échapper au dépistage sérologique en donnant des réponses négatives d'où, l'augmentation de l'erreur prédictive négative.

6.5 Conclusion

La leishmaniose canine est une maladie caractérisée par un tableau clinique protéiforme intéressant en particulier la peau, les muqueuses et le système lymphatique.

Une étude séro-épidémiologique et clinique menée sur un échantillon de 511 chiens de la wilaya de Béjaia a montré que la leishmaniose touchait beaucoup plus les chiens âgés de plus de 4 ans. La race et le sexe ne sembleraient pas interférer dans le développement de l'infection alors que l'activité du chien conditionnerait son taux d'infection. Ce dernier serait proportionnel au degré d'exposition des chiens au milieu extérieur, c'est le cas des chiens de chasse, de garde et errants par opposition aux chiens de compagnie.

L'examen clinique a fait ressortir des lésions caractéristiques comme les adénomégalies (20,16%), l'amaigrissement (12,60%), les ulcérations (12,60%), l'abattement (12,60%), et les dépilations (11,76). Le portage asymptomatique a été évalué à près de 40% des cas. Cette catégorie de chiens nécessiterait une investigation afin de comprendre son rôle dans l'épidémiologie des leishmanioses.

L'IFI a permis d'identifier 56 positifs, avec différents niveaux de séroprévalence :

- 16 cas dans la strate littorale, c'est-à-dire une séroprévalence de $0,08 \pm 0,06$
- 24 cas dans la strate sub-littorale, ce qui fait une séroprévalence de $0,10 \pm 0,04$
- 16 cas au niveau de la fourrière canine, soit une séroprévalence de 0,15

A la lumière de cette étude, qualifiée de la première dans la wilaya de Béjaia, il ressort que cette dernière est, moyennement, touchée par la leishmaniose canine avec une répartition spatiale hétérogène, dévoilant une partie Sud (strate sub-littorale) plus touchée que la bande Nord (strate littorale).

CHAPITRE 7

ETUDE III : ETUDE DU VECTEUR (PHLEBOTOMES)

7.1 Introduction

La pérennité d'une zoonose transmissible à l'intérieur d'un foyer endémique dépend de deux éléments essentiels, un réservoir et un vecteur. Il est évident qu'on ne peut comprendre correctement le fonctionnement d'un foyer sans une analyse approfondie de tous les maillons du cycle épidémiologique. Dans les leishmanioses, la clé voûte du cycle parasitaire est le phlébotome, il constitue l'élément focalisateur.

A Béjaia, aucune étude entomologique portant sur les phlébotomes n'a été menée. Le but de ce travail est de contribuer à analyser la composition du peuplement phlébotomien à partir de quelques biotopes (sites de piégeages des phlébotomes) naturels répartis dans la région de Béjaia.

7.2 Matériel et méthodes

7.2.1 Matériel

- Huile de ricin
- Ethanol 70°
- Solution de potasse (KOH) à 20%
- Solution de Marc André
- Eau distillée
- Piluliers
- Feuilles de papier blanc
- Lames et lamelles
- Microscope optique

7.2.2 Station de capture des phlébotomes

Nous entendons par station, la partie du milieu prospecté dans laquelle sont situés les sites de piégeages qui sont les biotopes piégés ou les points précis de

captures des phlébotomes. Les sites de capture des phlébotomes sont : Amizour, Tichy, et Kherrata.

7.2.3 Méthode d'échantillonnage

L'échantillonnage des phlébotomes a été réalisé au mois de septembre 2013, par la technique des pièges adhésif. Ces pièges sont constitués de feuilles de papier blanc, imbibés d'huile de ricin officinal. Les feuilles montées à l'aide d'une tige de roseau ou d'une tige métallique sont placées au niveau des gîtes de repos des phlébotomes (chenils, étables, clapiers, maisons). Après trois (03) nuits de capture, les feuilles huilées sont relevées et placées individuellement dans des pochettes en plastiques. Les phlébotomes englués sont prélevés soigneusement à l'aide d'un pinceau imbibé d'alcool éthylique à 70°.

Les phlébotomes recueillis sont conservés dans des piluliers remplis de l'alcool à 70° jusqu'à leur identification.

7.2.4 Manipulation, montage et identification des phlébotomes

Pour l'identification des phlébotomes, nous avons suivi le protocole appliqué à l'IPA :

- Les phlébotomes sont mis à éclaircir dans une boîte de pétri contenant de la solution de potasse à 20% pendant deux heures
- Rincer les phlébotomes à l'eau pendant une heure. Changer de bain toutes les 30 minutes
- Mettre la solution de Marc André et laisser agir pendant une heure
- Chaque phlébotome est monté individuellement dans une goutte de la solution de Marc André, entre lame et lamelle, la tête en position dorso-ventrale

Après identification, les phlébotomes sont remis dans l'alcool à 70° pour être conservés.

7.3 Résultats

Après trois nuits de capture, 93 phlébotomes ont été capturés dans les 3 sites cités en haut. L'inventaire des spécimens capturés par espèce et par région est représenté dans le tableau 7.1.

Tableau 7.1 : Nombre de phlébotomes capturés par genre/espèce et station.

	Amizour		Tichy		Kherrata		Total	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
<i>Phlébotomus perniciosus</i>	12	21	00	00	25	32	37	53
<i>Sergentomyia minuta</i>	02	01	00	00	00	00	02	01
Total	14	22	00	00	25	32	39	54

Le tableau montre que les phlébotomes récoltés appartiennent à deux genres *Phlebotomus* et *Sergentomyia*. Ce dernier représente 4,30% des captures dont *S. minuta* est la seule espèce appartenant à ce genre. Le genre *phlebotomus* représente 95,69% des captures. *P. perniciosus* est la seule espèce identifiée.



Figure 7.1 : Phlébotome femelle
(Phot. personnelle).



Figure 7.2 : Phlébotome mâle
(Phot. personnelle).



Figure 7.1 : Génitalia mâle du genre *Phlébotomus* : style avec 5 épines (Phot. personnelle).

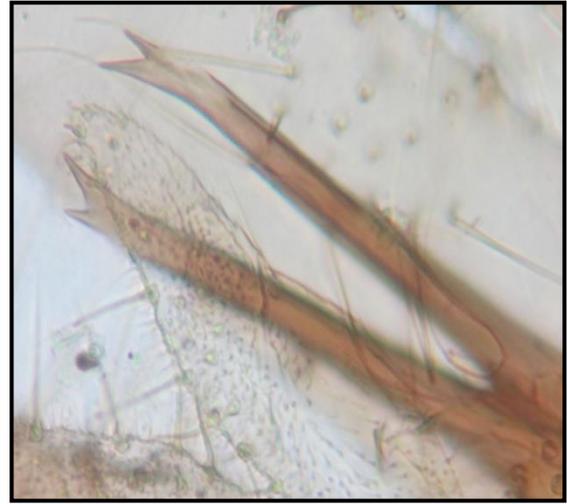


Figure 7.1 : Valves péniennes de *Phlébotomus perniciosus*. (Phot. personnelle).

7.4 Discussion

La capture des phlébotomes dans trois stations de la wilaya de Béjaïa nous a permis d'y analyser la composition du peuplement phlébotomien. Sur un total de 93 spécimens piégés, nous avons pu identifier deux espèces appartenant à deux genres différents. Il s'agit de *Phlébotomus perniciosus* (95,86%) et *Sergentomyia minuta* (4,30%). En Algérie, 22 espèces de phlébotomes sont identifiées, 12 du genre *Phlebotomus* et 10 du genre *Sergentomyia*, chaque espèce a sa propre distribution écologique [227].

Phlébotomus perniciosus rencontré au Nord du pays dans la zone bioclimatique subhumide. C'est une espèce incriminée dans la transmission de la leishmaniose viscérale humaine [208], [227].

Sergentomyia minuta s'étend sur les bordures méridionales de la région méditerranéenne à Chypre ; sa limite sud coïncide avec le Sahara [228]. Les données bibliographiques montrent que dans le genre *Sergentomyia* l'espèce *minuta* est la plus isolée. Or, dans la présente étude, cette espèce n'a pas été largement identifiée, ceci pourrait être en rapport avec les sites où nous avons déposé nos pièges. En effet, *S. minuta* est une espèce herpétophile, qui se nourrit

exclusivement des reptiles; c'est à ce comportement que l'on doit vraisemblablement son abondance dans les excavations rocheuses et les barbacanes, habituellement colonisées par des *Laceratidae* [229].

Cependant aucun spécimen du genre *Phlébotomus perfiliewi* n'a été capturé. Cette espèce incriminée dans la transmission de la leishmaniose cutanée sporadique [230] était sensée être présente tout au long du Nord algérien, à côté de l'aire de distribution de *P. perniciosus*. En effet, sa densité varie d'une région à l'autre mais il semblerait, selon des observations antérieures que cette espèce serait plus abondante à l'Est qu'à l'Ouest du pays [231].

Enfin, nous signalons que dans la station de Tichy, nous n'avons capturé aucun phlébotome. Or, l'étude de la leishmaniose canine dans cette région a révélé une séroprévalence de 0,04. Ceci suggérerait donc la présence du vecteur. Ce cycle épidémiologique incomplet des leishmanioses nous a permis d'émettre trois hypothèses :

- Présence de vecteurs mais la période de piégeage était inadéquate, de durée courte (trois nuits seulement) ;
- La région aurait été soumise à une pulvérisation d'insecticides avant la pose de nos pièges huilés ;
- Existence d'un autre vecteur dans la région, qui pourrait permettre la transmission de la leishmaniose entre la population canine ; sans permettre sa transmission à l'homme. Cette hypothèse est renforcée par le fait que dans la commune de Tichy (voire même les régions limitrophes), on n'y a déclaré aucun cas de leishmaniose humaine.

7.5 Conclusion

Les résultats d'une étude portant sur 93 spécimens de phlébotomes capturés, a permis de recenser deux espèces de phlébotomes. Une appartenant au genre *Phlebotomus* (95,86%) et l'autre au genre *Sergentomyia* (4,30%). Ce dernier est représenté par *Sergentomyia minuta* espèce non incriminée dans la transmission des leishmanioses. Le genre *Phlebotomus* est totalement représenté par *Phlebotomus perniciosus*, vecteur de la leishmaniose vésicale. Aucun vecteur de leishmaniose cutanée sporadique (*Phlébotomus perfiliewi*) n'a été identifié.

L'étude du vecteur dans une localité jusqu'à là indemne de leishmaniose humaine (Tichy), n'a permis d'identifier aucun phlébotome. Ceci impose une étude entomologique approfondie afin de maîtriser l'écologie des *Phlebotominae*.

CHAPITRE 8

ETUDE IV: ETUDE MOLECULAIRE PAR PCR STANDARD ET PCR-RFLP

8.1 Introduction

La Polymérase Chain Réaction (PCR) est une technique d'amplification *in vitro* de séquence nucléique. Elle permet d'obtenir en quelques heures plusieurs millions de copies d'une séquence donnée à partir d'une très faible quantité d'ADN présente dans les échantillons biologiques. La PCR-RFLP permet la digestion enzymatique des produits amplifiés par la PCR ; puis le profil des fragments résultant de la restriction est analysé pour l'identification de l'espèce ou de la souche [161].

Les objectifs de cette étude sont de :

1. Contribuer à l'identification des espèces de leishmanies qui pourraient être derrières la leishmaniose canine à Béjaia.
2. Identifier les espèces de leishmanies qui pourraient être véhiculées par les phlébotomes capturés.
3. Détecter d'un éventuel portage d'ADN leishmanien chez d'autres hématophages dont les ectoparasites du chien.

8.2 Matériel et méthodes

8.2.1 Prélèvement

Les prélèvements analysés sont des échantillons biologiques divers à savoir :

- ganglions et sang prélevés de chiens leishmaniens (IFI positive) ;
- phlébotomes ;
- puces et tiques prélevés à partir des chiens séropositifs

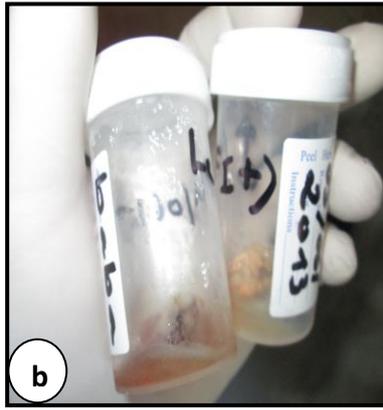


Figure 8.1 : (a) et (b) prélèvement de ganglions
(Phot. personnelle).

Figure 8.2 : Prélèvement de
tiques (Phot. personnelle).

N.B : les ganglions ont été prélevés sur des chiens séropositifs après leur euthanasie.

8.2.2 Conservation et acheminement

Les échantillons ont été placés dans des pots de prélèvement stériles (pour les ganglions et les ectoparasites, et dans des tubes cryogènes pour les prélèvements sanguins. Les prélèvements ont été acheminés au laboratoire, dans les plus brefs délais et, y sont congelés (- 20°C) afin d'être exploités ultérieurement.

8.2.3 Au laboratoire

8.2.3.1 Matériel

- Kit d'extraction
- Kit PCR
- Kit PCR-RFLP
- Microcentrifugeuse
- Hotte à UV
- Bain à sec
- Vortex
- Pipetes pasteur
- Cuve horizontale
- Transilluminateur à UV
- Ethanol
- Gel d'agarose à 1,5% et 3,5%

8.2.3.2 Extraction d'ADN génomique

L'extraction d'ADN est réalisée à l'aide d'un Kit spécial QIAamp (kit QIAGEN®, Hilden, Germany) selon le protocole ci-dessous :

➤ **La lyse :**

- Rincer à l'eau distillée stérile le matériel biologique à extraire son ADN afin d'éliminer toute trace d'alcool.
- Couper les échantillons en petit morceaux (broyer si nécessaire) et les introduire dans des tubes Eppendorfs préalablement numérotés et codés.
- Ajouter 200µl d'**ATL** (Broyage chimique), puis à l'aide des tiges broyer les échantillons mécaniquement.
- Ajouter 20µl de la **protéïnase K**, puis agiter rapidement à l'aide du vortex.
- Incuber les échantillons dans un bain à sec à 56° C pendant 2 heures, ou à 37°C pendant une nuit (figure 8.3).
- Faire une centrifugation rapide à 8000 tr/min pendant 4 seconde (figure 8.4).



Figure 8.3 : Incubation des échantillons dans un bain à sec à 37°C pendant une nuit (Phot. personnelle).



Figure 8.4 : centrifugation rapide à 8000 tr/min pendant 4 secondes (Phot. personnelle).

- Ajouter 200µl d'**AL**, puis agiter 15 secondes au vortex.
- Mettre les échantillons au bain sec à 70° C pendant 10 minutes, et centrifuger rapidement.

- Ajouter 200µl d'éthanol, et agiter pendant 15 secondes.
- Verser le mix dans les tubes collecteurs à filtre (figure 8.5).
- Centrifuger les tubes pendant 1minute à 8.000 tr/min.



Figure 8.5 : Mise du mix dans un tube collecteur à filtre(Phot. personnelle).

➤ **Purification**

- Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- Faire un premier lavage avec 500µl d'**AW1**.
- Centrifuger 1minute à 8.000 tr/min.
- Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- Faire un deuxième lavage avec 500µl d'**AW2**.
- Centrifuger 4 minutes à 10.000 tr/min.
- Jeter l'éluât et placer le filtre dans un nouveau tube collecteur.
- Centrifuger une nouvelle fois 1 minute à 10.000 tr/min.

➤ **Elution**

- Placer le filtre dans un nouveau tube Eppendorf
- Ajouter 200µl de tampon **AE**
- Incuber 1 à 5 minutes à température ambiante et centrifuger une dernière fois pendant 1minute à 8.000 tr/min.
- Récupérer l'éluât qui contient l'échantillon d'ADN
- Conserver le résultat à + 4°C

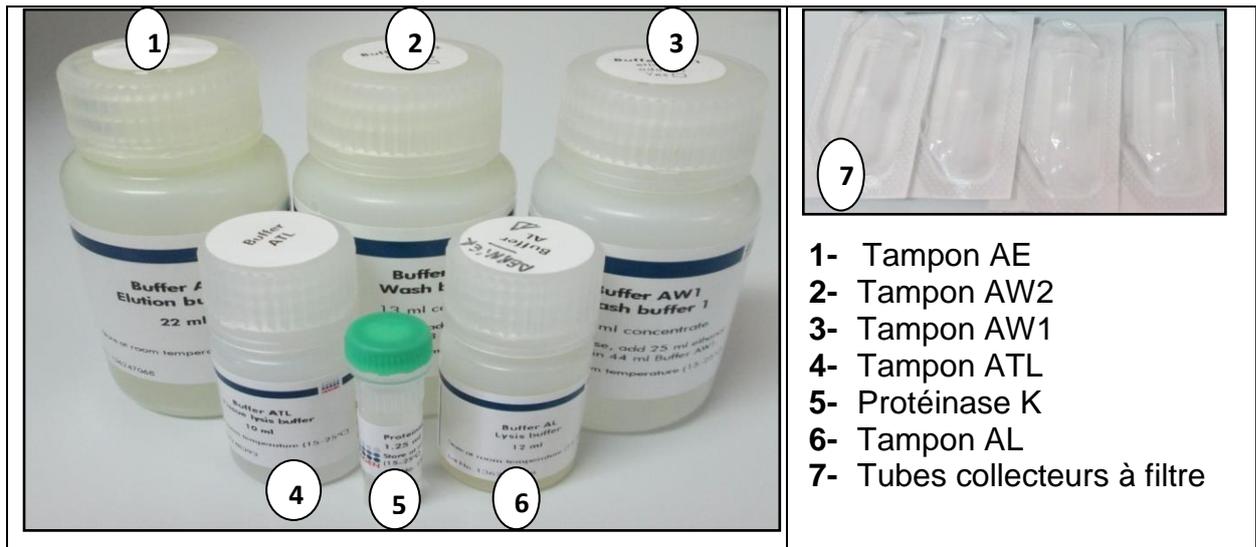


Figure 8.6: Kit d'extraction d'ADN, type QIAamp QIAGEN®, (Phot. personnelle).

8.2.3.3 Réalisation de la PCR standard

Pour chaque PCR, il existe un protocole bien précis qui varie selon le type d'amorce et les réactifs utilisés. Dans notre étude, nous avons ciblé la région ITS1 (internal transcribed spacer 1) situé entre les gènes codants pour SSU ARNr et 5.8S ARNr (figure 8.7) en utilisant une paire d'amorces (L5.8S/LITSR) décrite par SCHONIAN *et al.* 2003 [232] :

Forward-LITSR: 5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3'

Reverse-L5.8s: 5'-TGATACCACTTATCGCACTT-3'

Ces dernières (amorces) qui amplifieraient la région ITS1 (300 à 350 pb en fonction de l'espèce) correspondraient au gène codant pour la sous-unité 18S du ribosome. Ce gène est présent chez toutes les espèces de *Leishmania*.

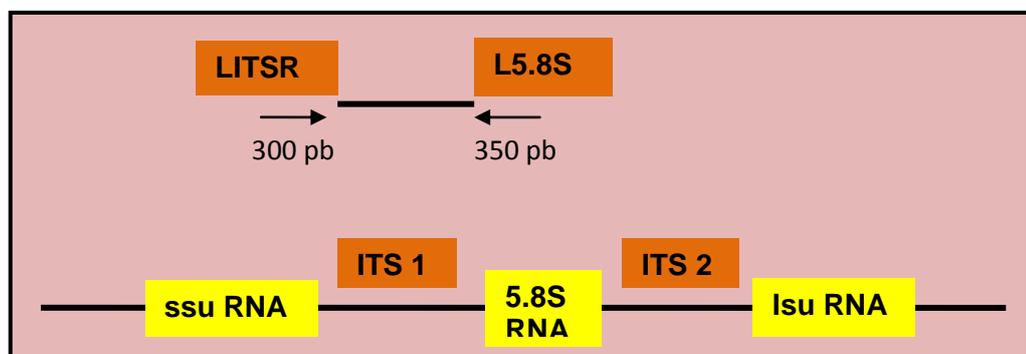


Figure 8.7 : Représentation schématique de la région ITS1 avec les amorces amplifiantes les différentes parties des espaces [232].

Le protocole et le programme appliqués sont comme suit :

Tableau 8.1: Protocole de préparation du Mix pour la PCR-ITS1

Ingrédients	Volume (µl) pour un échantillon
Tampon	2,5
MgCl ₂	1
dNTP	2,5
Amorce F	0,5
Amorce R	0,5
Taq polymérase	0,125
Eau distillée	13
DNA	5
Total	25

Tableau 8.2 : Programme thermocycleur

	Température C°	Temps	Nbr de cycles
Dénaturation initiale	95	15 min	1
Dénaturation	95	1 min	35
Hybridation	54	30 sec	
Elongation	72	1 min	
Elongation finale	72	5 min	1

Nous signalons que la préparation du Mix est réalisée sous conditions aseptiques, (sous une hotte-biocap) pour éviter toute contamination (Figure 8.8).

20µl de ce mélange est ensuite distribué dans chaque tube Eppendorf PCR stérile en suivant le dessein décrit ci-dessous :

- Témoin négatif : 5µl d'eau distillé stérile plus 20µl du mix
- Témoin positif : 5µl d'ADN positif avec 20µl du mix.
- Echantillons : 5µl d'ADN extrait de nos échantillons est ajouté à 20µl du mix.



Figure 8.8 : Préparation du Mix

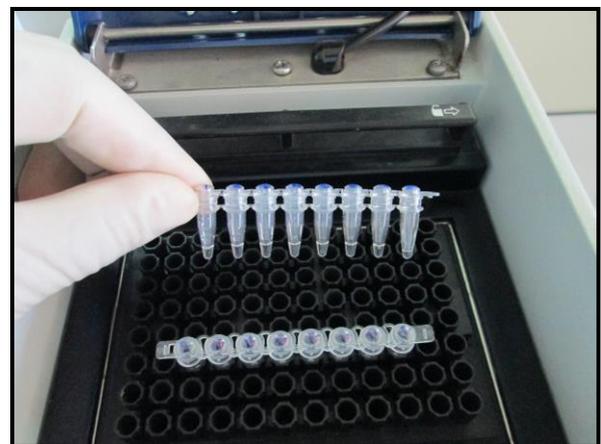


Figure 8.9 : Thermocycleur

8.2.3.4 Réalisation de la PCR restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)

La digestion enzymatique des produits amplifiés a été réalisée par l'enzyme *Hae III* à 37°C pendant 4 heures, dont le site de restriction est :



Tableau 8.3 : Protocole de préparation du Mix pour la PCR-RFLP

Ingrédients	Volume (µl) pour un échantillon
Tampon	5
<i>Hae III</i>	1
BSA	0,3
MulticoreX10	3
Eau distillée	5,7
DNA	15

8.2.3.5 Révélation par électrophorèse

Les produits d'amplification obtenus par PCR-ITS1 sont soumis à une électrophorèse en gel d'agarose 1,5%. Ce dernier permet de faire migrer les acides nucléiques au travers des mailles d'un gel additionné à de Bromure d'Ethidium (BET) qui présente une fluorescence sous illumination par UV. Quant à la PCR-RFLP, après une amplification de la région d'intérêt avec les deux amorces spécifiques et la digestion des produits amplifiés avec l'enzyme de restriction appropriée, une étape de migration sur gel d'agarose à 3% incorporé de BET est réalisée. Les fragments de digestion obtenus sont visualisés sous un transilluminateur à UV.

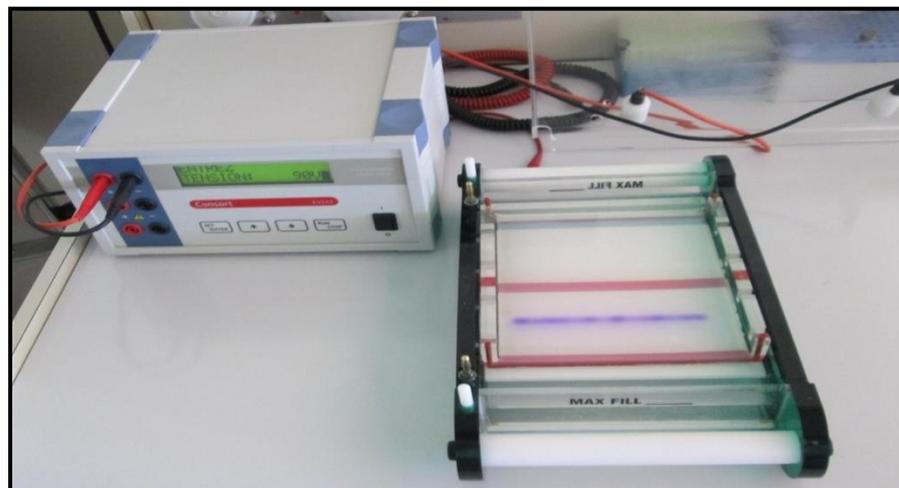


Figure 8.10 : Electrophorèse sur gel d'agarose à 1,5% pour les produits PCR et 3% pour les produits de digestion (Phot. personnelle).

8.3 Résultats

8.3.1 Résultats obtenus par la PCR standard

Les résultats de la PCR effectuée sur les 7 pools de *Phlébotomus perniciosus* sont représentés dans le tableau 8.4 et la figure 8.11.

Tableau 8.4 : résultat de la PCR sur les phlébotomes

N° de pool	PCR
01	Négative
02	Négative
03	Négative
04	Négative
05	Négative
06	Négative
07	Négative

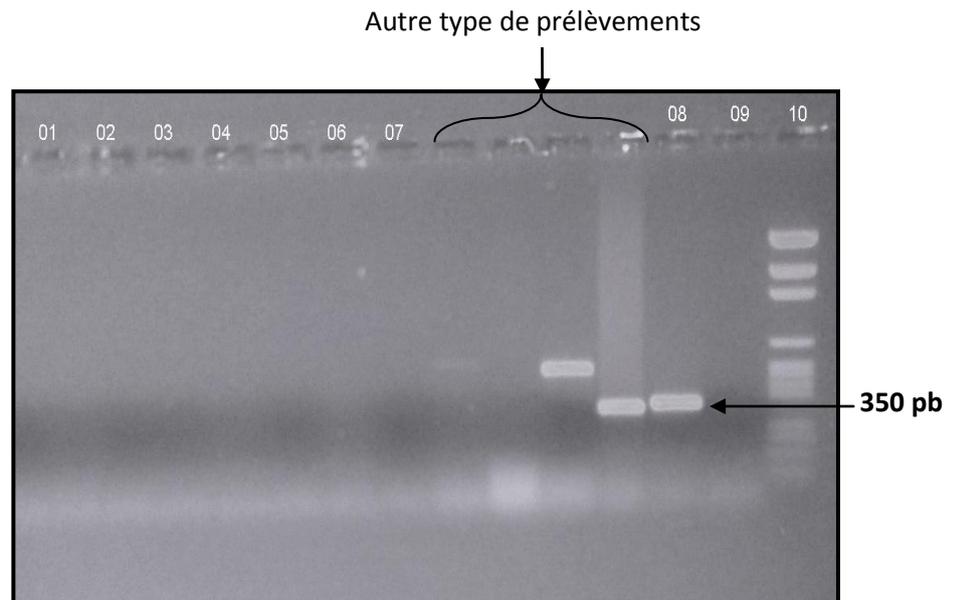


Figure 8.11 : Résultats de la PCR (ITS1) d'échantillons de phlébotomes : 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 correspondent aux pools, 8 témoin positif, 9 témoin négatif, et 10 marqueur de taille (Phot. personnelle).

La PCR montre que tous les phlébotomes (*Phlébotomus perniciosus*) capturés dans les deux stations (Kherrata et Amizour) ont donné un résultat négatif. Ceci serait probablement dû au fait qu'ils ne soient pas porteurs d'ADN leishmanien. Cependant, quelques cas positifs étaient présents chez les ectoparasites (tiques et puces). Ces derniers sont représentés dans le tableau 8.5 et la figure 8.12.

Tableau 8.5 : Résultat de la PCR standard sur des prélèvements de puces et de tiques.

N° de Chien	N° de pool	Espèce, nombre et sexe de l'ectoparasite.	PCR
CN1	01	<i>Ctenocephalides canis</i> (N =10 ♀)	Négative
	02	<i>Ctenocephalides canis</i> (N = 9 ♀)	Négative
	03	<i>Ctenocephalides canis</i> (N = 2 ♂)	Négative
	04	<i>Ctenocephalides felis</i> (N = 5 ♀)	Négative
CN2	05	<i>Ctenocephalides canis</i> (N =10 ♀)	Négative
	06	<i>Ctenocephalides canis</i> (N =10 ♀)	Négative
	07	<i>Ctenocephalides canis</i> (N =10 ♀)	Positive
	08	<i>Ctenocephalides canis</i> (N =10 ♀)	Positive
	09	<i>Ctenocephalides canis</i> (N =10 ♀)	Négative
	10	<i>Ctenocephalides canis</i> (N = 8 ♀)	Positive
CN3	11	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> (N = 5 ♀)	Négative
	12	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> (N = 5 ♀)	Négative
	13	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> (N = 4 ♀)	Négative
	14	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> (N = 2 ♂)	Négative

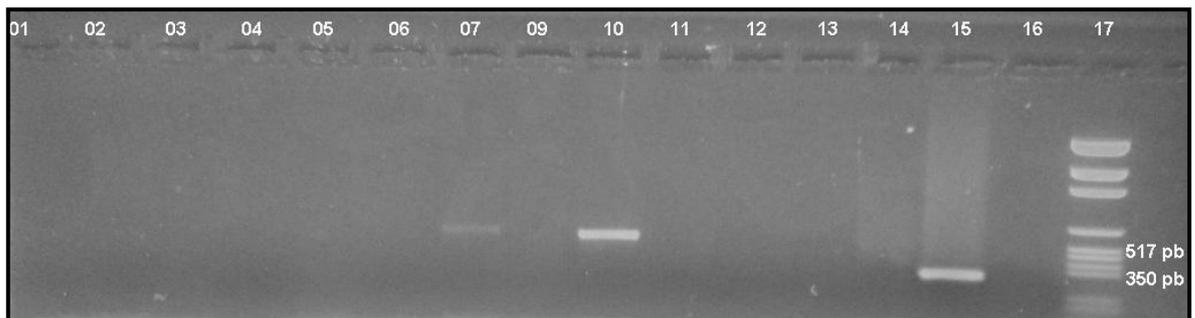


Figure 8. 12 : Résultats de la PCR (ITS1) d'échantillons de puces (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, et 10) et de tiques (11, 12,13, et 14), 15 témoin positif, 16 témoin négatif, et 17 marqueur de taille (Phot. personnelle)..

Les résultats de la PCR effectuée sur les prélèvements de sang et des ganglions des chiens leishmaniens sont synthèses dans le tableau 8.6.

Tableau 8.6 : Résultat de la PCR standard sur des prélèvements de ganglions et de sang.

Type de prélèvement	PCR positive	PCR négative	TOTAL
Ganglions	18	00	18
Sang	00	03	03
Total	17	03	21

Parmi les 21 échantillons traités par PCR-ITS1, 18/21 se sont révélés positifs, et 03/21 ont été négatifs en diagnostic moléculaire. Nous signalons que tous les échantillons ont été prélevés des chiens séropositifs.

8.3.2 Résultats de la PCR-RFLP

Les résultats obtenus à partir de la révélation des fragments nucléiques suite à la PCR-RFLP sont représentés dans la figure 8.13. Nous remarquons que les échantillons de ganglions, ont donné un profil qui est identique à celui de *leishmania infantum*. Par contre, les échantillons de puces on donné un profil qui ne ressemble à aucun profil des 3 espèces témoins.

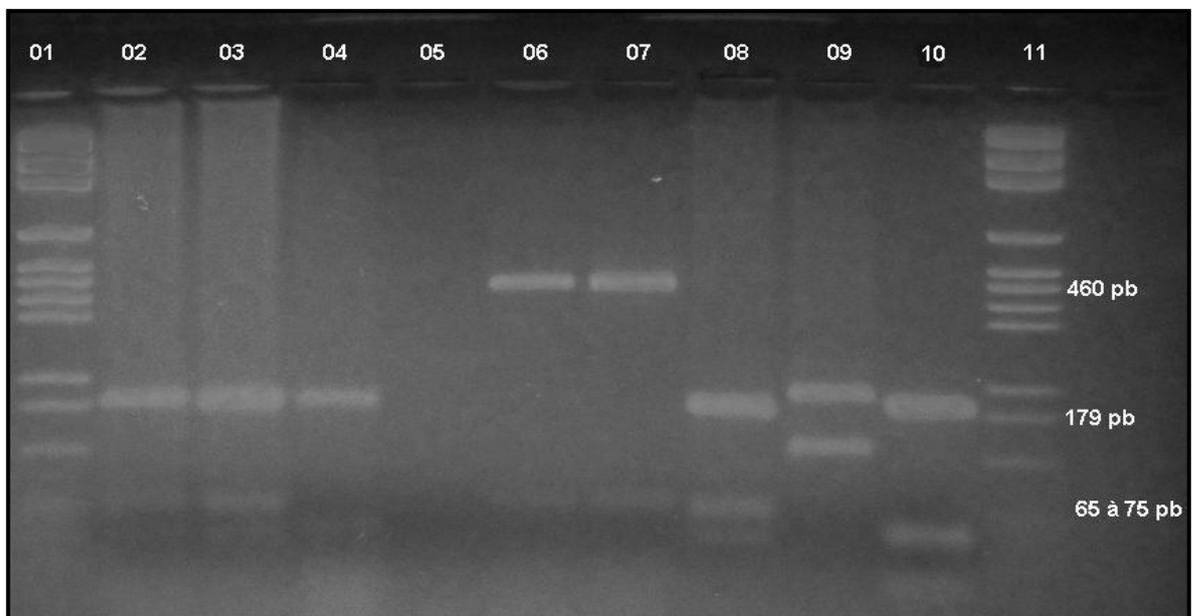


Figure 8.13 : Résultat de la PCR-RFLP des différents prélèvements sur gel d'agarose 3.5% : **6** et **11** Marqueur de taille ; **2, 3, 4** prélèvements de ganglion ; **5** prélèvement de sang ; **6, 7** prélèvement de puce ; **8** souche de ref *L. Infantum* ; **9** souche de ref *L. Major*, **10** souche de ref *L. Killicki*, (Phot. personnelle).

8.4 Discussion

L'analyse des produits d'amplification ITS1 des différents isolats a révélé que tous les spécimens de *Phlébotomus perniciosus* capturés dans les deux stations n'étaient pas porteurs d'ADN leishmanien. Ceci pourrait être expliqué par la courte durée (3 nuits) de piégeage, ce qui diminuerait la probabilité d'avoir des phlébotomes positifs. De plus, l'échantillonnage de ces derniers (phlébotomes) à été principalement effectué en septembre, saison qui coïncide avec l'émergence de la deuxième génération de vecteurs [129], ce qui pourrait expliquer nos résultats. En effet, l'activité des phlébotomes est liée aux périodes chaudes coïncidant avec les mois de juillet et d'août pour la région de Béjaia. Rioux *et al.* [50] ont démontré que l'élévation de la température augmentait considérablement la fréquence de l'infection des phlébotomes par les leishmanies.

Contrairement aux résultats précédents, la PCR était positive pour tous les isolats de ganglions (18). L'analyse des produits d'amplification a révélé une bande située entre 300 et 350 pb. Cependant, nous avons noté une PCR négative pour les trois prélèvements sanguins. Ceci pourrait être expliqué par l'altération de l'ADN génomique, par hémolyse des globules rouges d'une part et par le fait que la parasitémie dans la leishmaniose est extrêmement faible (Décrit dans la littérature). Ce qui ferait du sang un prélèvement de 2^{ème} choix pour le dépistage des infections leishmaniennes par la PCR [165].

Sur un total de 14 pools de puces et de tiques prélevées sur trois chiens leishmaniens, la PCR était positive pour trois pools de puces (*Ctenocephalides canis*). Néanmoins, le profil des fragments amplifié ne correspondait pas à ceux des témoins positifs. En effet, le poids moléculaire des bandes obtenues est égal à 517 pb. Il est supérieur à celui des leishmanies jusqu'à la identifiées. Pour savoir de quoi s'agit-il, il a fallu passer nos ADN à des techniques moléculaires plus sophistiquées telle que le séquençage, dont l'IPA ne n'en dispose pas.

Nous signalons que de nombreuses études ont été menées ces dernières années afin de savoir si les ectoparasites hématophages de chiens ne permettraient pas la transmission des leishmanies. Au Brésil, région endémique pour la leishmaniose, COUTINHO et ses collaborateurs [233] ont pu identifier pour la première fois (en 2005) l'ADN leishmanien chez des tiques (*R. sanguineus*) prélevées sur des chiens vivant dans une région où la séroprévalence de l'enzootie canine est très élevée. Ces mêmes auteurs ont pu produire l'infection chez des hamsters par simple inoculation de broyats de tiques infestés par *L. chagasi*. Cette dernière serait responsable de la leishmaniose canine et de la leishmaniose viscérale humaine dans le nouveau monde.

En 2012, Solano-Gallego et al. [234] ont pu détecter pour la première fois, en Italie, l'ADN de *L. infantum* chez 13 tiques (*R. sanguineus*) après avoir analysé 128 tiques prélevés de façon aléatoire sur des chiens vivant dans une région enzootique.

En 2007, COUTINHO et ses collaborateurs [235] étudièrent le rôle possible des puces de chien dans la transmission des Trypanosomatidés. En recueillant des puces sur 59 chiens séropositifs à la leishmaniose viscérale canine zoonotique, ils ont pu montrer que parmi ces dernières, 4/ 207 (1,9 %) ont révélé la présence de promastigotes dans les frottis colorés au Giemsa, tandis que 43/144 (29,9 %) ont présenté une réaction positive de la PCR. Par la suite, des inoculations à 36 hamsters par différentes voies (injection péritonéale et par voie orale) ont été effectuées. Après 6 mois, seize (16) hamsters ont été testés positifs pour l'infection à *Leishmania*, 14 sur la base de PCR et 4 par Immunofluorescence Indirecte (IFAT).

Quant à la PCR-RFLP, la digestion enzymatique des amplicons ITS1 nous a révélé deux profils différents: un profil correspondant à celui de *L. infantum* avec trois bandes et, un autre nouveau profil avec deux bandes ; la première et la deuxième bande ont un poids moléculaire de 460 et de 65 à 75 pb respectivement. Ce résultat vient de consolider notre hypothèse sur le fait que le génome amplifié à partir des puces, ressemble beaucoup plus à celui des leishmanies car la digestion enzymatique était positive, ce qui suppose la présence de la région de restriction.

La littérature rapporte qu'au moins 12 espèces de *Leishmania* ont été isolées de chiens infectés. Nos résultats concernant l'identification des espèces responsables de la leishmaniose canine à Béjaia viennent de confirmer que *Leishmania infantum* reste de loin l'agent étiologique le plus fréquemment incriminé.

8.5 Conclusion

L'étude moléculaire par PCR nous a permis de détecter la présence du parasite *Leishmania* à partir des différents prélèvements biologiques, provenant des chiens séropositifs. L'étude du polymorphisme de longueur des fragments de restriction nous a permis de mettre en évidence l'espèce causale de la leishmaniose canine à Béjaia. Il s'agit de *Leishmania Infantum*.

D'autres ectoparasites hématophages tels que les puces (*Ctenocephalides canis*) seraient susceptibles de jouer un rôle dans la transmission des leishmanies dans des zones endémiques. Si cela se confirme, l'épidémiologie de la leishmaniose serait plus complexe qu'auparavant.

CONCLUSION GENERALE

A Béjaia, au cours de cette dernière décennie (de 2003 à 2012) les leishmanioses viscérales et cutanées constituaient la première zoonose parasitaire avec une incidence de 141 cas. En effet, l'évolution du taux d'incidence des leishmanioses, dans cette région, montre une diminution non significative, et cela malgré les mesures draconiennes déployées par les autorités locales afin d'éradiquer ces zoonoses. Ainsi, les informations issues de cette actualisation épidémiologique relative aux leishmanioses humaines seront sans doute utiles dans l'évaluation de l'efficacité des mesures de lutte mises en place d'une part, et dans la prise de décision d'autre part.

L'enquête sérologique par IFI a pu mettre en évidence une répartition spatiale hétérogène de la leishmaniose canine. En effet, la séroprévalence dans la strate sub-littorale était supérieure à celle de la strate littorale. La séropositivité semble varier en fonction de l'âge et de l'activité du chien. Par contre, la race et le sexe semblent n'avoir aucun lien avec l'infection.

L'examen clinique a montré que la leishmaniose générale du chien exprimait fréquemment dans sa symptomatologie une adénomégalie considérée de ce fait comme le signe clinique le plus fréquent (20,16%). Viennent en suite les ulcérations, l'amaigrissement, l'abattement avec des fréquences voisines (12,60%). Les signes oculaires bien que cités dans la littérature étaient rarement décrits. Alors que d'autres signes comme les boiteries et les épistaxis étaient à peine décrits (comme dans la littérature). Cependant le portage asymptomatique était très important (près de 40%), mais il reste parfois inférieur à celui rapporté par certains auteurs. Ce dernier pourrait cependant être plus concrètement comparé au « phénomène de l'iceberg » où la partie immergée souvent inapparente cache l'immensité du phénomène.

Quant aux vecteurs, notre étude a permis de capturer et d'identifier l'espèce vectrice de la leishmaniose viscérale : *phlébotomus perniciosus*. Aucun

phlébotomus perfiliewi, vecteur de la leishmaniose cutanée sporadique, n'a été identifié. Toutefois, l'absence de phlébotomes là où la leishmaniose canine était présente (le cas de Tichy) laisse place à plusieurs hypothèses.

Enfin, l'étude moléculaire par PCR standard nous a permis, de mettre en évidence l'existence probable d'ADN leishmanien dans les différents prélèvements effectués. En effet, tous les phlébotomes femelles se sont avérés exempts d'ADN leishmanien. Cependant, d'autres ectoparasites prélevés des chiens leishmaniens semblent contenir un matériel génétique ressemblant à celui des leishmanies. La PCR-RFLP nous a permis, à son tour, d'identifier l'espèce causale : *leishmania infantum*.

RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

L'application des recommandations de l'OMS et de l'OIE concernant les leishmanioses humaine et canine devrait constituer l'ultime feuille de route dans la lutte ainsi que la prévention des leishmanioses. Inspirés de nos observations, nous voulions apporter et proposer en toute humilité nos propres recommandations et suggérer par la suite des perspectives de recherche qui pourraient intéresser des étudiants en post-graduation, des laboratoires de recherche, des acteurs dans le domaine de la santé public (etc...). Parmi ces recommandations et perspectives, nous citons :

- Evaluation objective des programmes de lutte mis en place par l'état ;
- Hiérarchisation nationale et départementale (par wilaya) des zoonoses dans l'objectif de déterminer les priorités et les moyens à mettre en œuvre afin d'améliorer la prévention et le contrôle de ces maladie ;
- La mise en place des programmes de lutte et de surveillance des leishmanioses doit être réalisée en collaboration avec des intervenants dans le domaine de la santé humaine et animale ;
- Amélioration de la prise en charge des patients au niveau des hôpitaux par la mise en place de moyens de diagnostic sensibles et rapides ;
- La lutte anti-vectorielle doit être maintenue et ciblée ;
- La lutte contre le réservoir canin doit se compléter par l'implantation des fourrières canines dans chaque wilaya ;
- Des enquêtes descriptives évaluant la séroprévalence de la leishmaniose canine dans les zones d'enzootie seraient souhaitables ;
- Des études épidémiologiques sur d'autres réservoirs (chats, chacals, renards) doivent être envisagées ;
- Des essais dans le domaine de préparation des vaccins à bases de souches algériennes doivent être initiés par nos laboratoire de recherche, entre autre, l'Institut Pasteur d'Algérie ;
- La surveillance active de l'émergence des souches stibio-résistantes.

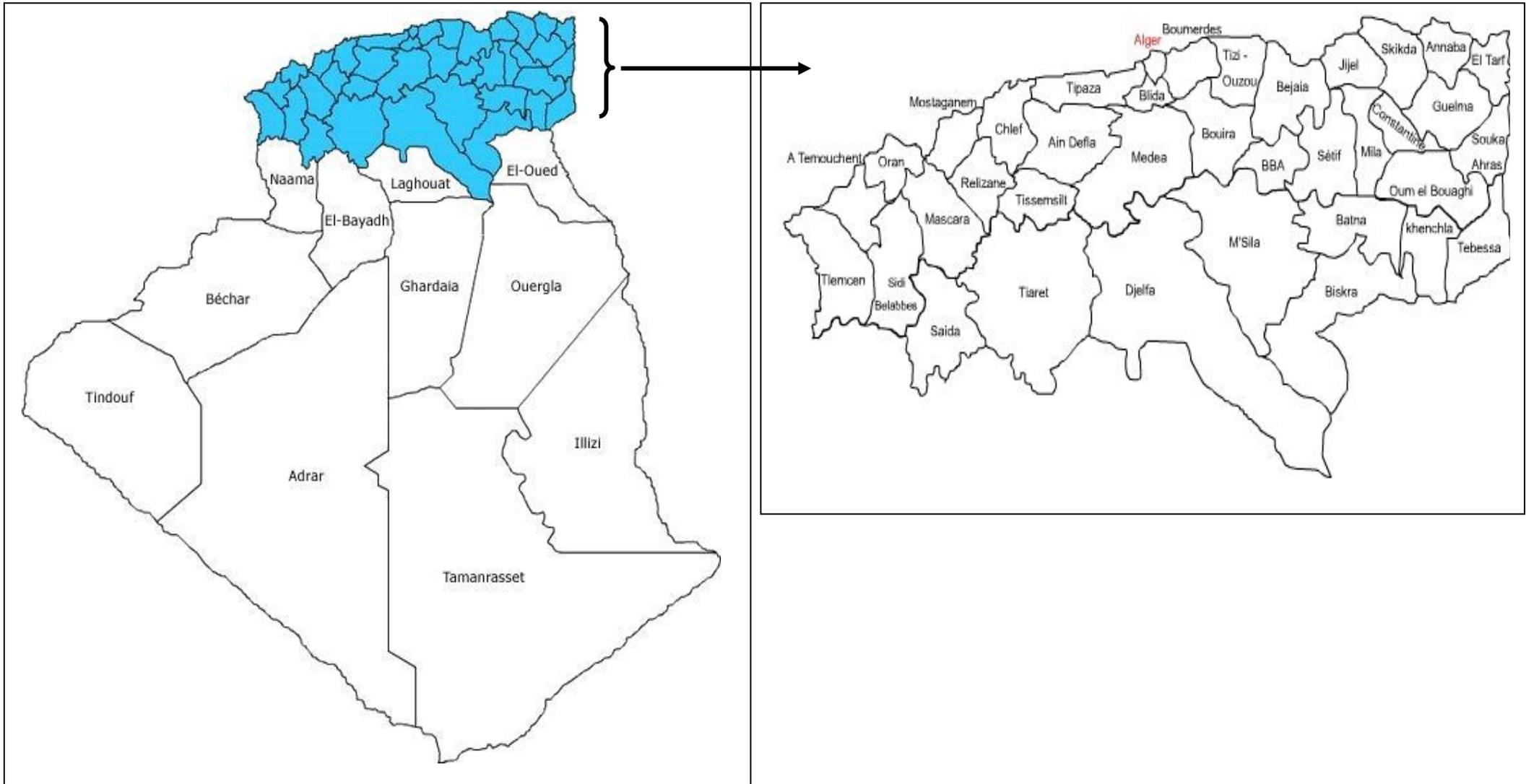
APPENDICE A
LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

Ac	: Anticorps.
ADN	: Acide Désoxyribonucléique.
AE	: Tampon d'éluion (Elution Buffer)
AMM	: Autorisation de Mise sur le Marché.
ARN	: Acide Ribonucléique.
ARNr	: Acide Ribonucléique.
ATL	: Tampon de lyse tissulaire (Tissue Lysis Buffer)
AW1	: Tampon de lavage 1 (Washer Buffer 1)
AW2	: Tampon de lavage 2 (Washer Buffer 2)
BET	: Bromure d'Ethidium
CD4, 8	: Cellules Dendritique type 4 et 8
CIE	: Contre-immunoélectrophorèse.
Cm	: Centimètre.
CNRL	: Centre National de Référence des Leishmanioses.
DAT	: Teste d'Agglutination Directe.
DDT	: Dichloro-Diphényl-Trichloréthane.
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbant assay.
H ₀	: Hypothèse nulle
H ₁	: Hypothèse alternative
HLA	: Human Leucocyte Antigen.
IFI	: Immunofluorescence Indirecte.
IFN- γ	: Interféron γ .
Ig	: Immunoglobuline.
IL	: Interleukine.
IM	: Intramusculaire.
INSP	: Institut National de Sante Publique.
I. N. S.P.	: Institut National de Santé Publique.
IPA	: Institut Pasteur d'Algérie.
ITS1	: internal transcribed spacer 1
IV	: Intraveineuse.

Km	: kilomètre
L.	: <i>Leishmania</i> .
LCH	: Leishmaniose cutanée humaine.
LDPKA	: Leishmaniose Diffuse Post Kala Azar.
LVH	: Leishmaniose viscérale humaine.
Mg	: Milligramme.
Min	: minute.
ml	: Millilitre.
MON	: Zymodème.
NK	: Natural Killer.
NNN	: NICOLLE, MC NEAL, NOVY
O. I. E.	: Office International des Épizooties.
O. M. S.	: Organisation Mondiale de la Santé.
ONS	: Office National des Statistiques.
OR	: Odds Ratio.
P.	: <i>Phlébotomus</i> .
pb	: pair de bases
PBS	: Phosphate Buffer Solution
PCR	: Polymérase Chain Reaction.
PCR-RFLP	: Polymérase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism
pH	: Potentiel Hydrogène.
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute Medium
SIDA	: Syndrome d'Immunodéficience Acquis.
TH1 et TH2	: Lymphocyte T helper 1 et 2
UV	: Ultraviolet.
VIH	: Virus d'Immunodéficience Humain.
WHO	: World Health Organization.
µm	: Micrometre.
µl	: Microlitre.

APPENDICE B

NOM ET SITUATION GEOGRAPHIQUE DE CHACUNE DES 48 WILAYAS



APPENDICE C

NOMBRE DE CAS DE ZONNOSES DECLARES DANS LA WILAYA DE BEJAIA
(DU 2003 AU 2012)

Année	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Maladies										
Tuberculose	482	484	463	419	411	536	550	498	486	443
Brucellose	00	03	01	01	00	04	02	02	00	02
Leishmaniose viscérale	12	11	16	05	04	09	07	09	02	01
Leishmaniose cutanée	07	12	10	07	04	04	05	08	05	03
Hydatidose	06	04	08	05	03	02	09	07	06	13
Fièvre boutonneuse	03	04	18	05	12	10	03	07	08	11
Paludisme	06	00	00	00	00	00	00	00	00	00
Leptospirose	00	02	00	02	04	04	02	01	03	00
Rage	00	01	00	00	02	01	03	00	00	00

APPENDICE D

DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES DES CAS DE LEISHMANIOSES HUMAINES
A BEJAIA. (DSP W- BEJAIA)

ANNEE 2012

MOIS	AGE	SEXE	ADRESSE	COMMUNE	DAIRA	TYPE DE LEISHMANIOSE
MARS	27 Ans	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
AOUT	06 Ans	M	DRAA EL GAID	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
DEC	04 Ans	M	IHEDDADEN	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
DEC	01 Ans	F	MERDJ-OUAMANE	AMIZOUR	AMIZOUR	VISCERALE

ANNEE 2011

MOIS	AGE	SEXE	ADRESSE	COMMUNE	DAIRA	TYPE DE LEISHMANIOSE
MARS	02 Ans	F	TAZMALT	TAZMALT	TAZMALT	VISCERALE
	07 Mois	M	BOUHAMZA	BOUHAMZA	SEDDOUK	CUTANEE
AVRIL	08 Mois	M	BOUHAMZA	BOUHAMZA	SEDDOUK	VISCERALE
	02 Ans	F	IGHIL - OUTOUAF	TIMEZRIT	SIDI AICH	CUTANEE
JUILLET	17 Mois	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
AOUT	26 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
	13 Mois	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE

ANNEE 2010

MOIS	AGE	SEXE	ADRESSE	COMMUNE	DAIRA	TYPE DE LEISHMANIOSE
JANVIER	28 Ans	M	DRAA EL GAID	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
AVRIL	24 Ans	M	TAZMALT	TAZMALT	TAZMALT	VISCERALE
	58 Ans	M	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	VISCERALE

	01 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
MAI	11 Mois	M	AIT R'ZINE	AIT R'ZINE	IGHIL ALI	CUTANEE
	27 Ans	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
JUIN	13 Mois	F	FERAOUN	FERAOUN	AMIZOUR	VISCERALE
JUILLET	02 Ans	M	TAZMALT	TAZMALT	TAZMALT	VISCERALE
	06 Ans	F	TAMOKRA	TAMOKRA	AKBOU	CUTANEE
AOUT	10 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
	07 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
SEPTEMBRE	01Ans	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
OCTOBRE	45 Ans	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
	08 MOIS	F	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	VISCERALE
NOUVEMBRE	03ANS	F	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	VISCERALE
DECEMBRE	1 ANS	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
	17 MOIS	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE

ANNEE 2009

MOIS	AGE	SEXE	ADRESSE	COMMUNE	DAIRA	TYPE DE LEISHMANIOSE
MARS	15 Mois	F	DRAA EL GAID	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
JUILLET	01 Ans	M	TIOURIRINE	OUZELLAGU EN	OUZELLAGU EN	CUTANEE
AOUT	13 Mois	M	LAZIB	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
	02 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
	02 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
SEPTEMBRE	27Ans	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
	20 Ans	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
	02 ANS	F	SIDI AICH	SIDI AICH	SIDI AICH	VISCERALE
NOUVEMBRE	17ANS	M	SIDI AICH	SIDI AICH	SIDI AICH	VISCERALE
	11 MOIS	M	SIDI AICH	SIDI AICH	SIDI AICH	VISCERALE
DECEMBRE	14 MOIS	F	AKBOU	AKBOU	AKBOU	VISCERALE
	03ANS	F	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	VISCERALE

ANNEE 2008

MOIS	AGE	SEXE	ADRESSE	COMMUNE	DAIRA	TYPE DE LEISHMANIOSE
AVRIL	09 Mois	F	SMINA	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
	02 Ans	M	MELLALA	OUED GHIR	BEJAIA	VISCERALE
	02 Ans	F	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
MAI	22 Ans	F	TAZMALT	TAZMALT	TAZMALT	CUTANEE
	17 Mois	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
JUIN	06 Ans	F	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
	09 Mois	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
	03 Ans	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
JUILLET	04 Ans	F	DRAA EL GAID	DRAA EL GAID	KHERRATA	VISCERALE
	04 Ans	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
	11 Ans	M	AKBOU	AKBOU	AKBOU	CUTANEE
OCTOBRE	30 Ans	M	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	CUTANEE
	14 Ans	M	AKBOU	AKBOU	AKBOU	VISCERALE

ANNEE 2007

MOIS	AGE	SEXE	ADRESSE	COMMUNE	DAIRA	TYPE DE LEISHMANIOSE
JUILLET	01 An	M	AZAGHAR	AKBOU	AKBOU	VISCERALE
	10 Ans	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
	02 Ans	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
	02 Ans	M	AKBOU	AKBOU	AKBOU	VISCERALE
AOUT	07 Mois	M	LAZIB	AKBOU	AKBOU	VISCERALE
OCTOBRE	10 Mois	F	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
DECEMBRE	08 Mois	F	DRAA EL GAID	DRAA EL GAID	KHERRATA	CUTANEE
	04 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE

ANNEE 2006

MOIS	AGE	SEXE	ADRESSE	COMMUNE	DAIRA	TYPE DE LEISHMANIOSE
JANVIER	08 Ans	M	AKBOU	AKBOU	AKBOU	CUTANEE
	05 Ans	M	EL KSEUR	EL KSEUR	EL KSEUR	VISCERALE
	04 Mois	M	KHERRATA	KHARRATA	KHERRATA	VISCERALE
FEVRIER	08 Ans	M	AKBOU	AKBOU	AKBOU	CUTANEE
MARS	01 Ans ½	M	TAZMALT	TAZMALT	TAZMALT	VISCERALE
JUIN	18 Mois	M	DRAA EL GAID	DRAA EL GAID	KHERRATA	VISCERALE
	06 Ans	F	TASKRIOUT	TASKRIOUT	DARGUINA	CUTANEE
JUILLET	03 Ans	M	TASKRIOUT	TASKRIOUT	DARGUINA	CUTANEE
	02 Ans	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
SEPTEMBRE	13 Mois	M	AMALOU	AMALOU	SEDDOUK	CUTANEE
	12 Mois	M	DARGUINA	DARGUINA	DARGUINA	CUTANEE
NOVEMBRE	05 Mois	F	IDERIKEN	TAZMALT	TAZMALT	VISCERALE

ANNEE 2005

MOIS	AGE	SEXE	ADRESSE	COMMUNE	DAIRA	TYPE DE LEISHMANIOSE
JANVIER	11 Mois	M	Tahmamt	AMIZOUR	AMIZOUR	VISCERALE
	03 Mois	M	Darguina	DARGUINA	DARGUINA	VISCERALE
	15 Mois	F	Draa el gaid	DRAA EL GAID	KHERRATA	VISCERALE
MARS	06 Mois	F	Draa el gaid	DRAA EL GAID	KHERRATA	CUTANEE
	10 Mois	M	Djermouna	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
AVRIL	03 Ans	F	Kherrata	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
	09 Mois	M	Kherrata	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
	30 Mois	M	Kherrata	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
	17 Mois	F	Tifrit	AKBOU	AKBOU	CUTANEE
	03 Ans	M	Melbou	MELBOU	SOUK EL-TENINE	VISCERALE
MAI	10 Mois	F	Tamridjet	TAMRIDJET	SOUK EL-	VISCERALE

					TENINE	
	10 Ans	F	El Kseur	EL KSEUR	EL KSEUR	CUTANEE
	13 Mois	M	Ighil Ouyazoug	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
JUIN	40 Ans	F	Bejaia	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
	11 Mois	F	Cap - Sigli	TOUDJA	EL KSEUR	CUTANEE
	17 Mois	F	Akbou	AKBOU	AKBOU	CUTANEE
	20 Mois	M	Kherrata	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
JUILLET	02 Ans	M	Kherrata	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
	01 Ans	F	Taskriout	TASKRIOUT	DARGUINA	VISCERALE
SEPTEM BRE	06 Ans	F	B- Maouche	B- MAOUCHE	B- MAOUCHE	CUTANEE
OCTOBR E	02 Ans	M	Kherrata	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
	32 Ans	F	Souk El Tenine	SOUK EL TENINE	SOUK EL TENINE	CUTANEE
NOVEMB RE	15 Mois	F	Ikhetaben	ADEKAR	ADEKAR	VISCERALE
	17 Mois	F	Akbou	AKBOU	AKBOU	CUTANEE
	18 Mois	M	Ait R'zine	AIT R'ZINE	IGHIL ALI	VISCERALE
	06 Ans	F	B- Maouche	B- MAOUCHE	B- MAOUCHE	CUTANEE

ANNEE 2004

MOIS	AGE	SEXE	ADRESSE	COMMUNE	DAIRA	TYPE DE LEISHMANIOSE
JANVIER	01 An	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
	09 Mois	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
	25 Ans	M	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	CUTANEE
	11 Mois	F	SIDI AICH	SIDI AICH	SIDI AICH	VISCERALE
	09 Mois	M	SIDI AICH	SIDI AICH	SIDI AICH	VISCERALE
FEVRIER	01 An	M	SIDI AICH	SIDI AICH	SIDI AICH	VISCERALE
	03 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
	08 Mois	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
MARS	07 Mois	M	SIDI AICH	SIDI AICH	SIDI AICH	VISCERALE
	01 An	M	AKBOU	AKBOU	AKBOU	CUTANEE
	02 Ans	F	AKBOU	AKBOU	AKBOU	CUTANEE
AVRIL	10 Mois	F	AKBOU	AKBOU	AKBOU	CUTANEE
MAI	04 Ans	M	AKBOU	AKBOU	AKBOU	CUTANEE

JUILLET	02 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
	02 Ans	F	AKBOU	AKBOU	AKBOU	CUTANEE
	03 Ans	F	SIDI AICH	SIDI AICH	SIDI AICH	CUTANEE
SEPTEMBR	01 An	F	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
OCTOBRE	03 Ans	F	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
	30 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
NOUVEMBRE	07 Mois	F	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
	02 Ans	M	AKBOU	AKBOU	AKBOU	VISCERALE
DECEMBRE	01 An	F	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	VISCERALE
	04 Ans	M	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	VISCERALE

ANNEE 2003

MOIS	AGE	SEXE	ADRESSE	COMMUNE	DAIRA	TYPE DE LEISHMANIOSE
JANVIER	01 An	M	SIDI AICH	SIDI AICH	SIDI AICH	VISCERALE
MARS	03 Ans	F	SIDI AICH	SIDI AICH	SIDI AICH	VISCERALE
	09 Mois	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
MAI	02 Ans	F	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	VISCERALE
	10 Mois	F	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	CUTANEE
	04 Ans	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
	17 Ans	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	CUTANEE
JUIN	01 An	M	AKBOU	AKBOU	AKBOU	VISCERALE
	03 Ans	M	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	CUTANEE
JUILLET	07 Mois	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	VISCERALE
	01 An	F	AKBOU	AKBOU	AKBOU	VISCERALE
	09 Mois	F	AMIZOUR	AMIZOUR	AMIZOUR	VISCERALE
	03 Ans	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
	04 Ans	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
AOUT	03 Ans	F	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
	04 Ans	M	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
SEPTEMBR	02 Ans	F	KHERRATA	KHERRATA	KHERRATA	VISCERALE
NOVEMBRE	02 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE
	04 Ans	M	BEJAIA	BEJAIA	BEJAIA	CUTANEE

APPENDICE E

NOMBRE D'HABITANTS PAR COMMUNE (WILAYA DE BEJAIA) SELON LE
RECENSEMENT GENERAL DE LA POPULATION ET DE L'HABITAT 2008.

Cummunnes	Nombre d'habitants
Béjaia	177 988
Oued Ghir	19 346
Total daïra	197 334
Amizour	37 563
Feraoun	15 482
Semaoun	13 616
Beni Djellil	7 795
Total daïra	74 456
Timezrit	25 853
Total daïra	25 853
Souk El tenine	14 045
Melbou	11 396
Tamridjet	8 413
Total daïra	33 854
Tichy	16 546
Tala Hamza	11 675
Boukhelifa	8 766
Total daïra	36 987
Ighil Ali	9 526
Ait R'zine	14 563
Total daïra	24 089
Darguina	14 146
Taskriout	16 142
Ait SMail	11 783
Total daïra	42 071
Aokas	15 990
Tizi N'berber	12 624
Total daïra	28 614
Adekar	13 068
Taurirt Ighil	6 653
Beni k'sila	4 385
Total daïra	24 106
Akbou	53 282
Chellata	9 770
Tamokra	4 015
Ighram	12 387
Total daïra	79 454
Seddouk	20 572
M'cisna	7 941
Amalou	8 602
Bouhamza	9 123

Total daira	46 238
Tazmalt	28 891
Beni Melikeche	8 497
Boudjellil	11 486
Total daira	48 874
Chemini	15 274
Souk Oufela	8 930
Tibane	5 060
Akfadou	7 358
Total daira	36 622
Barbacha	16 900
Kendira	5 364
Total daira	22 264
Ouzellaguen	22 719
Total daira	22 719
Sidi Aich	13 775
Tinebdhar	5 815
Tifra	8 399
Sidi Ayad	5 416
El flaye	6 433
Total daira	39 838
El kseur	29 843
F. El Mathen	11 825
Toudja	9 827
Total daira	51 495
Kherrata	35 077
Draa El kaid	29 222
Total daira	64 299
Beni Maouche	13 412
Total daira	13 412
Total Wilaya	912 579

APPENDICE F

REPARTITION DES COMMUNES SELON LES DEUX STRATES PREDEFINIES.

Communes appartenant à la strate littorale (15)
Béjaia
Oued Ghir
Aokas
Souk El tenine
Amizour
Melbou
Tamridjet
Boukhelifa
Tala Hamza
Darguina
Tizi N'berber
Tichy
Beni k'sila
El kseur
Toudja

Communes appartenant à la strate sub-littorale (37)
Timezrit
Semaoun
Beni Djellil
Ighil Ali
Ait R'zine
Draa El kaid
Ait SMail
Adekar
Taurirt Ighil
Feraoun
Akbou
Chellata
Tamokra
Ighram
Seddouk
M'cisna
Amalou
Bouhamza
Tazmalt
Beni Melikeche
Boudjellil
Chemini
Souk Oufela
Tibane
Akfadou
Barbacha
Kendira
Ouzellaguen
Sidi Aich
Tinebdhar
Tifra
Sidi Ayad
El flaye
F. El Mathen
Kherrata
Taskriout
Beni Maouche

APPENDICE G

EXTRAIT D'UNE TABLE DE NOMBRES AU HASARD

	06318	25019	79125	56761
	96593	58161	04253	18420
13	614	44281	01807	52716
05	585	31616	71810	96974
50	424	17376	31496	61292
54	533	60100	31988	76790
40	558	41321	46058	16234
23	047	17672	16026	50248
57	302	42154	26360	82660
88	418	23878	87780	88651
89	309	67546	62072	90626
02	338	99984	20600	37661
	52795	28307	90374	21686
	04828	62488	46999	99007
	37018	55650	64280	49617

APPENDICE H

VILLAGES CONSTITUANT LES 6 COMMUNES SELECTIONNEES DANS LE
PREMIER DEGRE

Communes	Villages
AMIZOUR (62 villages)	Aït Mana , Ibezghichène, Ighil Ibezghane, Cité Merj Ouamane , Amalou, Aguemoun, Leflih, Aït Yahia, Tazrout Ikharezène, Ferghine, Ikerkouchène, Aït El Kicher, Ibitoutène, Ihadjaren Ouada, Ihedjrane Oufella, Aït Mizi , Imaaziouène, Azrou, Ibakourène, , Iferachène, Aït Imaouche, Ighil N'Chiha, Tizi Neftah, Ighil Ialouanène, Bou Ouchène, Tazrout , Tariket, Ouaoucha, Drari, Tagroudja, El Hamma , Chelhab, Aregrag, Tassira, El A'dja, Taguemount, Targa Ourirène, Boulazazène, Taououarzegnit, Tizi Ouchène, Takarabt, Berri, El Kitoun, Xantina, Berdoune, , Aafra, Ahamem, Tikheroubine, Sidi Abdelhadi, Amizour centre, Boukhalfa, Tazrou N'Zaïd, Ihedjarène Ouféla, Boudjouad, Ighil Iferguène, Amayaz, Iharkane, Boudelsène, Debha, Tabouakt, Ikrourene, Tadert Tamoukrant .
TICHY (31villages)	Tichy centre, Izoumam, Tala Meloult , Taourirt Ikhelafène, Taount, Leftel , boumeloul, Tagouba, Ikherbane, Tibizelt, Ighil Isly, Turkine, Amalou, El Mizab, Lemaaden, Cité Ben Said, Tizi Ahmed, Tikhribt, Berber, Afalou , Ihaloufène, Tizi Khelaf, Boukherou, Mahoui, Taourirt Ifouzar, Boussoumer, Tahalker, Boukhazoubène, Larbaa, Club hyppique, Targua.
KHERRATA (18 villages)	Ait Laazib, Ahamam, Tala Ouderadji, Sebouka, El Manchar « Ouafra », Tamalahth, Makam « Chahid », Tabia, Bouzaraoune , Bradma, Ighil Imilen , Tiaouinine, Akhroub, Mehrira, Kherrata

	centre.
DRAA EL KAID (22 villages)	Takliat, Timoulah, Azaghar, Maida, Adjiouane, Rehamine, Takaroubth, Bouzougla, Snadla « Bouizane » , Berzakh, Ait Saada, Mredi Moumen , Dradra, Bahane, Biada, Ait Choug, Ait Abdenbi, Hamama, Tizi El Khemis, Bouharou, Mechtarfa, Sidi Boudjri.
TIFRA (24 villages)	Tifra centre , Tizi-Tifra, Laazib-Tifra, Sillal, Assam, Izoughlamene, Fettala, Tala Amrouche, Flih, Ibouraine, Louta, Kela-Ouadda, Hammam-Sillal , Tizamourine, Iguer-Ghozrane, M'zid, Henied, Tighilt, Tasga, Taourirt-Ouaissa, Ait-Mahiou, Ait-Achour, Tafraout, Agueni-Tezgui.
TAZMALT (21 villages)	Tazmalt centre, Tiouririne , Tinessouine, Ibehlel, Idhrikène, Roudha, Hirouche, Ikherbane, Bir el Ksar, Mezerzour, Ichikar, Tazribt, Allaghène , Laazib Sidi Ali, Timedthit, Tassergante, Boubaloui, Tigounatine, Aït Sidi Omar, Tabaallt, Aït Mohand Ouali.

APPENDICE I
FICHE DE RENSEIGNEMENTS

- Date :
- Commune : Village :
- Nom et Prénom du propriétaire :
- Mobile :
- Identification :

Race	Sexe	Age	Origine	Activité

- Nature du prélèvement :
- Numéro du prélèvement :
- Port de colliers antiparasitaires : oui non
- Symptômes observés :

APPENDICE J

Tableaux récapitulatifs des résultats sérologiques selon la race, le sexe, l'âge, l'activité du chien et les signes cliniques observés.

Strate I

N° du chien	Race	Sexe	Age	Activité	Signes cliniques	IFI > 1/80
1	Berger allemand	femelle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
2	Commune	mâle	8 ans	CN de garde	abattement, anorexie, squamosis, amaigrissement, adénomégalie, hyperkératose, aspect de vieux	Positif
3	Commune	femelle	1an	CN berger	amaigrissement	Négatif
4	Commune	femelle	10 ans	CN de garde	amaigrissement, abattement, lésions cutanées.	Négatif
5	Berger allemand	femelle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
6	Berger allemand	mâle	9 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
7	Rottweiler	femelle	2 ans	CN de garde	dépilation, adénopathie	Négatif
8	Commune	mâle	6 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
9	Commune	mâle	1 an	CN berger	dépilation localisée, amaigrissement.	Négatif
10	Commune	femelle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
11	Commune	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
12	Berger allemand	femelle	4 ans	CN de garde	amaigrissement, abattement, ulcères, dépilation, épistaxis, adénopathie, conjonctivite.	Positif
13	Bouvier bernois	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
14	Commune	mâle	7 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
15	Griffon à poil dur	mâle	8 ans	CN de chasse	Dépilation, ulcères, onychogribose,	Positif
16	Commune	mâle	3 ans	CN de garde	amaigrissement.	Négatif
17	Commune	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
18	Commune	femelle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
19	Berger belge	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
20	Commune	mâle	4 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
21	Commune	mâle	2 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
22	Braque allemand	mâle	2 ans	CN de garde	Conjonctivite.	Négatif
23	Commune	mâle	18 mois	CN de garde	dépilation, abattement.	Négatif
24	Dalmatien	mâle	14 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
25	Épagneul	mâle	1 an	CN de	R.A.S	Négatif

	breton			chasse		
26	Commune	mâle	1 an	CN de chasse	R.A.S	Négatif
27	Springer anglais	mâle	5 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
28	Commune	femelle	5 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
29	Commune	mâle	8 ans	CN de chasse	Dépilation, ulcères, apathie, amaigrissement, adénopathie, aspect de vieux.	Positif
30	Commune	mâle	4 ans	CN de garde	ulcères, adénopathie	Négatif
31	Commune	mâle	1 an	CN de garde	abattement.	Négatif
32	Berger allemand	femelle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Positif
33	Berger allemand	femelle	7 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
34	Commune	mâle	9 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
35	Epagneul breton	mâle	2 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
36	Commune	mâle	8 ans	CN de garde	abattement, amaigrissement.	Négatif
37	Rottweiler	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
38	Rottweiler	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
39	Rottweiler	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
40	Commune	femelle	3 ans	CN errant	Amaigrissement, dépilation.	Négatif
41	Commune	mâle	4 ans	CN errant	Amaigrissement, dépilation, ulcères.	Négatif
42	Berger allemand	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
43	Berger allemand	femelle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
44	Commune	femelle	5 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
45	Beagle	mâle	2 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
46	Commune	mâle	14 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
47	Commune	mâle	12 ans	CN de garde	Rhinite chronique.	Négatif
48	Commune	femelle	11 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
49	Commune	mâle	16 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
50	Commune	mâle	4 ans	CN de chasse	abcès, adénopathie	Négatif
51	Beagle	mâle	4ans + 1/2	CN de chasse	R.A.S	Négatif
52	Griffon à poil dur	mâle	3 ans	CN de chasse	ulcères, adénopathie.	Négatif
53	Caniche	mâle	4 ans	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
54	Commune	femelle	1an	CN de garde	R.A.S	Négatif
55	Berger allemand	mâle	18 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif

56	Commune	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
57	Commune	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
58	Berger allemand	femelle	10 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
59	Commune	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
60	Braque allemand	femelle	1 an	CN de chasse	R.A.S	Négatif
61	Commune	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
62	Commune	femelle	2 ans	CN de garde	amaigrissement, onychogribose.	Négatif
63	Commune	femelle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
64	Commune	mâle	6 ans	CN de garde	lésions cutanées, adénopathie.	Négatif
65	Commune	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
66	Commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
67	Beauceron	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
68	Commune	mâle	18 mois	CN de garde	Abattement, adénopathie prononcée.	Négatif
69	Commune	femelle	5 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
70	Commune	mâle	7 ans	CN berger	Aspect de vieux, gangrène au niveau des oreilles, adénopathie.	Positif
71	Commune	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
72	Springer anglais	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
73	Commune	mâle	10 ans	CN errant	amaigrissement, abattement, anémie, ulcères, hyperkératose, onychogryphose, conjonctivite mucopurulente, érosion buccales, dépilation	Négatif
74	Berger allemand	mâle	4 ans	CN de garde	abattement, lésions localisées au niveau des oreilles (gangrène auriculaire), squamosis, onychogribose.	Positif
75	Commune	mâle	3 ans	CN de chasse	ulcères, dépilation, amaigrissement, abattement, adénopathie.	Positif
76	Commune	mâle	5 ans	CN de garde	abattement, aspect de vieux.	Négatif
77	Commune	femelle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
78	Commune	femelle	9 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
79	labrador	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
80	Bouledogue	mâle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
81	Commune	mâle	18 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
82	Dobermann	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
83	Commune	mâle	8 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
84	Berger allemand	femelle	6 ans	CN de garde	dépilation localisée.	Négatif

85	Épagneul breton	mâle	2 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
86	Commune	femelle	1 an	CN errant	R.A.S	Négatif
87	Berger belge	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
88	boxer	mâle	14 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
89	Commune	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
90	Berger allemand	femelle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
91	Commune	femelle	6 ans	CN de garde	lésions au niveau des oreilles, abattement, amaigrissement, adénopathie.	Positif
92	Berger allemand	mâle	12 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
93	Berger allemand	femelle	9 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
94	Beagle	mâle	8 mois	CN de garde	lésions au niveau des oreilles.	Négatif
95	Berger allemand	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
96	commune	mâle	14 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
97	Épagneul breton	mâle	3 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
98	Épagneul breton	mâle	3 ans	CN de chasse	rhinite, larmolement, hyperthermie.	Négatif
99	Berger allemand	femelle	3 ans 1/2	Chien de compagnie	R.A.S	Négatif
100	Berger belge	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
101	Commune	femelle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
102	Berger allemand	femelle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
103	Berger belge	mâle	14 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
104	Commune	mâle	7 ans	CN berger	Abattement, lésions cutanées.	Négatif
105	Berger allemand	mâle	9 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
106	Berger allemand	mâle	16 mois	CN de garde	Amaigrissement, dépilation, poly-adénopathie.	Négatif
107	Berger allemand	mâle	9 mois	CN de garde	Amaigrissement, dépilation, lésions.	Négatif
108	Pitt bull	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
109	commune	mâle	2 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
110	commune	mâle	4 ans	CN de chasse	Abattement.	Négatif
111	commune	mâle	8 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
112	Pitt bull	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
113	Pitt bull	mâle	9 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
114	Commune	mâle	7 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
115	Commune	mâle	13 ans	CN de garde	Amaigrissement,	Négatif

					lésions cutanées.	
116	commune	mâle	3 ans	CN berger	Lésions cutanées, Onychogryphose, amaigrissement, gangrène au niveau des oreilles, adénopathie.	Positif
117	Berger allemand	mâle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
118	Épagneul breton	mâle	1 an	CN de chasse	R.A.S	Négatif
119	commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
120	griffon	mâle	2 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
121	commune	femelle	7 ans	CN berger	R.A.S	Positif
122	commune	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
123	commune	mâle	2 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
124	Berger allemand	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
125	Berger allemand	mâle	4 ans	CN de garde	Dépilation, prurit.	Négatif
126	commune	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
157	commune	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
128	Boxer	mâle	16 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
129	commune	mâle	8 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
130	commune	femelle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
131	commune	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
132	Berger belge	mâle	3 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
133	commune	femelle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
134	Staph américain	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
135	commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
136	Boxer	mâle	7 ans	CN de garde	Pododermite et poly-adénopathie.	Positif
137	Griffon à poil dur	mâle	16 mois	CN de chasse	Lésions cutanées, Onychogryphose, poly-adénopathie bien prononcée.	Négatif
138	Beagle	mâle	1 an	CN de chasse	R.A.S	Négatif
139	Griffon	mâle	4 ans	CN de chasse	Onychogryphose, conjonctivite.	Négatif
140	Commune (hadjadj)	mâle	7 mois	CN de garde	Dépilation, nodules cutanés, abattement, amaigrissement, parakératose, squamosis.	Positif
141	rottweiler	femelle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
142	commune	femelle	10 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
143	Springer anglais	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
144	commune	mâle	3 ans	CN berger	R.A.S	Négatif

145	Commune	femelle	2 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
146	Commune	mâle	13 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
147	commune	mâle	4 ans	CN berger	Abattement, dépilation.	Négatif
148	Commune	femelle	3 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
149	Dogue allemand	mâle	5 ans	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
150	Commune	mâle	6 ans	CN de garde	Lésions cutanées.	Négatif
151	commune	mâle	1 an	CN errant	R.A.S	Négatif
152	Berger allemand	femelle	6 ans	CN de garde	R.A.S	Positif
153	Dobermann	mâle	5 ans	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
154	Commune	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
155	Berger allemand	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
156	Berger allemand	femelle	8 ans	CN de garde	Adénopathie poplitée, ulcères au niveau des oreilles, abattement.	Négatif
157	commune	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
158	commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
159	commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
160	commune	mâle	10 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
161	commune	mâle	16 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
162	Commune	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Positif
163	commune	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
164	Berger allemand	mâle	9 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
165	labrador	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
166	Pointer anglais	mâle	1 an	CN de chasse	R.A.S	Négatif
167	commune	mâle	6 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
168	Berger allemand	mâle	7 mois	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
169	Berger allemand	femelle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
170	Commune	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
171	caniche	femelle	19 mois	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
172	commune	mâle	1 an	CN de garde	Lésions au niveau des oreilles.	Négatif
173	commune	mâle	12 ans	CN de chasse	R.A.S	Positif
174	commune	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
175	Braque allemand	femelle	15 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
176	commune	mâle	1 an	CN berger	R.A.S	Négatif
177	Berger allemand	femelle	3 ans	CN de garde	Ulcères au niveau des oreilles.	Négatif
178	commune	mâle	15 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
179	Berger belge	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif

180	commune	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
181	rottweiler	femelle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
182	Griffon à poil dur	mâle	6 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
183	commune	femelle	4 ans	CN berger	R.A.S	Négatif

Strate II

N° du chien	Race	Sexe	Age	Activité	Signes cliniques	IFI > 1/80
1	Commune	femelle	3 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
2	Commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
3	Commune	femelle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
4	Beauceron	mâle	18 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
5	Commune	mâle	2 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
6	Commune	mâle	7ans	CN de garde	amaigrissement, lésions cutanées,	Négatif
7	Commune	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
8	Berger allemand	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
9	Berger allemand	femelle	7 mois	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
10	Berger allemand	femelle	3 ans	CN de garde	amaigrissement, ulcères, dépilation, adénopathie, arthralgie, onychogryphose.	Positif
11	Commune	mâle	3 ans + 1/2	CN de garde	R.A.S	Négatif
12	Pitbull	mâle	8 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
13	Commune	mâle	15 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
14	Commune	mâle	7 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
15	Commune	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
16	Commune	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
17	Commune	femelle	2 ans	CN errant	R.A.S	Négatif
18	Commune	mâle	4 ans	CN de garde	abattement, dépilation.	Négatif
19	Commune	mâle	2 ans	CN de garde	amaigrissement, conjonctivite.	Négatif
20	Berger allemand	femelle	13 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
21	Commune	mâle	2 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
22	Berger allemand	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
23	Commune	mâle	14 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
24	Commune	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
25	Commune	mâle	8 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
26	Berger allemand	femelle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
27	Berger allemand	femelle	7 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
28	Pitt bull	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
29	Commune	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif

30	Berger allemand	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
31	Labrador	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
32	Commune	mâle	1 an	CN de chasse	R.A.S	Positif
33	Commune	mâle	9 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
34	Commune	femelle	8 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
35	Berger allemand	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Positif
36	Staff	mâle	9 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
37	commune	mâle	4 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
38	Berger allemand	mâle	6 ans	CN de garde	Abattement, dépilation, hyperkératose, ulcères, escarres, dépilation en lunettes, adénopathie prononcé.	Négatif
39	Commune	mâle	4 ans	CN de chasse	Abattement, dépilation, ulcères cutanés, adénopathie poplitée.	Positif
40	Commune	femelle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
41	Berger allemand	femelle	8 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
42	Commune	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
43	Commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
44	Pitbull	mâle	5 ans	CN de garde	Conjonctivite.	Négatif
45	commune	femelle	3 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
46	Rottweiler	femelle	3 ans	CN de garde	Adénopathie poplitée	Positif
47	Commune	mâle	8 ans	CN de garde	Abattement, squamosis, kérato-conjonctivite, aspect de vieux, adénopathie, dépilation.	Positif
48 k	Commune	mâle	11 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
49	Commune	mâle	8 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
50	Commune	mâle	13 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
51	Commune	mâle	10 ans	CN de garde	Abattement, amaigrissement, hyperkératose, dépilation, squamosis, adénopathie poplitée, ulcères, conjonctivite.	Négatif
52	Berger allemand	mâle	18 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
53	Commune	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
54	Commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
55	Commune	femelle	7 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
56	Commune	mâle	6 ans	CN de garde	Abattement, amaigrissement, conjonctivite	Positif
57	Epagneul breton	mâle	20 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
58	Commune	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
59	Commune	femelle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
60	Commune	mâle	13 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif

61	Commune	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
62	Commune	mâle	2 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
63	Berger allemand	femelle	18 mois	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
64	Rottweiler	mâle	16 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
65	Commune	mâle	3 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
66	Commune	mâle	6 ans	CN de garde	Amaigrissement, abatement, boiteries.	Négatif
67	Commune	femelle	4 ans	CN de chasse	R.A.S	Positif
68	Dogue allemand	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
69	Commune	femelle	7 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
70	Commune		11 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
71	Boxer	femelle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Positif
72	Boxer	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
73	Commune	mâle	17 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
74	Commune	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
75	Commune	mâle	22 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
76	Berger allemand	femelle	14 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
77	Berger allemand	mâle	14 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
78	Commune	mâle	7 ans	CN de garde	Abatement.	Négatif
79	Commune	mâle	4 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
80	Commune	mâle	20 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
81	Griffon	mâle	3 ans + 1/2	CN de chasse	R.A.S	Positif
82	Commune	femelle	20 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
83	Berger belge	mâle	3 ans	CN berger	Uvéite unilatérale, adénopathie poplitée.	Positif
84	Berger allemand	femelle	4 ans	CN berger	Ulcère tumoral, abatement.	Négatif
85	Commune	femelle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
86	Commune	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
87	Pointer	mâle	2 ans	CN de chasse	Onychogryphose, pododermite.	Négatif
88	Commune	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
89	Doberman	femelle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
90	Doberman	mâle	15 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
91	Doberman	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
92	Commune	mâle	2 ans	CN errant	amaigrissement	Négatif
93	Commune	mâle	18 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
94	Commune	mâle	3 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
95	Caniche	femelle	5 ans	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
96	Griffon	mâle	8 ans	CN de chasse	Conjonctivite, onychogryphose, adénopathie, squamosis.	Positif
97	commune	femelle	7 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif

98	Commune	mâle	11 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
99	Commune	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
100	Berger allemand	femelle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Positif
101	Beauceron	mâle	16 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
102	Beauceron	femelle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
103	Beagle	femelle	3 ans +1/2	CN de chasse	R.A.S	Négatif
104	Commune	femelle	2 ans	CN berger	R.A.S	Positif
105	Commune	mâle	14 mois	CN de garde	Ulcères, dépilation, prurit, amaigrissement.	Négatif
106	Commune	mâle	10 mois	CN de garde	Diarrhée	Négatif
107	Epagneul	mâle	4 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
108	commune	mâle	1 an	CN berger	R.A.S	Négatif
109	labrador	mâle	4 ans	CN berger	Dépilation en lunette, escarres, poly-adénopathie, ulcères.	Positif
110	commune	mâle	2 ans + 1/2	CN de garde	R.A.S	Négatif
111	commune	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
112	Rottweiler	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
113	commune		17 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
114	Berger allemand	femelle	2 ans	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
115	Commune	mâle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
116	Commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
117	Commune	mâle	8 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
118	Berger allemand	mâle	11 mois	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
119	Commune	femelle	2 ans	CN de garde	Poly-adénopathie, toux.	Négatif
120	Pitt bull	mâle	3ans + 1/2	CN de garde	R.A.S	Négatif
121	Commune	mâle	18 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
122	Commune	mâle	27 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
123	Commune	mâle	3 ans	CN de chasse	Abcès nodulaire sur tout le corps.	Négatif
124	Beauceron	mâle	3 ans	CN de garde	Crises épileptiques	Négatif
125	Commune	mâle	6 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
126	Commune	mâle	7 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
157	Berger belge	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Positif
128	Commune	mâle	19 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
129	Rottweiler	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
130	Commune	mâle	23 mois	CN de chasse	Amaigrissement, dépilation au tour des yeux, squamosis, adénopathie poplitée.	Positif
131	Commune	mâle	2 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
132	Commune	mâle	14 mois	CN de	R.A.S	Négatif

				chasse		
133	Commune	mâle	8 ans	CN de garde	Abattement	Négatif
134	Berger allemand	mâle	30 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
135	Commune	femelle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
136	Commune	mâle	11 ans	CN de garde	Abattement, escarres, aspect de vieux, adénopathie poplitée.	Positif
137	Commune	mâle	20 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
138	Commune	femelle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
139	Commune	femelle	7 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
140	Commune	femelle	7 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
141	Commune	mâle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
142	Commune	mâle	18 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
143	Commune	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
144	Commune	mâle	22 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
145	Boxer	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
146	Commune	mâle	22 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
147	Springer anglais	mâle	4 ans + 1/2	CN de chasse	R.A.S	Négatif
148	Commune	mâle	2 ans	CN errant	Amaigrissement, dépilation.	Négatif
149	Epagneul	mâle	2 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
150	Commune	femelle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
151	Berger allemand	mâle	18 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
152	Commune	mâle	3 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
153	Beagle	mâle	2 ans +1/2	CN de chasse	R.A.S	Négatif
154	Commune	mâle	15 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
155	Commune	mâle	4 ans	CN berger	Abattement, dépilation.	Négatif
156	Commune	femelle	3 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
157	Dogue allemand	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
158	Berger belge	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
159	Beagle	mâle	5 ans	CN de chasse	Pododermite, adénopathie.	Négatif
160	Commune	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
161	Commune	mâle	4 ans +1/2	CN de garde	R.A.S	Négatif
162	Commune	mâle	27 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
163	Commune	mâle	8 mois	CN de garde	Amaigrissement.	Négatif
164	Commune	mâle	2 ans +1/2	CN de garde	R.A.S	Négatif
165	Berger allemand	femelle	4 ans	CN de compagnie	Onychogryphose, épistaxis.	Négatif
166	Berger allemand	mâle	9 ans	CN de garde	Adénopathie poplitée, onychogryphose.	Positif
167	Commune	mâle	1 an	CN berger	R.A.S	Négatif
168	Commune	mâle	9 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif

169	Commune	mâle	7 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
170	Beagle	femelle	21 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
171	Commune	mâle	2 ans + 1/2	CN de garde	R.A.S	Négatif
172	Commune	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
173	Commune	mâle	3 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
174	Commune	mâle	1an	CN berger	Amaigrissement, dépilation, démangeaison.	Négatif
175	Springer anglais	mâle	23 mois	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
176	Commune	mâle	10 ans	CN de garde	Abattement	Négatif
177	Commune	mâle	3 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
178	Commune	mâle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
179	Caniche	femelle	2 ans	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
180	Commune	femelle	8 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
181	Berger allemand	femelle	17 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
182	Commune	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
183	Commune	mâle	2 ans	CN errant	Amaigrissement	Négatif
184	Griffon	mâle	4 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
185	Griffon	mâle	1 an	CN de chasse	Vomissement, diarrhée déshydratation.	Négatif
186	Commune	mâle	14 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
187	Commune	mâle	2 ans	CN de garde	Ulcères, dépilation.	Négatif
188	Commune	mâle	3 ans +1/2	CN de chasse	Ulcères, dépilation, hypertrophie ganglionnaire, abattement, amaigrissement, prurit, parakératose, conjonctivite.	Positif
189	commune		1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif
190	Berger allemand	femelle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
191	Commune	mâle	15 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
192	Rottweiler	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
193	Boxer	mâle	5 ans	CN de garde	R.A.S	Positif
194	Commune	mâle	2 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
195	Berger allemand	femelle	7 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
196	Commune	mâle	18 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
197	Commune	mâle	14 mois	CN berger	R.A.S	Négatif
198	Epagneul breton	male	4 ans	CN de chasse	R.A.S	Négatif
199	Commune	mâle	13 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
200	Commune	femelle	4 ans	CN de garde	Prurit, dépilation.	Négatif
201	Commune	mâle	6 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
202	Commune	mâle	16 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif

203	Commune	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
204	Commune	mâle	10 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
205	Berger belge	femelle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
206	Doberman	femelle	8 ans	CN de compagnie	R.A.S	Négatif
207	Commune	mâle	1 an	CN berger	Amaigrissement	Négatif
208	Commune	mâle	6 ans	CN errant	Amaigrissement, adénopathie poplitée.	Positif
209	Commune	mâle	7 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
210	Beagle	Femelle	5 ans (10)	CN de chasse	R.A.S	Positif
211	Commune	mâle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
212	Commune	mâle	4 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
213	Commune	mâle	2 ans + 1/2	CN de garde	R.A.S	Négatif
214	Berger allemand	mâle	14 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
215	Commune	mâle	3 ans	CN berger	R.A.S	Négatif
216	Commune	Femelle	17 mois	CN de chasse	R.A.S	Négatif
217	Beauceron	mâle	20 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
218	Commune	Femelle	6 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
219	Commune	mâle	8 mois	CN berger	Amaigrissement, abatement, adénopathie.	Négatif
220	Epagneul	mâle	4 ans + 1/2	CN chasse	R.A.S	Négatif
221	Commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Positif
222	Commune	mâle	19 mois	CN de garde	R.A.S	Négatif
223	Commune	mâle	7 ans	CN de garde	Amaigrissement	Négatif
224	Commune	mâle	2 ans	CN de garde	R.A.S	Négatif
225	Commune	mâle	1 an	CN de garde	R.A.S	Négatif

Fourrière canine

N° du chien	Race	Sexe	Signes cliniques	IFI > 1/80
1	Commune	mâle	Amaigrissement (cachexie)	Négatif
2	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
3	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
4	Commune	mâle	Boiterie, dépilation, ulcères.	Négatif
5	Berger allemand	mâle	Amaigrissement, abattement, adénomégalie.	Positif
6	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
7	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
8	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
9	Commune	femelle	Amaigrissement, larmoiement	Négatif
10	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
11	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
12	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
13	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
14	Rottweiler	mâle	Dépilations localisé, adénomégalie, conjonctivite.	Positif
15	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
16	Berger allemand	femelle	R.A.S	Négatif
17	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
18	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
19	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
20	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
21	Commune	femelle	Abattement, dépilation, squamosis.	Positif
22	Berger allemand	femelle	Amaigrissement, dépilation localisée, adénomégalie,	Positif
23	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
24	Berger allemand	mâle	Abattement,	Négatif
25	Staff	mâle	R.A.S	Négatif
26	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
27	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
28	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
29	Beauceron	mâle	R.A.S	Négatif
30	Commune	mâle	R.A.S	Positif
31	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
32	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
33	Beagle	mâle	R.A.S	Négatif
34	Commune	femelle	Amaigrissement	Négatif
35	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
36	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
37	Boxer	mâle	R.A.S	Négatif
38	Berger belge	mâle	Dépilations, ulcères, squamosis adénomégalie, amaigrissement.	Positif
39	Commune	mâle	Amaigrissement, abattement	Négatif
40	Commune	femelle	R.A.S	Positif
41	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
42	Pitbull	mâle	R.A.S	Négatif
43	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
44	Commune	mâle	R.A.S	Négatif

45	Commune	femelle	R.A.S	Positif
46	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
47	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
48	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
49	Boxer	mâle	R.A.S	Négatif
50	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
51	Berger allemand	mâle	Anémie, hématurie, pyurie.	Négatif
52	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
53	Sloughi	mâle	Amaigrissement, dépilation	Négatif
54	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
55	Commune	femelle	R.A.S	Positif
56	Rottweiler	mâle	R.A.S	Négatif
57	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
58	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
59	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
60	Berger belge	mâle	Adénomégalie, ulcères au niveau des oreilles,	Positif
61	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
62	Berger allemand	femelle		Négatif
63	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
64	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
65	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
66	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
67	Berger belge	femelle	Crises épileptiques	Négatif
68	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
69	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
70	Doberman	femelle	Métrite, hyperthermie, abattement	Négatif
71	Berger allemand	femelle	Etat de choc (intoxication)	Négatif
72	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
73	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
74	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
75	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
76	Caniche	femelle	Tumeur cérébrale, abattement.	Négatif
77	Commune	mâle	Anémie prononcée, prurit, ulcères, adénomégalie.	Négatif
78	Braque	mâle	R.A.S	Négatif
79	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
80	Commune	mâle	R.A.S	Positif
81	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
82	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
83	Berger allemand	femelle	abattement, ulcères, onychogryphose, squamosis.	Positif
84	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
85	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
86	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
87	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
88	Bouledogue	mâle	Abattement, amaigrissement, dépilation, prurit, adénomégalie.	Négatif
89	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
90	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
91	Berger allemand	mâle	Ulcères	Négatif
92	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
93	Commune	femelle	Amaigrissement,	Positif

94	Beauceron	mâle	R.A.S	Positif
95	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
96	Commune	mâle	R.A.S	Négatif
97	Commune	femelle	Abattement, adénomégalie	Positif
98	Pitbull	mâle	Affection respiratoire chronique	Négatif
99	Braque	mâle	Paralysie du train postérieur, abattement.	Négatif
100	Commune	femelle	R.A.S	Négatif
101	Commune	mâle	R.A.S	Positif
102	Commune	femelle	Amaigrissement	Négatif
103	Rottweiler	femelle	R.A.S	Négatif

APPENDICE K

STANDARDISATION DES TAUX DANS LES DEUX STRATES SELON L'AGE

	Prévalence par classes d'âge (strate 1)	Proportion par classes d'âge (strate 1)	Taux bruts
[6, 12 mois]	0,02	0,28	0,01
] 1, 4]	0,06	0,52	0,03
] 4, 8]	0,27	0,16	0,04
> 8	0,14	0,04	0,01
			0,087 (8,74%)

	Prévalence par classes d'âge (strate 2)	Proportion par classes d'âge (strate 1)	Taux bruts
[6, 12 mois]	0,04	0,28	0,01
] 1, 4]	0,11	0,52	0,06
] 4, 8]	0,28	0,16	0,04
> 8	0,29	0,04	0,01
			0,125 (12,5 %)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Organisation Mondiale de la Santé, « la lutte contre les leishmanioses. Rapport de la réunion du comité OMS d'experts de la lutte contre les leishmanioses, OMS Série de rapports techniques n° 949. Genève (2010).
2. Achour Barchiche, N., et Madiou, M. « Recrudescence des leishmanioses cutanées : à propos de 213 cas dans la wilaya de Tizi-Ouzou » *Pathologie Biologie* 57, (2009), 65–70.
3. Projet de plan d'action national de lutte contre les leishmanioses. Ministère de la santé de la population et de la réforme hospitalière. Algérie, (2006).
4. Bourdoiseau, G., Franc, M., "Leishmaniose canine et féline". EMC – Vétérinaire, [Article 1350], (2008) ,1-10.
5. Costa, C.H.N., Pereira, H.F., Pereira, F.C.A., Tavares, J.P., Araujo, M.V., Goncalves, M.J.O. "Is the household dog a risk factor for American visceral leishmaniasis in Brazil?" *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 93, (1999), 463.
6. Oliveira, C.D.L., Assuncao, R.M., Reis, I.A., Proietti, F.A. "Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brasil, 1994–1997". *Cad Saude Publica Rio de Janeiro* 17, (2001), 1231–1239.
7. Mouloua A., « Etude éco-épidémiologique de la leishmaniose canine en Kabylie » Thèse de doctorat en sciences biologiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou ; Février 2014.
8. Dedet, J.P., "Leishmanies, leishmanioses : biologie, clinique et thérapeutique", EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8- 506-A-10, (2009)
9. Marty, P., Rosenthal, E., "Treatment of visceral leishmaniasis", *Expert Opin. Pharmacother*, V. 3, n° 8 (2002), 1101-1108.
10. Osman, O.F., Kager, P.A., et Oskam, L., "Leishmaniasis in the Sudan: a literature review with emphasis on clinical aspects", *Trop Med International Health*, V5, n°8,(2000), 553-562.
11. Del, G. P., Marty P. et Lacour, J.PH. "Leishmaniose cutanée autochtone en France métropolitaine". *Ann Dermatol Venerol*, V.128 (2001), 1057-1062.
12. Bourdoiseau, G., Franc, M., "Leishmaniose canine", *Encyclopédie vétérinaire - Parasitologie*. Elsevier, Paris, (2002).

13. Raquin, E., "Etude rétrospective de cas de leishmaniose canine à l'ENVA de 2000 à 2009". Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, thèse de Doctorat vétérinaire, (2010)
14. Dedet, J.P., Les Leishmanioses. France ed. Ellipses Paris, (1999)
15. Euzéby, J., Protozoologie médicale comparée, Vol. I : Généralités sarcomastigophores (Flagellés, Rhizopodes) – Ciliés, 212-313., Ed.coll.M.Merieux, Lyon, (1986), 463p.
16. Sergent, E., Sergent, E. "Kala-azar. Existence de la leishmaniose chez les chiens d'Alger", Bulletin de la Société de Pathologie Exotique 3, (1910) ,510–511.
17. Lemaire, G., Sergent, E. et L'Héritier, A. « Recherches sur la leishmaniose du chien d'Alger ». *Bulletin de la Société de Pathologie exotique*, 6, (1913), 579-581.
18. Antoniou, M., Doulgerakis C., Pratlong F., Dedet J.P., Tselentis Y. "Short report: treatment failure due to mixed infection by different strains of the parasite *Leishmania infantum*". *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, V.71, n°1, (2004), 71–72.
19. Bussiéras, J., Chermette, R. *Parasitologie vétérinaire. Fascicule 2. Protozoologie*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Service de Parasitologie. (1992), 186p.
20. Berenguer, J., Gomez-campdera, F., Padilla, B., Rodriguezferro, M., Anaya, F., Moreno, S., Valderrabano, F., Visceral leishmaniasis (kala-Azar) in transplant recipients : case report and review, *Transplant*, V.65, n°10, (1998), 1401-1404
21. Cruz, I., Nieto, J., Moreno, J., Canavat, C., Desjeux, P., Alvar, J., Leshmania/HIV coinfection in the second decade. *Indian J. Med. Res*, 123, (2006), 357-388.
22. Molina, R., Lohse, J.M., Pulido, F., Laguna, F., Lopez-Velez, R., Alvar, J. Infection of sand flies by humans coinfecting with leishmania infantum and human immunodeficiency virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, V.60, n°1, (1999), 51-53.
23. Desjeux, P., la lutte contre les maladies tropicales : la leishmaniose, *Revue de l'OMS*, Genève, (1993), 53p.
24. Carre, N., Collot, M., Guillard, P., Horellou, M., Gangneux. J-P., « La leishmaniose viscérale : Epidémiologie, diagnostic, traitement et prophylaxie ». *Journal de Pharmacie Clinique*. Volume 29, Numéro 3, (juillet-août-septembre 2010), 121-48,

25. Organisation Mondiale de la Santé. 60ème assemblée mondiale de la santé. Rapport de lutte contre la leishmaniose. OMS, (mars 2007).
26. Janvier F, Morillon M, Olliaro P. « Leishmaniose viscérale : efficacité clinique et résistance aux différentes molécules ». *Médecine Tropicale*; 68, (2008), 89-101.
27. Banuls, A.L., Hide, M., Prugnolle, F. "Leishmania and the leishmaniases: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans". *Adv. Parasitol.*, 64, (2007), 6-8.
28. Dantas-Torres F. "The role of dogs as reservoirs of Leishmania parasites, with emphasis on Leishmania infantum and Leishmania braziliensis". *Vet.Parasit.* 149, (2007), 139-146.
29. Centre National de Référence des Leishmaniose : www.parasitologie.univ-montp1.fr/leish2.htm consulté le 13/01/2013
30. Harrat, Z., Pratlong, F., Belazzoug, S., Dereure, J.M., Deniau, Rioux, J.A., Belkaid, M. and Dedet, J.P. "*Leishmania infantum* and *Leishmania major* in Algeria". *Trans R Soc Trop Med Hyg* V.90, n°6, (1996), 625-629.
31. Kallel, K., Pratlong, F., Belhadj, S., Cherif, F., Hammadi, M., Dedet, J.P., Chaker, E. "Cutaneous leishmaniasis in Tunisia: results of the iso-enzymatic characterization of 71 strains". *Ann Trop Med Parasitol*, V.99, n°1, (2005), 11-19.
32. Ait oudhia, K., Lami, P., Lesceu, S., Harrat, Z., Hamrioui, B., Dedet, J.P. & Pratlong, F. "Increase in the prevalence of canine leishmaniasis in urban Algiers (Algeria) following the 2003 earthquake". *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, Vol. 103, No. 8, (2009), 679–692.
33. Solano-Gallego L., Koutinas A., Miro G., Cardoso L., Pennisi, M.G., Ferrer L., Bourdeau, P., Oliva G., Baneth, G. "Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis". *Vet Parasitology* 165, (2009). 1-18.
34. Bourdoiseau, G. (a) Chapitre 13 : « Maladies parasitaires disséminées, la leishmaniose ». In : *Parasitologie clinique du chien*, Ed.NEVA, Créteil, (2000), 325-362.
35. Euzeby J. « *Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire* ». Paris : Lavoisier, (2008), 818p.
36. Slappendel, R.J. & Ferrer, L. "Leishmaniasis. In : GREENE CE, editor. *Infectious diseases of the dog and the cat*". 2nd ed. Philadelphia : WB Saunders, (1998), 450-456.

37. Bussi ras, J., Chermette, R. *Parasitologie vétérinaire. Fascicule 2. Protozoologie*. Polycopi . Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Service de Parasitologie. (1992), 186p.
38. Besteiro, S., Williams, R., Coombs, G.H., Mottram, J.C. "Protein turnover and differentiation in *Leishmania*". *International Journal for Parasitology* V. 37, n 10, (August 2007), Pages 1063–1075.
39. Kamhawi, S. "Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes?" *Trends in Parasitology* V. 22, n  9, (September 2006), 439–445.
40. Bates, P.A., Rogers, M.E. "New insights into the developmental biology and transmission mechanisms of *Leishmania*". *Curr. Mol. Med.*, 4, (2004), 601–609.
41. Gossage, S.M., Rogers, M.E., Bates, P.A. "Two separate growth phases during the development of *Leishmania* in sand flies: implications for understanding the life cycle" *Int. J. Parasitol.*, 33 (2003), 1027–1034.
42. Dedet, J.P. "Leishmaniasis, leishmanioses. Biologie, clinique et thérapeutique". *Encyclopédie M dico-Chirurgicale*, 8, (2001), 506-510.
43. Killick-Kendrick, R., "The biology and control of Phlebotomine sand flies". *Clinics in Dermatology*, Volume 17, Issue 3, (May–June 1999), Pages 279–289
44. Lane R.P. "Sand flies. *In: Medical Insects and Arachnids*". *Chapman and Hall*, London. (1993), 78-119.
45. Léger, N., Depaquit, J., « Les phlébotomes. *In: J-P. Dedet (ed.), les leishmanioses*, Paris : Ellipses, (1999), p. 90-108.
46. Killick-Kendrick R. – "Phlebotomine vectors of leishmaniasis". *Med. Vet. Entomol.* 4, (1990), 1- 24.
47. Léger, N., Depaquit, J., « Les phlébotomes et leur rôle dans la transmission des leishmanioses ». *Revue Française des laboratoires*. n 338, (2001) ,41-48.
48. Dedet, J.P., Addadi, K., Belazzoug, S., « Les Phlébotomes (Diptera: Psychodidae) d'Algérie ». *Cah. ORSTOM. Sér. Ent. Méd. Parasitol* .vol XXII, n  2, (1984), 99-127.
49. Belazzoug, S., "The sandflies of Alegria". *Parasitologia* 33 (Suppl 1), (1991), 85- 87.
50. Rioux, J-A et De la Rocque, S. « Climats, leishmanioses, tripanosomoses : Changements climatiques, maladies infectieuses et allergiques ». *Annales de l'Institut Pasteur/Actualités*. Paris : Elsevier, (2003), 41-62.

51. Bongiorno, G., Habluetzel, A., Khoury, C., Maroli, M. "Host preferences of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy". *Acta trop.*, 88, (2003).109–116.
52. Bogitsh, B.J. Carter Clint, E. et Oeltmann, T. N. *Arthropods as Vectors. Chapter 18 Human. Parasitology (Fourth Edition).* (2013), Pages 349–379.
53. Denerolle P. « La leishmaniose : données actuelles en France ». *Point vét.* 236, (2003), 46-48.
54. Dantas-Torres F. "The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis*". *Vet.Parasit.*, 149, (2007), 139-146.
55. Costa-Durão, J.F., Rebelo, E., Peleteiro, M.C., Correia, J.J., Simões G. "Primeiro caso de leishmaniose em gato doméstico (*Felis catus domesticus*) detectado em Portugal (Concelho de Sesimbra): nota preliminary". *RPCV*, 89 (1994), p. 140–144.
56. Passos, V.M.A., Lasmar, E.B., Gontijo, C.M.F., Fernandes, O., Degraive W. "Natural infection of a domestic cat (*Felis domesticus*) with *Leishmania (Viannia)* in the metropolitan region of Belo Horizonte, state of Minas Gerais". *Braz. Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 91 (1996), 19–20.
57. Ozon, C., Marty, P., Pratlong, F., Breton, C., Blein, M., Levièvre, A., Haas, P., "Disseminated feline leishmaniasis due to *Leishmania* infection in southern France". *Vet. Parasitol.*, 75 (1998), 273–277.
58. Simões-Mattos, L., Bevilaqua, C.M.L., Mattos, M.R.F., Pompeu. M.M.L., "Feline Leishmaniasis: uncommon or unknown?" *RPCV*, 99 (2004), 79–87
59. Shaw, S.E., Birtles, R.J., Day M.J., "Arthropod-transmitted infectious diseases of cats". *J. Feline Med. Surg.*, 3 (2001), 193–209.
60. Simões-Mattos, L., Mattos, M.R.F., Teixeira, M.J., Oliveira-Lima, J.W., Bevilaqua, C.M.L., Prata-Júnior, R.C., Holanda, C.M., Rondon, F.C.M., Bastos, K.M.S., Coêlho, Z.C.B., Coêlho, I.C.B., Barral, A., Pompeu, M.M.L., "The susceptibility of domestic cats (*Felis catus*) to experimental infection with *Leishmania braziliensis*". *Veterinary Parasitology. Volume 127, Issues 3–4, (February 2005)*, 199–208.
61. Leiva, M., Lloret, A., Pena, T., Roura, X., « Therapy of ocular and visceral in a cat » *Vet. Ophtalmol.*, V. 8, n°1, (2005), 71-75.
62. Djoudi, M., Triki-Yamani, R et Kaidi, R., « la leishmaniose féline dans la région d'Alger ». 3^{ème} Journées d'Epidemiologie Animale. Université Saad Dahlab de Blida. (2010), pages 32-37.

63. Organisation Mondiale de la Santé, « la lutte contre les leishmanioses : Rapport d'un Comité OMS d'Expert ». Série des rapports techniques n° 793. (1990).
64. Belazzoug, S. "Isolation of *Leishmania major* Yakimoff, Schokhor, 1914 from *Psammomys obesus* Gretzschmar, 1828 (Rodentia: Gerbillidae) in Algeria Trans". R. Soc. Trop. Med. Hyg. 77 (1983) 876.
65. Izri, M.A., Belazzoug, S., Pratlong, F., Rioux, J.A., "Isolation of *Leishmania major* in *Phlebotomus papatasi* in Biskra (Algeria)". The end of an ecoepidemiological saga, Ann.Parasitol. Hum. Comp. 67 (1992) 31-32.
66. Jeronimo, S.M.B., Anastacio de Queiroz Sousa, Richard D. Pearson. Leishmaniasis CHAPTER 100 Tropical Infectious Diseases (Third Edition), (2011), Pages 696–706.
67. Thrusfeild, M., "Veterinary Epidemiology". Third edition. Royal School of Veterinary Studies. University of Edinbergh, (2007).
68. Toma, B., Dufour, B., Sanaa, M., Benet, J.J., Shaw, A., Moutou, F., Louzã, A. "Chapitre I: Notions de base en épidémiologie in Epidémiologie Appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures". (2001), 686 p.
69. Beaucage, C., Bonnier-Viger « Epidémiologie appliquée. Une initiation à la lecture critique de la littérature en sciences de la santé ». Ed Gaëtan Morin, (1996), 143-178.
70. Toma, B., Dufour, B., Sanaa, M., Benet, J.J., Shaw, A., Moutou, F., Louzã, A. " Epidémiologie Appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures". (2010), 597 p.
71. Ancelle, T., "Statistique Epidémiologie" 3ème édition. Edition Maloine. Ecole de médecine, 75006 Paris, France (2011)
72. Desjeux, P., « Leishmaniasis : curent situation and new perspectives ». Comp Immun Microbiol Infect Dis. 27, (2004), 305- 310.
73. Reithinger, R., Dujardin, J-C., Louzir, H., Pirmez, C., Alexander, B., et Brooker, S. « Cutaneous leishmaniasis ». The Lancet Infectious Diseases, V. 7, issue 9, (September 2007), 581- 596.
74. Dantas-Torres, F. "Canine leishmaniosis in South America". Parasite Vectors 2 (Suppl. 1), S1. (2009).
75. Baneth, G., Koutinas, A F., Solano-Gallego, L., Bourdeau, P., Ferrer, L. "Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one". Trends in Parasitology V. 24, n°7, (2008), 324–330.

76. Cruz, I. "A canine leishmaniasis pilot survey in an emerging focus of visceral leishmaniasis" Posadas (Misiones, Argentina). *BMC Infect. Dis.* 10, 342, (2010).
77. Duprey, Z.H. et al. "Canine visceral leishmaniasis, United States and Canada, 2000–2003". *Emerg. Infect. Dis.* 12, (2006), 440–446.
78. Maroli, M. et al. "The northward spread of leishmaniasis in Italy: evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors". *Trop. Med. Int. Health* 13, (2008), 256–264
79. Baldelli, R. et al. "Canine leishmaniasis surveillance in a northern Italy kennel". *Vet. Parasitol.* 179, (2011), 57–61.
80. Alvar, J. « *Las Leishmaniasis: De la Biología al Control* », Laboratorios Intervet S.A. Salamanca. (2001).
81. CortesYolanda Vaz, S., Neves, R., Maiaa,C., Cardoso, F.L., Campino, L., "Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region". *Veterinary Parasitology* 189 (2012) 189– 196.
82. Sousa,S., Patricia Lopesc,A., Cardoso,L., Silvestre A,R., Schallig,H., Reede, S.G., Anabela Cordeiro da Silva, A., "Seroepidemiological survey of *Leishmania infantum* infection in dogs from northeastern Portugal". *Acta Tropica* 120 (2011) 82– 87.
83. Galvez, R., Miro, G., Descalzo, M.A., Nieto, J., Dado, D., Martín, O., Cubero, E., Molina, R., " Emerging trends in the seroprevalence of canine leishmaniosis in the Madrid region". *Veterinary Parasitology* 169 (2010) 327– 334.
84. Ballart, C., Alcovera,M., Picadoc, A., Nietod, J., Castillejo,S., Portúsa,M., Gállego.M. "First survey on canine leishmaniasis in a non classical area of the disease in Spain (Lleida, Catalonia) based on a veterinary questionnaire and a cross-sectional study *Preventive Veterinary Medicine*" (2012) <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.09.003>
85. Keck, N. And Dereure, J. "Epidemiology of canine leishmaniasis by cross-sectional study in the French focus of Cévennes". *Revue Méd. Vét.*, V. 154, n°10, (2003), 599-604.
86. Ferroglio, E., Maroli,M., Gastaldo, S., Mignone, W., and Rossi, L. "Canine. Leishmaniasis, Italy. *Emerging Infectious Diseases*", Vol. 11, n°10, (October 2005).
87. Athanasiou, L.V., Kontos, V.I., Saridomichelakis, M.N., Rallis, T.S., Diakou, A. A. "cross-sectional sero-epidemiological study of canine leishmaniasis in Greek mainland". *Acta Tropica* 122, (2012), 291– 295.

88. Headington, C. E., Barbara, C. H., Lambson, B. E., Hart, D. T. and Barker, D. C. "Diagnosis of leishmaniasis in Maltese dogs with the aid of the polymerase chain reaction". Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 96, supplements 1/195-S1/197. (2002)
89. Ertabaklar, H., Toz, S.O., Ozkan, A.T., Rastgeldid, S., Balcioglu, I.C, Ozbek, Y. "Serological and entomological survey in a zoonotic visceral leishmaniasis focus of North Central Anatolia, Turkey: Corum province" Acta Tropica 93, (2005), 239–246.
90. Chargui, N., Haouas, N., Gorchii, M., Lahmar, S., Guesmi, M., Ben Abdelhafidh, A., Mezhoud, H. & Babba, H. "Use of PCR, ITAT and in vitro culture in the detection of leishmania infantum infection in dogs and evaluation of the prevalence of canine leishmaniasis in a low endemic area in Tunisia" Parasite, 16, (2009), 65-69.
91. Chargui, N., Haouas, N., Gorchii, M., Akrouf Messaidi, F., Zribi, M. & Babba, H. "Increase of canine leishmaniasis in a previously low-endemicity area in Tunisia". Parasite, 14, (2007), 247-251.
92. Sahibi, H.; Natami, A.; Moufaïd, A.; Lasri, S. & Rhalem, A. "Clinical and seroepidemiological study of Leishmaniasis in Northern Morocco". Actes Inst. Agron. Vet. Vol. 21 n°4, (2001), 227-232
93. Abedelmajeed Nasereddin, A., Baneth, G., Schonian, G., Kanaan, M., et Jaffe, C.L. "Molecular Fingerprinting of *Leishmania infantum* Strains following an Outbreak of Visceral Leishmaniasis in Central Israel" JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Vol. 43, n°12, (2005), 6054–6059 .
94. Baneth G, Dank G, Keren-kornblatt E. Emergence of visceral leishmaniasis in Central Israel. Am J Trop Med Hyg 59 (5), (1998), 722–5
95. Hamarsheh, O.. "Serological and molecular survey of Leishmania parasites in apparently healthy dogs in the West Bank, Palestine" Parasites & Vectors: 5, (2012), 183.
96. Zerpa, O., « Canine visceral leishmaniasis on Margarita Island » (Nueva Esparta, Venezuela). Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 94, (2000), 484–487.
97. Dantas-Torres, F., Felinto de Brito, M.E., Brandao-Filho, S.P., "Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil". Veterinary Parasitology 140, (2006), 54–60 .
98. Silva, O. A. Silva, P. B. Silva, O. V. Braga, G. M. Albuquerque-Júnior, A. « canine dans le Nord-est du Brésil : aspects épidémiologiques ». Bull Soc Pathol Exot, V. 100, n°1, (2007), 49-50.
99. Amela, C. "Epidemiology of canine leishmaniasis in the Madrid region, Spain". Eur. J. Epidemiol. 11, (1995), 157–16.

100. Paranhos-Silva, M. "Cohort study on canine emigration and *Leishmania* infection in an endemic area for American visceral leishmaniasis". Implications for the disease control. *Acta Trop.* 69, (1998), 75–83
101. Dye, C. "The logic of visceral leishmaniasis control". *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 55, (1996), 125–130.
102. Berrahal, F. "Canine leishmaniasis: identification of asymptomatic carriers by polymerase chain reaction and immunoblotting". *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 55, (1996) , 273–277.
103. Solano-Gallego, L. "Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology". *J. Clin. Microbiol.* 39, (2001), 560–563.
104. Harrat, Z., & Belkaid, M., « Les leishmanioses dans l'Algérois : Données épidémiologiques » *Bull Soc Pathol Exot*, V. 96, n° 3, (2003), 212-214.
105. Benikhlef, R., Harrat, Z., Toudjine, M., Djerbouh, A., Bendali-Braham, S., Belkaid, M. « Présence de leishmania infantum mon-24 chez le chien ». *Med Trop*; 64, (2004), 381-383.
106. Izri, A. et Belazzoug, S. « diagnostic de laboratoire des leishmanioses rencontrées en Algérie. Revue Francophone des Laboratoires, N° 396, (2007).
107. Zait, H., et Hamrioui, B. « Leishmanioses cutanées en Algérie Bilan de 386 cas diagnostiques au CHU Mustapha d'Alger de 1998 à 2007 » revue francophone des laboratoires, N°412 (MAI 2009).
108. Adel, A., Saegermanb, C., Speybroeckc, N., Praetc,N., Victorc,B., De Dekenc,R., Soukehald, A., Berkvensc, D., "Canine leishmaniasis in Algeria: True prevalence and diagnostic test characteristics in groups of dogs of different functional type". *Veterinary Parasitology* 172 (2010) 204–213.
109. Buffet, P., Leishmaniose cutanée. EMC, Dermatologie, 98-395-A-15,2008.
110. Ashford. R.W. "The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses". *International Journal for Parasitology* 30 ,(2000), 1269-1281.
111. Chappuis, F. "Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control?" *Nat. Rev. Microbiol.* 5, (2007), 873–882.
112. OMS. Profil épidémiologique des maladies transmissibles : Leishmaniose cutanée et cutanéomuqueuse. Avenue Appia 20. 1211, Genève 27, Suisse. 2007 b

113. Silva, F.L., Olieria, R.G., Silva, T.M., Xavier, M.N., Nascimento, E.F., Santos, R.L. « Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis ». *Vet. Parasitol.*, 160, (2009), 55-59.
114. Alvar J, Yactayo S, Bern C. "Leishmaniasis and poverty". *Trends Parasitol*: vol. 22. 2006.
115. Desjeux, P. et Alvar, J. "*Leishmania* / HIV co-infections: epidemiology in Europe" *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, Vol. 97, n° 1, (2003), S3–S15.
116. World Health Organization. Leishmaniose et les co-infections *Leishmania* / HIV. Aide mémoire N°116, (2000).
117. Cardoso, L., Schallig, H.D., Neto, F., Kroon, N., Rodrigues, M. "Serological survey of *Leishmania* infection in dogs from the municipality of Peso da Régua (Alto Douro, Portugal) using the direct agglutination test (DAT) and fast agglutination screening test (FAST)". *Acta Trop.* 91, (2004), 95–100.
118. Solano-Gallego, L., Lull, J., Ramos, G., Cardoso, L., Pennisi, M., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G. The Ibiza hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Vet. Parasitol.* 90, (2000), 37–45.
119. França-Silva, J., Costa, R., Siqueira, A., Machado-Coelho, G., Costa, C., Mayrink, W., Vieira, E., Costa, J., Genaro, O., Nascimento, E., "Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State. Brazil". *Vet. Parasitol.* 111, (2003), 161–173.
120. Amusatogui, I., Sainz, A., Aguirre, E., Tesouro, M., "Seroprevalence of *Leishmania infantum* in Northwestern Spain, an area traditionally considered free of Leishmaniasis". *Annals of the New York Academy of Sciences* 1026, (2004), 154–157.
121. Cortes, S., Afonso, M., Alves-Pires, C., Campino, L. « Stray dogs and Leishmaniasis in Urban Areas, Portugal". *Emerging Infectious Diseases* 13, (2007), 1431–1432.
122. Catheland, S. « Leishmaniose : une zoonose en pleine extension ». *La dépêche vétérinaire*, n°865. (2005).
123. Epstein, P. « Oui, le réchauffement de la planète est dangereux ». *Pour la science*, n°276, (2000), 80-88.
124. Anonyme 1 : <http://www.cliniqueveterinairecalvisson.com/article-veterinaire-41-11-la-leishmaniose>. consulté le 03/01/2013.

125. Greene, C. E., Sykes, J. E. Eds. "Infectious Diseases of Dog and Cat". (2006).
126. Gollob, K.J., Antonelli R.V., Faria D.R., Kessen T.S., et Dutra, W.O. "Immunoregulatory mechanisms and CD4-CD8- (double negative) T cell subpopulations in human cutaneous leishmaniasis: A balancing act between protection and pathology". *International Immunopharmacology*, Volume 8, Issue 10, (October 2008), 1338-1343.
127. Harrat, Z., Belkaid, M., Coinfection leishmaniose vésiculaire- SIDA en Algérie. *Santé Algérie* n° 7, (2002), 37-38.
128. Forget G. "Etude des mécanismes d régulation négative utilisés par *Leishmania* pour contrer la réponse immunitaire innée. Thèse de Doctorat en microbiologie-immunologie". Faculté de Médecine, (2004), Université Laval. France.
129. Harrat, Z. "La leishmaniose canine en Algérie : Analyse épizootologique, écologique et étude du parasite". Thèse doctorale en sciences vétérinaires, option : Epidémiologie. (2006).
130. Bachi, F. "Amélioration des moyens diagnostique des leishmanioses en ALGERIE". Thèse de Doctorat en Sciences Médicales, (2001). Faculté de Médecine. Université d'Alger.
131. U.S. Army Public Health Command (Provisional). Formerly U.S Army Center for Health Promotion and Preventive Medecine. *Leishmaniasis* (2010).
132. Fournet, A. "Alerte à la leishmaniose". *Le Nouvel Observateur*, n°2260, (2008) ,88-89.
133. Koutinas A.F., Polizopoulou Z.S., Saridomichelakis M.N., Argyriadis D., Fytianou A., Pievraki K.G. "Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996)". *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 35, (1999), 376-383.
134. Lamothe, J, Gaudray, C et Zarka, P. "Diagnostic de la leishmaniose canine". *Pratique Médicale et Chirurgicale des Animaux de Compagnie*. Vol. 39, (2004), pp. 41-46.
135. Ibsch, C. "Observation clinique. Leishmaniose ulcérate et pustuleuse chez un chien". *Nouv. Prat. vét. canine féline*, 301, (2002).
136. Blavier A., Keroack S., Denerolle P., Goy-Thollot I., Chabanne L., Cadore J.-L., Bourdoiseau G. "Atypical forms of canine leishmaniasis". *Vet Jour*. 162, (2001), 108-120.
137. Vinuelas J., Garcia-Alonso M., Ferrando L., Navarrete I., Molano I., Miron C., Carcelen J., Alonso C., Nieto C.G. "Meningeal leishmniosis induced by

- Leishmania infantum* in naturally infected dogs". *Vet. Parasitol.*, 101, (2001), 23-27.
138. Bordes F. "Polyarthrite leishmanienne isolée chez un chien". *Action Vét.*, 1717, (2005), 6-8.
139. Lamonthe, J., "Treatment of canine leishmaniasis from A (Amphotericin B) to Z (Zyloric®)". *Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum*. Barcelona, Spain. (1999).
140. Miles, M., Vexenat, J., Furtado Campos, J., & Fonseca de Castro, J. "Canine leishmaniasis in Latin America: control strategies for visceral leishmaniasis". *Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum*. Barcelona, Spain. (1999).
141. Le Fichoux Y., Marty P. & Kubar J. "Diagnostic des leishmanioses". In : Dedet J.P. Ed. *Les leishmanioses*. Paris : Ellipses ; (1999), 190-203.
142. Marty, P., Delaunay, P., Fissoure, C., Le Fichoux, Y. "La leishmaniose méditerranéenne due à *Leishmania infantum*. Miase au point- Intérêt des testes de diagnostic". *Medecine Tropicale* n° 67, (2007), 79-85.
143. Manuel terrestre de l'OIE. Chapitre 2.1.8. Leishmaniose. (2008).
144. Blaise, H. "Comment diagnostiquer la leishmaniose canine". *Le Point Vétérinaire.*, Vol. 270, n° 37, (2007), 54-59.
145. Alvar, J., Canavate, C., Molina, R., Moreno, J., Nieto, J., "Canine leishmaniasis". *Adv. Parasitol.* 57, (2004), 1–88.
146. Papierok, G-M. "Diagnostic biologique de la leishmaniose canine et perspectives". *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*. (Janvier-Mars 2002), pp. 65-68.
147. Rosypal, A., Troy, G., Duncan, R., Zajac, A., Lindsay, D., 2005. Utility of diagnostic tests used in diagnosis of infection in dogs experimentally inoculated with a North American isolate of *Leishmania infantum*. *J. Vet. Inter. Med.* 19, 802–809.
148. Hubert, B. "Comment diagnostiquer la leishmaniose canine". *Le Point Vétérinaire*. (Novembre 2006), pp. 70-73.
149. Xavier, S., Andrade, H., Haddad, S., Chiarelli, I., Lima, W., Michalick, M., Tafuri, W., Tafuri, W. "Comparison of paraffinembedded skin biopsies from different anatomical regions as sampling methods for detecting *Leishmania* infection in dogs using histological, immunohistochemical and PCR methods". *BMC Vet. Res.* V. 2, n° 17. (2006).

150. Moreira, M., Luvizotto, M., Garcia, J., Corbett, C., Laurenti, M., "Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs". *Vet. Parasitol.* 145, (2007), 245–252.
151. Maia, C., Ramada, J., Cristovao, J., Campino, L. "Diagnosis of canine leishmaniasis: conventional and molecular techniques using different tissues". *Vet. J.*, (2007).
152. World Health Organization (WHO). "Control of leishmaniasis". Technical Report Series 949. WHO, Geneva. (2010).
153. Bensoussan, E., Naserdin, A., Jonas, F., Schur, L.F., Carles, L.J. "comparaison of PCR assays for diagnosis of cutaneous leishmaniasis". *J. Clin. Microbiol.* 44, (2006), 1435-1439.
154. Chargui, N., Bastien, P., Kallel, K., Haouas, N., Akrouf, F.M., Massoudi, A., Zili, J., Chaker, E., Othman, A.D., Azaiez, R., Crobu, L., Mezhoud, H., Bada, H., "Usefulness of PCR in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis in Tunisia". *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* V. 99, n° 10, (2005), 762-768.
155. Marques, M.J., Volpini, A.C., Machado-Coelho, G.L., Machado-Pinto, J., Mayrink, W., Genaro, O., Romanha, A.J. "comparaison of polymerase chain reaction with other laboratory methods for the of American cutaneous leishmaniasis: diagnosis of cutaneous leishmaniasis by PCR". *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* V. 54, n° 1, (2006), 37-43.
156. Andrade, H., Toledo, V., Marques, M., Silva, J., Tafuri, W., Mayrink, W., Genaro, O., « *Leishmania chagasi* is not vertically transmitted in dogs". *Vet. Parasitol.* 103, (2002), 71–81.
157. Ferreira, A., Ituassu, L., Melo, M., Andrade, A., "Evaluation of the conjunctival swab for canine visceral leishmaniasis diagnosis by PCR-hybridization in Minas Gerais State, Brazil". *Vet. Parasitol.* 152, (2008), 257–263.
158. Mathis, A. et Deplazes, P. "PCR and *in vitro* cultivation for detection of *Leishmania* spp. in diagnostic samples from humans and dogs". *J. Clin. Microbiol.*, 33, (1995), 1145-1149.
159. Maarten, H.L., De Bruijn, M.H.L. & Barker, D.C. "Diagnosis of New World leishmaniasis: specific detection of species of the *Leishmania braziliensis* complex by amplification of kinetoplast DNA". *Acta Trop.*, 52, (1992), 45-58.
160. Bulle, B., Millon, L., Bart, J.M., Gallego, M., Gambarelli, F., Portus, M., Schnur, L., Jaffe, C.L., Fernandezbarredo, S., Alunda, J.M. & Piarroux, R. "Practical approach for typing strains of *Leishmania infantum* by microsatellite analysis". *J. Clin. Microbiol.*, 40, (2002), 3391-3397.

161. Quinnell, R.J., Courtenay, O., Davidson, S., Garcez, L., Lambson, B., Ramos, P., Shaw, J.J., Shaw, M.A. & Dye, C. "Detection of *Leishmania infantum* by PCR, serology and cellular immune response in a cohort study of Brazilian dogs". *Parasitology*, 122, (2001), 253-261.
162. Volpini, A.C., Passos, V.M., Oliveira, G.C. & Romanha, A.J. "PCR-RFLP to identify *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (Leishmania) amazonensis* causing American cutaneous leishmaniasis". *Acta Trop.*, 90, (2004), 31-37.
163. Bell, A.S. & Ranford-cartwright, L.C. (2002). Real-time quantitative PCR in parasitology. *Trends Parasitol.*, 18 (8), 337-342.
164. Borja-cabrera G.P., Correia Pontes N.N., Silva V.O., Paraguai de souza E., Santos W.R., Gomes E.M., Luz K.G., Palatnik M. & Palatnik de souza C.B.. "Long lasting protection against canine kalaazar using the FML-QuilA saponin vaccine in an endemic area of Brazil (Sao Goncalo do Amarante, RN)". *Vaccine*, 20, (2002), 3277-3284.
165. Francino, O., Altet L., Sanchez-Robert, E., Rodriguez, A., Solano-Gallego, L., Alberola, J., Ferrer, L., Sanchez, A. & Roura, X. "Advantages of real-time PCR assay for diagnosis and monitoring of canine leishmaniasis". *Vet. Parasitol.*, 137 (3-4), (2006), 214-221.
166. Gradoni, L., Gramiccia, M. "Leishmaniosis. In: OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees)", vol. 1, 6th ed. Office International des Epizooties, Paris, (2008), pp. 240–250.
167. Maia, C., Campino, L., "Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection" *Veterinary Parasitology* 158, (2008), 274–287.
168. Keck, N. "Diagnostic de laboratoire de la leishmaniose canine. *Leishmaniose canine: Surveillance, diagnostic, traitement, prophylaxie*". *Résumés*. Lyon : Société Française de Parasitologie. (2004).
169. Petersen, C.A., "Leishmaniasis, an emerging disease found in companion animals in the United States". *Top. Companion Anim. Med.* 24, (2009), 182–188.
170. Mancianti, F., Falcone M.L., Giannelli C. & Poli A. "Comparison between and enzyme-linked immunosorbent assay using a detergent-soluble *Leishmania infantum* antigen and indirect immunofluorescence for the diagnosis of canine leishmaniasis". *Vet. Parasitol.*, 59, (1995), 13-21.
171. Mohebbali, M., Taran, M., Zarei, Z., "Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: comparative study using an immunochromatographic dipstick rk39 test and direct agglutination". *Vet. Parasitol.* 121, (2004), 239–245.

172. Silva, E., Van der Meide, W., Schoone, G., Gontijo, C., Schallig, H., Brazil, R. "Diagnosis of canine leishmaniasis in the endemic area of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil by parasite, antibody and DNA detection assays". *Vet. Res. Commun.* 30, (2006), 637–643.
173. Iniesta, L., Gallego, M., Portus, M. "Idiotypic expression of IgG1 and IgG2 in dogs naturally infected with *Leishmania infantum*". *Vet. Immunol. Immunopathol.* 103, (2007), 77–81.
174. Zaragoza, C., Barrera, R., Centeno, F., Tapia, J., Duran, E., Gonzalez, M., Mané, M., "SDS-Page and Western blot of urinary proteins in dogs with leishmaniasis". *Vet. Res.* 34, (2003), 137–151.
175. Bernadina, W., Luna, R., Oliva, G., Ciaramella, P. "An immunodiffusion assay for the detection of canine leishmaniasis due to infection with *Leishmania infantum*". *Vet. Parasitol.* 73, (1997), 207–213.
176. Andrade, R., Reis, A., Gontijo, C., Braga, L., Rocha, R., Araujo, M., Vianna, L., Martins-Filho, O. "Clinical value of anti-*Leishmania (Leishmania) chagasi* IgG titers detected by flow cytometry to distinguish infected from vaccinated dogs". *Vet. Immunol. Immunopathol.* 116, (2007), 85–97.
177. Rodriguez-Cortes, A., Ojeda, A., Lopez-Fuertes, L., Timon, M., Altet, L., Solano-Gallego, L., Sanchez-Robert, E., Francino, O., Alberola, J., "A long term experimental study of canine visceral leishmaniasis". *Int. J. Parasitol.* 37, (2007), 683–693.
178. Fernandez-Bellon, H., Solano-Gallego, L., Rodriguez, A., Rutten, V., Hoek, A., Ramis, A., Alberola, J., Ferrer, L., "Comparison of three assays for the evaluation of specific cellular immunity to *Leishmania infantum* in dogs". *Vet. Immunol. Immunopathol.* 107, (2005), 163–169.
179. Krauss, H., A. Weber, Eds. "Zoonoses, Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans". (2003).
180. **Anonyme 2:** La leishmaniose générale du chien à *Leishmania infantum*. <http://www.dermavet.com/modules/atlasparasito/htm/leish/leish.htm>
181. **Anonyme 3:** Leishmaniose. [http://dictionnairemedical.net/1433_Leishmaniose.html]
182. Bourdoiseau, G. "Actualités : la leishmaniose canine à *Leishmania infantum*, points de confirmation et d'interrogation". *Nouv. Prat. vét.* 32, (2007), 49-54.
183. Rosenthal, E. et Marty, P. "Actualités sur la leishmaniose viscérale méditerranéenne". *La Revue de médecine interne* 30, (2009), S24–S28.

184. Bern, C., Adler-Moore, J., Berenguer, J., Boelaert, M., Boer, M.D., Davidson, R.N. "Liposomal amphotéricin B for the treatment of visceral leishmaniasis". *Rev Anti-infect Agents*; 43, (2006), 917-24.
185. Desjeux, P. "Options thérapeutiques pour la leishmaniose viscérale". *Med Mal Infect*; 35, (2005), S74-6.
186. Minodier, P., Robert, S., Retornaz, K., Garnier, JM. "Leishmaniose infantile : nouvelles thérapeutiques". *Arch Pediatr*. 10, (Suppl. 5), (2003), S550-6.
187. Gangneux, JP. "Traitement de la leishmaniose viscérale : modalités récentes". *Presse Med*; 28, (1999), 2057-66.
188. Cabanillas, B.J. "Caractérisation de principes actifs antileishmaniens isolés de *Piperaceae* et *Zingiberaceae* médicinales péruviennes". Thèse de doctorat, Université de Toulouse, (2011).
189. Bourdoiseau, G., Dénerolle, P. "Traitement de la leishmaniose canine : actualités". *Revue Méd. Vét.*, 151, (2000), 395-400.
190. Manna, I., Reale, S., Vitale, F., Picillo, E., Pavone, L.M., Gravino A.E. "Real-time PCR assay in *Leishmania*-infected dogs treated with meglumine antimoniate and allopurinol". *Vet. J.*, 177, (2008), 279-282.
191. Noli, C., Auxilia, S.T. "Treatment of canine old world visceral leishmaniasis: a systematic review". *Vet. Dermatol*. 16, (2005), 213-232.
192. Sharma, U, Singh, S. "Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their control". *J Vector Borne Dis*;45, (2008), 255–72.
193. Faucher, B. et Piarroux, R. "Actualités sur les leishmanioses viscérales. La Revue de médecine interne" 32, (2011), 544–551.
194. Guerin, PJ., Olliaro, P., Sundar, S., Boelaert, M., Croft, SL., Desjeux, P. "Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda". *Lancet Infect Dis*; 2, (2002), 494–501.
195. Courtenay, O., Quinell, RJ., Garcez, LM., Shaw, JJ., Dye, C.. "Infectiousness in a cohort of brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission". *J Infect Dis*; 186, (2002), 1314–20.
196. Gavvani, AS, Hodjati, MH, Mohite, H, Davies, CR. "Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial". *Lancet* 360, (2002), 374-9.

197. Maroli, M, Mizzon, V, Siragusa, C, D'Oorazi, A, Gradoni, L. "Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy". *Med Vet Entomol*;15, (2001), 358–63.
198. Lemesre, JL, Holzmuller, P, Goncalves, RB, Bourdoiseau, G, Hugnet, C, Cavaleyra, M, et al. "Long-lasting protection against canine visceral leishmaniasis using the LiESAp-MDP vaccine in endemic areas of France: double-blind randomised efficacy field trial". *Vaccine*; 25, (2007), 4223–34.
199. Palatnik-de-Sousa, CB, Silva-Antunes, I, Morgado, Ade A, Menz, I, Palatnik, M, Lavor, C. "Decrease of the incidence of human and canine visceral leishmaniasis after dog vaccination with Leishmune in Brazilian endemic areas". *Vaccine*; 27, (2009), 3505–12.
200. Kedzierski, L. "Leishmaniasis vaccine: where are we today?" *J Glob Infect Dis*; 2, (2010), 177–85.
201. Jaffe, C.L. "Prospectives for a vaccine against canine leishmaniasis. *In* : *Canine leishmaniasis : an update*". Barcelona, Spain, 1999. Wiesbaden : Hoechst Roussel Vet, (1999), 66-71.
202. Otranto, D., Paradies, P., Lia, R.P., Latrofa, M.S., Testini, G., Cantacessi, C. "Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/50% permethrin for the prevention of leishmaniasis in kennelled dogs in an endemic area". *Vet. Parasitol.* 144, (2007), 270-278.
203. Killick-Kendrick, R., Killick-Kendrick, M., Focheux, C., Dereure, J., Puech, M.P., Cadiergues, M.C. "Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis". *Med. Vet. Entomol.*11, (1997), 105-111.
204. Mazloumi Gavgani, A.S., Hodjati, M.H., Mohite, H., Davies, C.R. "Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial". *Lancet.* 360, (2002), 374-379.
205. K. Aouna, F. Jeddi, F. Amri, J. Ghrab, A. Bouratbine « Actualités épidémiologiques de la leishmaniose viscérale en Tunisie ». *Médecine et maladies infectieuses* 39, (2009), 775–779.
206. Belazzoug, S., Addadi, K., Moukrani, T., et Hafirassou, N. " la leishmaniose viscérale en Algérie". *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.* V 65, (1985), 329-335.
207. Ministère de la santé (Maroc), "données épidémiologiques des maladies sous surveillance". <http://www.sante.gov.ma/Departements/DELM/donneesdesmaladiessousveillance/index-donneesmss.htm>. Consulté le 27 juillet 2013.

208. Bachi, F. « Aspect épidémiologique et cliniques des leishmanioses en Algérie ». Lettre de l'infectiologie. Tome XXI, n°1, (2006).
209. Belazzoug, S. "la leishmaniose canine en Algérie". Magh. Veter. Vol 3, n°13, (1987), 11.
210. Rodhain, F. "Impacts sur la santé : le cas des maladies à vecteurs. In : Impacts potentiels du changement climatique en France au XXIe siècle, Mission interministérielle de l'effet de serre, Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement", Paris, (2000), 122-127.
211. Singer, SR.; Abramson, N.; Shoob, H. "Ecoepidemiology of cutaneous leishmaniasis outbreak, Israel". Emerg Infect Dis; V14, n°9, (2008), 1424-6.
212. Al Tawfiq, JA. & Abukhamsin, A. "Cutaneous leishmaniasis: a 46-year study of the epidemiology and clinical features in Saudi Arabia (1956- 2002)". Int J Infect Dis ; V8. n°4, (2004), 244-50.
213. Zougaghi, L.; Bouskraouib, M.; Aminec, M.; Akhdarid, N.; et Amald, S. "Leishmaniose cutanée a *Leishmania tropica* dans la région de Marrakech (Maroc) : un foyer rebelle !". Revue francophone des laboratoires. N°429, (février 2011).
214. Meunier, A. "Etude épidémiologique de la leishmaniose canine et de l'influence des facteurs environnementaux (en France depuis 1965, dans le sud-ouest en 2006) ". Thèse de Docteur vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Lyon, (2007).
215. Lanotte, G.; Rioux, J.A; Croset, H. Et Volhardt, Y. "Dépistage de la leishmaniose canine : Stratégie d'enquête utilisée dans le foyer des Cévennes méridionales". Colloques internationaux du CNRS N°239 – Ecologie des leishmanioses, (1979), 188-126.
216. Passantino, A., "Medico-legal considerations of canine leishmaniasis in Italy: an overview of an emerging disease with reference to the buying and selling of dogs". Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 25, (2006), 1111–1123.
217. Médaille, C. ; Briend-Marchal, A. et Braun, J.-P. "Blood sampling". EMC-Vétérinaire 2, (2005), 1–13.
218. Bouratbine, A. ; Aoun, K. ; Gharbi, M. ; Haouas, N. ; J. Zaroui, J. ; Harrat, Z. ; Baba, H. ; et (4) et Darghouth, M.A. «Données épidémiologiques, cliniques et parasitologique sur la leishmaniose générale canine en Tunisie » . *Bull Soc Pathol Exot*, 98, 5, (2005), 359-362.
219. Coulibaly, E., Heinis, V., Campos, C., Ozon, C., Bourdoiseau, G., Haas, P., Marty, P. (2004). Enquête descriptive sur la leishmaniose canine dans le Sud de la France en 2000. *Prat. Méd. Chir. Anim. Cie*, **39**, 35-40.

220. Rami, M., Atarhouche, T., Sabri, M., Cadi Soussi, M., Benazzou, M., Dakkak, A., "Canine leishmaniasis in the Rif Mountains (Moroccan Mediterranean coast): a seroepidemiological survey". *Parasite* 10, (2003), 79-85.
221. Mirõ, G., Montoya, A., Mateo, M., Alonso, A., Garcia, S., Caballero, M.J., Molina, R. "A leishmaniasis surveillance system among stray dogs in the region of Madrid: ten years of serodiagnosis (1996-2006)". *Parasitology Research* 101, (2007), 253-257.
222. Martín-Sánchez, J., Morales-Yuste, M., Acedo-Sánchez, C., Barón, S., Diaz, V., Morillas-Márquez, F., «Canine Leishmaniasis in Southeastern Spain ». *Emerging Infectious Diseases* 15, (2009), 795-798.
223. Milhau, S. « Étude épidémiologique de la leishmaniose dans le département de l'Hérault. Méthodes de lutte, perspectives d'avenir ». Thèse de Doctorat Vétérinaire, Toulouse, France, (1987), 103 pp.
224. Maroli, M., Mizzoni V., Siragusa C., d'Orazi A., Gradoni L. "Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy" *Med. Vet. Entomol.* 15, (2001), 358-363.
225. Barbieri, C. L. "Immunology of canine leishmaniasis". *Parasite Immunol.*, 28, (2006), 329-337.
226. Cardoso, L.; Schallig, HDFH., Cordeiro Da Silva A, Cabral M, Alunda JM, Rodrigues M. "Anti-*Leishmania* humoral and cellular immune responses in naturally infected symptomatic and asymptomatic dogs". *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 117, (2007), 35-41.
227. Bellazoug, S. « The sandflies of Algeria ». *Parasitology*; 33, (1991), 85-7.
228. Croset, H., Rioux, J-A., Maistre, M., Bayar, N. « Les phlébotomes de Tunisie (Diptera, Phlebotomidae), Mise au point systématique, chronologique et éthologique ». *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, V. 53, N°. 6, (1978), 7111-749.
229. Boulkenafet, F. « Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda » mémoire de magister, université de Constantine. (2006)
230. Izri, MA. ; Belazzoug, S. "Phlebotomus (Larrousius) perfiliewi naturally infected with dermatropic. *Leishmania infantum* at Tenes, Algeria". *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 87, (1993), 399.
231. Dedet, J-P., Addadi, K., Belazzoug, S., « Les Phlébotomes (Diptera: Psychodidae) d'Algérie ». *Sér. Ent. Méd. Parasitol.* .vol 22, N° 2, (1984), 99-127.

232. Schönian, G., Nasereddin, A., Dinse, N., Schweynoch, C., Schallig, H., Presber, W. & Jaffe, C. "PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples". *Diag Microbiol Infect Dis* 47, (2003), 349-358.
233. Coutinho, MT., Bueno, LL., Sterzik, A., Fujiwara, RT., Botelho, JR., De Maria, M., Genaro, O., Linardi, PM. : "Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol* 2005, 128(1-2):149-155.
234. Solano-Gallego, L.; Rossi, L.; Scroccaro, A.M.; Montarsi, F.; Caldin, M.; Furlanello, T. and Trotta, M. "Detection of *Leishmania infantum* DNA mainly in *Rhipicephalus sanguineus* male ticks removed from dogs living in endemic areas of canine leishmaniasis" *Parasites & Vectors*. 5, 1, (2012), 98.
235. Coutinho MT., & Linardi PM.: "Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals?" *Vet Parasitol*, 147, (3-4), (2007), 320-325.