



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

Essai d'une étude épidémiologique sur la leishmaniose dans la région de la Kabylie.

Présenté par : -BOUAZIZ Soumia

-BELKESSAM Akila

JURY :

Président : YAHIMI.A MCB ISV Blida 1

Examineur : OUAKLI.N MCB ISV Blida 1

Promoteur : DJOUDI.M MCB ISV Blida 1

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

On remercie **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Avant tout on tient à exprimer notre reconnaissance à **Dr Djoudi.M** pour avoir accepté de nous encadrer dans cette étude, pour son suivi et pour son énorme soutien tout au long de la période du projet.

A Monsieur **Yahimi.A**, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de projet de fin d'études, sincères remerciements.

A Madame **Ouakli.N**, qui nous a fait l'honneur d'accepter de faire partie de notre jury de projet de fin d'études, sincères remerciements.

On voudrait remercier tous **les professeurs** de notre institut des sciences vétérinaires de Blida pour nous avoir transmis leur savoir et leur passion tout au long de ces cinq années.

Enfin nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces :

Je dédie ce travail spécialement à mon cher papa **SAID BELKESSAM** qui m'a soutenu pendant mon parcours scolaire et universitaire, toujours présent comme père, frère, ami...

Mon homme protecteur je t'aime vava.

A ma sublime **maman** mon symbole de patience et de courage dans la vie, avec sa douceur et ses douaaas qui m'ont souvent sauvé, protégé et aidé à avancer. Je t'aime nana

A mes frères **AZZEDIN** et **OUALI** pour leurs soutiens et leurs présences autant que meilleurs amis.

A mes sœurs **KARIMA, DJAZIRA, MINA** et ma nièce **CHIDA** que je considère comme ma petite sœur je vous aime vous êtes mes meilleures amies et merci pour vos conseils et vos surprises surtout.

A tous mes petits **neveux** et mes petites **nièces** je vous aime mes petits.

A ma binôme d'amour **SOUMIA**, ma meilleure amie depuis le lycée que j'aime bien, avec qui on a finalisé ce travail avec excellence et sans aucun problème.

A **SARA** ma meilleure amie, merci d'être là à mes côtés dans les meilleurs et les pires moments de ma vie.

A **LYDIA** ma voisine adorée qui me soutient toujours soit avec des jolis mots ou soit avec des bons plats.

A mes camarades **SAMAH, YASMINA, DJOUZA, AHLEM, RYMA, KAHINA, MELISSA, ASMA, KAMELIA, AZZEDIN, BACIM, MOUNIR.**

A tous les gens qui m'aiment et ceux que j'aime.

Dédicace :

Je dédie ce travail à mes très chers parents **Fatima** et **Hacene** qui ont toujours été là pour moi et qui me poussent à aller de l'avant. Pour leur amour, leurs conseils ainsi que leur soutien, à la fois moral et économique, qui m'a permis de réaliser ces études et par conséquent ce mémoire.

A mes sœurs **randa**, **hakima**, et **lina** ainsi que mon frère **Mohamed ali**, pour leurs encouragements.

ALisa et ma binome **Nounou** qui ont toujours été là pour moi. Leur soutien inconditionnel et leurs encouragements ont été d'une grande aide.

SOUMIA

Abstract

Leishmaniasis is a vector-borne disease caused by protozoan parasites of the genus *Leishmania* and transmitted by the bites of female sandflies. It affects both animals and humans.

More than 23 species of *Leishmania* have been described, most of which are zoonotic. The most important *Leishmania* parasite affecting domestic animals is *L. infantum*.

Dogs are considered as the main hosts of the infection.

Leishmaniasis is common in the Mediterranean, South and Central America and Europe, it is a major zoonosis endemic in more than 88 countries, among them Algeria.

Leishmania is a diphasic parasite that completes its life cycle in two hosts, a sandfly that hosts flagellate extracellular promastigotes and a mammal where forms of intracellular amastigotes parasites develop. The sandfly is active from April to October and especially at nightfall.

The transmission of leishmaniasis in dogs is essentially vectorial but other modes of transmission exist such as venereal transmission during mating or pregnancy bitches that can transmit the parasite to their litter.

Canine leishmaniasis is a multisystemic disease with a highly variable range of clinical manifestations. There are two types of leishmaniasis in dogs: a cutaneous or skin infection and a visceral or organic infection.

The number and intensity of clinical signs are determined by a combination of factors involving the parasite strain, genetics and the immune status of the host. In this way, some dogs are able to control the infection for many years without the appearance of clinical signs. On the other hand, some infected dogs may show an acute course and severe disease, or a progressive course that leads inexorably to death, if proper management and therapy is not adopted.

The diagnosis of canine leishmaniasis is often difficult because of its varied clinical table.

The suspicion of this parasitosis in dogs is based on a good anamnesis and exhaustive memorialization and a clinical examination accompanied by further investigations.

The detection of leishmaniasis depends on two main methods, direct and indirect. The direct method is based on parasitological, cytological and histological tests, and a rapid molecular biology technique called Polymerase Chain Reaction (PCR) which allows to obtain a complex and scarce sample of DNA in sufficient quantity.

The indirect method, which is serological, is the most widely used in the diagnosis of leishmaniasis. The immunochromatography test is a qualitative, rapid and easy test unlike the Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Indirect Immunofluorescent Antibody Test (IFAT) which are quantitative tests.

Each test differs in sensitivity and specificity and each of these tests has its advantages and disadvantages.

The treatment options are limited and the most recommended drugs used to treat canine leishmaniasis are meglumine antimoniate in injection form, combined with oral allopurinol in most cases, although these may lead to temporary or permanent remission of clinical signs, but none of them is able to eliminate infections.

Since the dog is the main reservoir, so it is important to take some measures to protect ourselves and the dogs from the bites of infected sandflies through blood meals on infected dogs. For that the prevention of leishmaniasis is an essential approach, based on the control of the vector mosquito, combined with vaccination of dogs in environments with high risk of infestation.

Keywords: leishmaniasis , dog, clinical, immunity ,Leishmania infantum

SOMMAIRE

Introduction1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Définition.....2

2. Historique.....23.

Epidémiologie.....4

3.1. Agent pathogène.....4

 3.1.1. Taxonomie.....4

 3.1.2. Morphologie.....5

3.2. Le vecteur.....6

 3.2.1 Morphologie.....6

 3.2.2 Biologie7

 3.2.3 Nutrition7

 3.2.4 Cycle évolutif7

3.3. Les réservoirs.....8

3.4. Le cycle vital de Leishmania.....9

3.5. Mode de transmission.....10

3.6. La répartition géographique.....10

 3.6.1. La leishmaniose dans le monde.....10

 3.6.2. La Leishmaniose en Algérie11

4. Physiopathologie.....11

5. Aspect clinique des leishmanioses.....	13
5.1. Les signes généraux.....	14
5.2 les signes cutanéomuqueux.....	14
5.3. Les signes oculaires.....	19
5.4 D'autres symptômes.....	20
6. Le diagnostic des leishmanioses.....	21
6-1.Diagnostic clinique et différentiel.....	22
6-2.Diagnostic de laboratoire.....	23
6-2.1.Méthode non spécifique.....	23
6-2-2.Méthode spécifique.....	24
7. Traitement.....	30
8. Prophylaxie.....	34
8.1 Sanitaire	35
8.2. Médicale	35
8.2.1. Les antiparasitaires externes	35
8.2.2 Les vaccins	36
9-conclusion.....	38
Références bibliographiques.....	39

Liste des figures :

Figure 01 : Taxonomie des leishmanias.....	4
Figure 02 :	5
• A-Forme amastigote de leishmanies dans un macrophage	
• B- la lyse du macrophage et libération des leishmanies	
Figure 03 : Forme promastigote de Leishmania.....	5
Figure 04 : Repas sanguin du phlébotome femelle.....	6
Figure 05 : Cycle de vie des phlébotomes.....	8
Figure 06 : Cycle évolutif de Leishmania infantum.....	9
Figure 07 : la répartition géographique de la leishmaniose dans le monde.....	11
Figure 08 : Dichotomie fonctionnelle des deux types de réponse Th1 et Th2.....	13
Figure 09 : Interaction TH1/TH2.....	13
Figure 10 : chien cachectique atteint de leishmaniose.....	14
Figure 11 : Alopecie au niveau des yeux et l'ensemble du corps.....	15
Figure 12 : lésion d'onychogryphose sur un chien atteint de leishmaniose.....	15
Figure 13 : Hyperkératose de la truffe chez un chien avec formation de croûtes.....	16
Figure 14 : hyperkératose nasale chez un jeune labrador.....	16
Figure 15 : chancre d'inoculation au niveau des oreilles.....	16
Figure 16 : épistaxis chez une chienne berger allemande atteinte de leishmaniose.....	17
Figure 17 : ulcération muco-cutanée chez un chien atteint de leishmaniose.....	17
Figure 18 : un chien leishmanien qui présente des squames au niveau de la tête et le pavillon auriculaire.....	18
Figure 19 : papules dues à la leishmania infantum sur l'oreille d'un chien.....	18
Figure 20 : nodules leishmaniens sur le dos d'un chien.....	19
Figure 21 : Le parasite Leishmania infantum observé au microscope à l'intérieur d'un globule blanc.....	19

Figure 22 : conjonctivite et uvéite chez un chien atteint de leishmaniose.....	19
Figure 23 : Electrophorèse des protéines sériques chez un chien leishmanien (Denerolle, 1996).....	23
Figure 24 : Exemple de visualisation des leishmanies sur un prélèvement coloré au MGG...	25
Figure 25 : Diagramme des quatre premiers cycles de la PCR.....	26
Figure 26 : chiens qui présentent des signes cliniques avant le traitement (a c e g), puis leur disparition après 60 jours de traitement avec le miltéfosine (b d f h).....	32

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Fréquence relative des principaux signes cliniques lors de leishmaniose canine.....20

Tableau 02 : classification de la leishmaniose selon les signes cliniques que présente le chien.....21

Tableau 03 : Avantages et inconvénients des méthodes diagnostiques de l'infection à *Leishmania infantum* chez le chien.29

Tableau 04 : le choix d'un protocole thérapeutique en fonction du stade clinique34

Liste des abréviations :

V.I.H : virus d'immunodéficience humaine

IV : leishmaniose visceral

LCZ : leishmaniose cutanée zoonotique

LCN : leishmaniose cutanée sporadique du nord

ELISA: enzyme linked immunosorbent assay

L. infantum :leishmania infantum

WHO : world health organization

µm: micromètre

Mg : milligramme

Kg : kilogramme

CPA : cellule présentatrice d'antigène

CMH II : Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II

Il : l'interleukine

IFN γ : l'interféron gamma

LTa : lymphocyte T auxiliaire

TH1/TH2 : sous types de lymphocyte T auxiliaire

NFS : Numération Formule Sanguine)

g : gramme

l : litre

ADN : l'acide désoxyribonucléique

MGG : May Grunwald Giemsa

ARNr : acide ribosomique

PCR : polymerasechainreaction

SC : sous cutané

IM : intramusculaire

IV : intraveineuse

AC : anticorps

NFS : Numération

Introduction

La leishmaniose, également autrefois nommée Bouton d'Orient, Clou de Biskra, Bouton d'Alep, Kala-azar, fièvre noire, fièvre à phlébotome, fièvre Dum-Dum ou espundia.[1]

La leishmaniose canine est une zoonose infectieuse chronique majeure, elle est causée par un parasite microscopique appelé *Leishmania infantum* qui est transmis par la pique d'un diptère de la famille des psychodidés et du genre *Phlébotomus*.

Cette zoonose touche l'homme et les mammifères sensibles le chien surtout, chat, renard, lièvre, loup, lapin.

La leishmaniose canine se présente sous forme d'une atteinte cutanée et viscérale toujours grave et mortelle sans traitement.

Alors que chez l'homme, cette zoonose a un tableau clinique qui commence par une simple lésion cutanée autorésolutive aux formes cutanéomuqueuse et viscérale qui est mortelle en l'absence de traitement.[2]

Sans oublier qu'il y a des formes asymptomatiques chez les deux espèces.

Dans le monde, on rencontre la leishmaniose autour de la Méditerranée et au Moyen-Orient, en Afrique du Nord et de l'Est, en Asie : Inde, Bangladesh et Chine. Aux USA, en Amérique centrale et en Amérique du sud. [3]

L'Algérie est parmi les pays en voie de développement et ces derniers sont principalement touchés par la leishmaniose canine qui sévit en Algérie à l'état endémique sous trois formes cliniques :

La leishmaniose viscérale (LV), la leishmaniose cutanée sporadique du nord (LCN) et la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ).

Le diagnostic des leishmanioses se fait à la clinique, par une mise en évidence de parasite par examen direct sur une ponction de moelle osseuse ou sur un calque ou au laboratoire sur une prise de sang. [3]

1. Définition

La leishmaniose canine est une maladie zoonotique sévère qui affecte des millions de chiens en Europe, Asie, Afrique et en Amérique. C'est une protozoose infectieuse inoculable contagieuse ; due à la prolifération dans les cellules du système des phagocytes mononucléés d'un flagellé de l'espèce *Leishmania infantum*.

Le chien est considéré comme l'hôte réservoir de *Leishmania infantum* dans l'ancien monde, qui est appelé aussi *Leishmania chagasi* dans le nouveau monde.

Leishmania infantum est typiquement transmise par un groupe d'insectes vecteurs spécifiques, les phlébotomes, qui représentent le risque majeur la transmission. Cependant, des modalités de transmission non vectorielle ont aussi été démontrées (vénérienne, verticale, de chien à chien, par transfusion sanguine). Certains chiens développent une maladie clinique tandis que d'autres restent asymptomatiques. Ces derniers peuvent transmettre la maladie à d'autres chiens.

Les signes cliniques de la leishmaniose canine sont variables. [4]

2-Historique :

D'après les premiers chercheurs, l'observation des lésions cutanées remonte à la plus haute antiquité dans l'Ancien que dans le Nouveau Monde. En XIX^{ème} siècle, la mise en évidence des agents pathogènes et la caractérisation des formes viscérales ont été faites.

Les leishmanioses tégumentaires de l'Ancien Monde, sont des maladies dermatologiques connues depuis bien longtemps.

Dans le X^{ème} siècle, le médecin arabe AL BOUKHARI décrit assurément cette affection cutanée et Avicenne (mort en 1034) l'attribuer à un piqueur de moustique.

La leishmaniose doit son nom à un médecin écossais, William Leishman, premier à découvrir en 1900 le parasite à l'origine de la maladie dans des frottis de la rate d'un soldat mort de fièvre à Dum-Dum en Inde. [6]

En 1904, Cathoire et Laveran découvrent la présence de leishmanies chez des enfants souffrant d'anémie splénique infantile.

En 1908 NICOLLE et COMTE découvrent les mêmes protozoaires chez le chien, puis chez le

Cheval et le chat. Ils font ainsi de cette affection une maladie commune à l'homme et aux autres mammifères.

Le parasite est considéré comme des sporozoaires piroplasmiés à cause de leur adhérence aux hématies, ce dernier fut désigné par *Leishmania infantum* par CH. NICOLLE en 1908. Nicolle durant cette année aussi a pu démontrer l'innocuité de *L.infantum* au chien, avec COMTE découvre la première observation de leishmaniose générale du chien en Tunisie.[1]

En 1913 à Marseille, la leishmaniose canine était observée en Europe par PRINGAULT.[1]

En 1910 en Algérie, la leishmaniose viscérale admet le chien comme réservoir et le premier cas de leishmaniose canine a été rapporté par les frères Edmond et Etienne Sergent.[7]

En 1911 en Kabylie, le premier cas de la leishmaniose viscérale a été découvert par Lemaire.

En 1986, Belazzong déclarait déjà la présence de 21 cas de leishmaniose viscérale à Biskra, foyer de leishmaniose cutanée.[8]

En 1921, les frères Sergent, travaillant à l'Institut Pasteur d'Alger, et leurs collaborateurs établissent le rôle de vecteurs des phlébotomes en réussissant la transmission du « Bouton d'Orient » par application de broyats de ces insectes sur des scarifications cutanées.[5]

A partir de 1985, Les premiers cas de co-infection V.I.H./leishmanies sont signalés [5].

En 1970, ils ont remplacé les anciens tests immunologiques et la farmo-leuco-gélification manquaient de sensibilité et de spécificité par l'immunofluorescence indirecte et la méthode immuno-enzymatique ELISA.[6]

En 1912 au Brésil, Vianna a institué le traitement des leishmanioses cutanée et cutanéomuqueuse, puis Di Cristina et Caronia l'ont utilisé en Italie en 1915 pour un cas de leishmaniose viscérale.

L'obligation de disposer des médicaments plus efficaces a stimulé la recherche de nouveaux composés, conduisant à l'homologation, pour le traitement de la leishmaniose viscérale, de l'amphotéricine B liposomique en 1996, puis de la miltefosine en 2004 et de la paromomycine en 2006.[6]

3-Epidémiologie :

3-1 -AGENTSPATHOGENES

3.1.1Taxonomie

Les leishmanies sont des protozoaires flagellés, sanguicoles, qui appartiennent à l'ordre des Kinetoplastida(caractérisé par la présence d'un ADNintra-mitochondrial appelé kinétoplaste). Et à la famille desTrypanosomatidae qui comprend entre autres les leishmanies et les trypanosomes. [9]

Le genre Leishmania comprend une trentaine espèces d'importance médicale etvétérinaire,avec deux sous genres: Leishmania (Ancien et Nouveau Monde) et Vianna (Nouveau Monde).

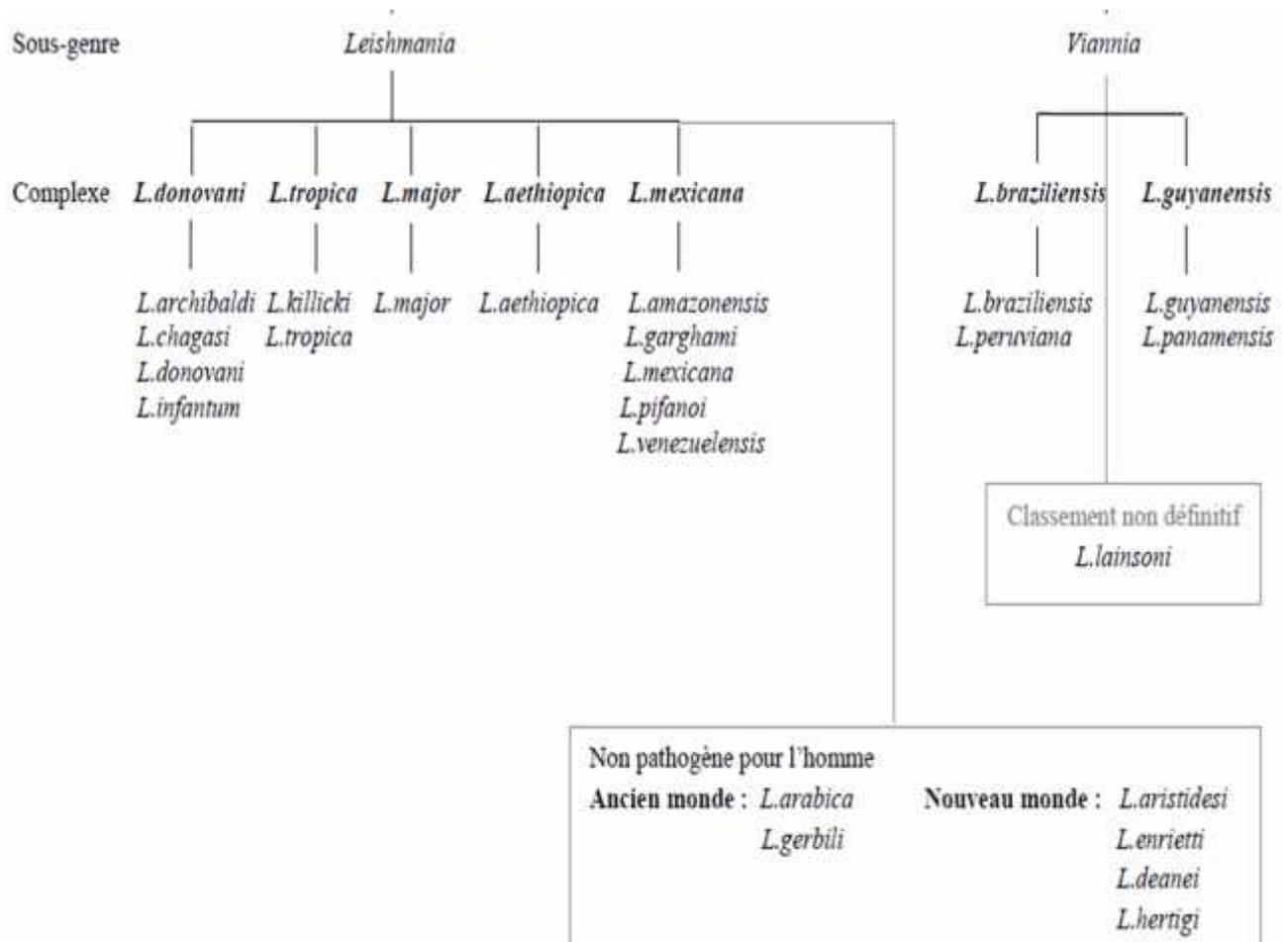


Figure 01 : Taxonomie des leishmanias [6]

3.1.2. Morphologie

Les Leishmanias présentent au cours de leur cycle évolutif deux stades morphologiques : le stade promastigote et le stade amastigote qui se multiplient tous les deux par division binaire.[9]

A-Forme amastigote :

Se trouvant chez l'individu parasité, elle est obligatoirement intracellulaire. Elle est arrondie, mesure 3 à 4 μm de diamètre et possède un flagelle intra cytoplasmique et un noyau volumineux. [9,10]

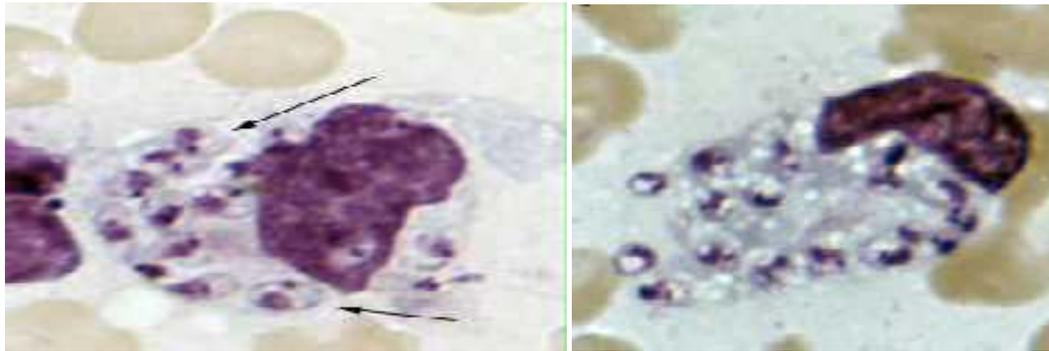


Figure 02 :[3]

A-Forme amastigote de leishmanias dans Unmacrophage B- la lyse du macrophage et libération des amastigotes

B-Forme promastigote : C'est la forme qui se trouve en culture et chez le vecteur dans le tube digestif. Elle est fusiforme, de 15 à 20 μm de longueur présentant un noyau approximativement central et possède un flagelle libre. [11]

Elle est infestante pour l'homme.

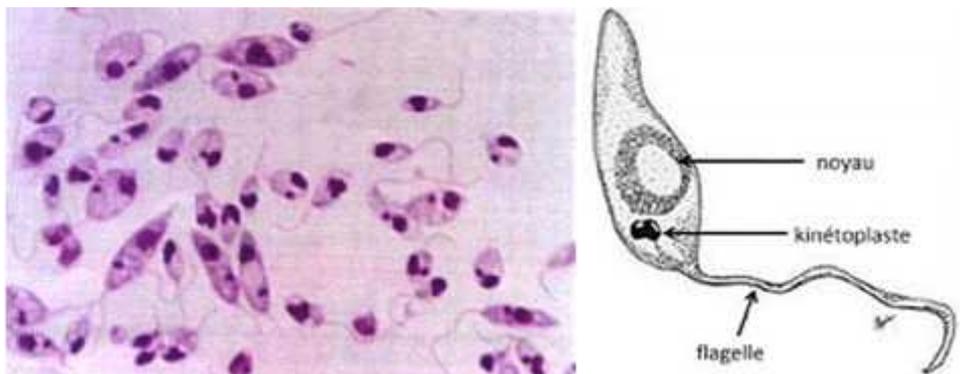


Figure 03 : Forme promastigote de Leishmania [Anonyme 1]

3-2 Le vecteur :

La leishmaniose est une maladie à focalisation vectorielle, il est établi que les phlébotomes sont les seuls vecteurs capables de transmettre les leishmanies aux mammifères. D'autres modes de transmission sont suspects mais ils restent marginaux, notamment dans les régions endémiques où les phlébotomes sont très présents [12]

Phlébotome :

3.2.1-Morphologie :

Sont des diptères hématophages de petite taille d'environ deux à trois millimètres de longueur, dont le corps ainsi que les ailes sont très poilus [12]. Il est doté d'un appareil buccal muni d'une trompe assez courte servant à piquer et à sucer le sang, deux ailes couvertes de soie, elles sont de forme lancéolée.[9]

Ils sont de couleur claire, jaune pâle à peine visible à l'œil nu [9].



Figure 04 : Repas sanguin du phlébotome femelle.

Source: Frank Collins - The Centers for Disease Control

3.2.2-Biologie :

Sont présents dans les pays tropicaux où ils sont actifs une grande partie de l'année voire toute l'année, et seulement pendant la saison chaude (été) dans les régions tempérées où ils confèrent la maladie un aspect saisonnier.

Ce sont des petits insectes dont l'activité maximale est crépusculaire.[12]

3.2.3-Nutrition :

Les phlébotomes des deux sexes se nourrissent de sucres végétaux, mais seule la femelle est hématophage ; étant donné que le sang est utile pour le développement de ses œufs. Les mâles ne boivent pas de sang : ils sont incapables de transpercer la peau des animaux du fait de l'absence de mandibules.[13]

Chez l'homme, ce sont les parties découvertes du corps qui sont exposées aux piqûres. Le visage, le cou, les mains et les pieds ; chez les animaux, des secteurs dépourvus de poils : le museau et les oreilles.[12]

3.2.4-Cycle évolutif :

Les phlébotomes sont des insectes holométaboles, leur développement comporte une métamorphose complète avec un stade nymphal, se distinguant par trois phases pré imaginaires : œuf, larve, nymphe et imago.

Une fois gorgée de sang, la femelle prend une brève période de repos avant de rejoindre un abri où elle digère son repas. Au bout de 4 à 10 jours, les œufs sont pondus un à un dans des endroits humides, sombres et calmes, il peut s'agir de fumier, creux d'arbre, terrier, anfractuosités de murs...etc. [11]

Les œufs éclosent au bout de 10 jours en moyenne, donnant naissance à des larves terricoles, saprophages et phytophages. On observera ensuite une nymphe pour finalement aboutir à un imago.[6]

Le développement total de l'œuf à l'adulte prend 20 à 60 jours, en l'absence de toute diapause. La durée de vie des adultes est en fonction de la température (plus celle-ci est basse plus la durée de vie est élevée) et de l'humidité. [6]

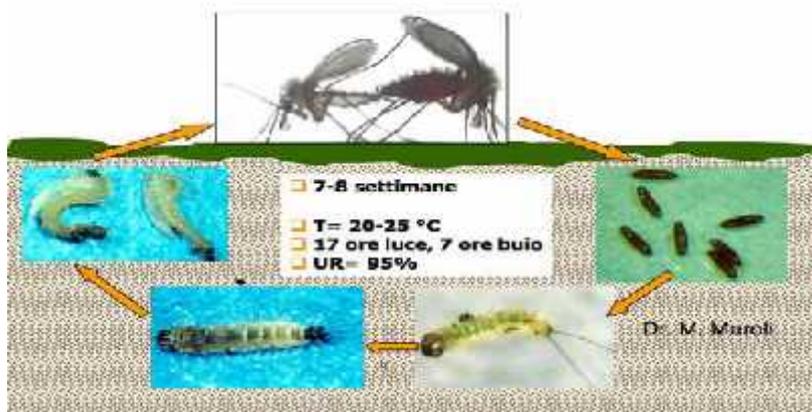


Figure 05 : Cycle de vie des phlébotomes. (Dr MAROLI.M)

3.3-les réservoirs :

Un être vivant est reconnu comme un réservoir s'il représente dans le milieu naturel une source d'infestation pour les phlébotomes et si le taux des animaux trouvés infectés est élevé. Un bon réservoir doit présenter une infection prolongée mais pas trop sévère pour représenter une source réelle d'infection pour les phlébotomes.

Et ce réservoir naturel des leishmanies fait partis des mammifères.

- La leishmaniose est dite Zoonotique en cas ou le réservoir appartient aux carnivores, rongeurs, marsupiaux, primates ...[14,15]
- La leishmaniose est dite anthroponotique lorsque l'homme est l'unique réservoir de ce virus.[14,15]

En Algérie, la leishmaniose viscérale admet le chien comme réservoir, depuis les travaux des frères Sergent en 1910 [6]. Plus tard, Dedet et *al*, en 1977, ont montré que 11.4% des chiens de la Grande Kabylie étaient atteints [16]. Ce rôle de réservoir n'a pas été admis que par déduction, et ce sont les travaux de Belazzoug et *al*.(1984-1985 et 1987) qui ont confirmé le rôle joué par cet animal et fait la corrélation entre foyer de leishmaniose canine et leishmaniose viscérale humaine .[17,18]

La leishmaniose canine concerne tout le territoire national avec une prévalence qui varie d'une région à une autre.

3.4-Le cycle vital de leishmania :

Le cycle évolutif de leishmania est hétéroxène, il se déroule entre deux hôtes ; un vertébré (homme, chien, rongeur...) et un invertébré vecteur, le phlébotome.[12]

Le phlébotome s'infecte au cours de la piqûre, en absorbant des amastigotes en même temps que le repas sanguin. Autrement dit il devient porteur de leishmanies en se nourrissant sur un animal malade.[13]

Les amastigotes évoluent en formes promastigotesprocyclique dans le tube digestif du moustique, puis ils se multiplient et se différencient en promastigotesmétacycliques qui migrent vers les trompes.

Au cours d'un repas de sang, les phlébotomes injectent des promastigotesmétacycliques par leur trompe. Ces derniers vont être phagocyté par les macrophages et d'autres cellules phagocytaires mononuclées de l'hôte, et deviennent des formes amastigotes qui résistent à l'environnement hostile du phagolysosome et s'y multiplient. La cellule est lysée et libère les formes amastigotes qui iront infecter d'autres cellules phagocytaires ou bien des tissus, selon le tropisme de l'espèce concernée. [11 ,13]

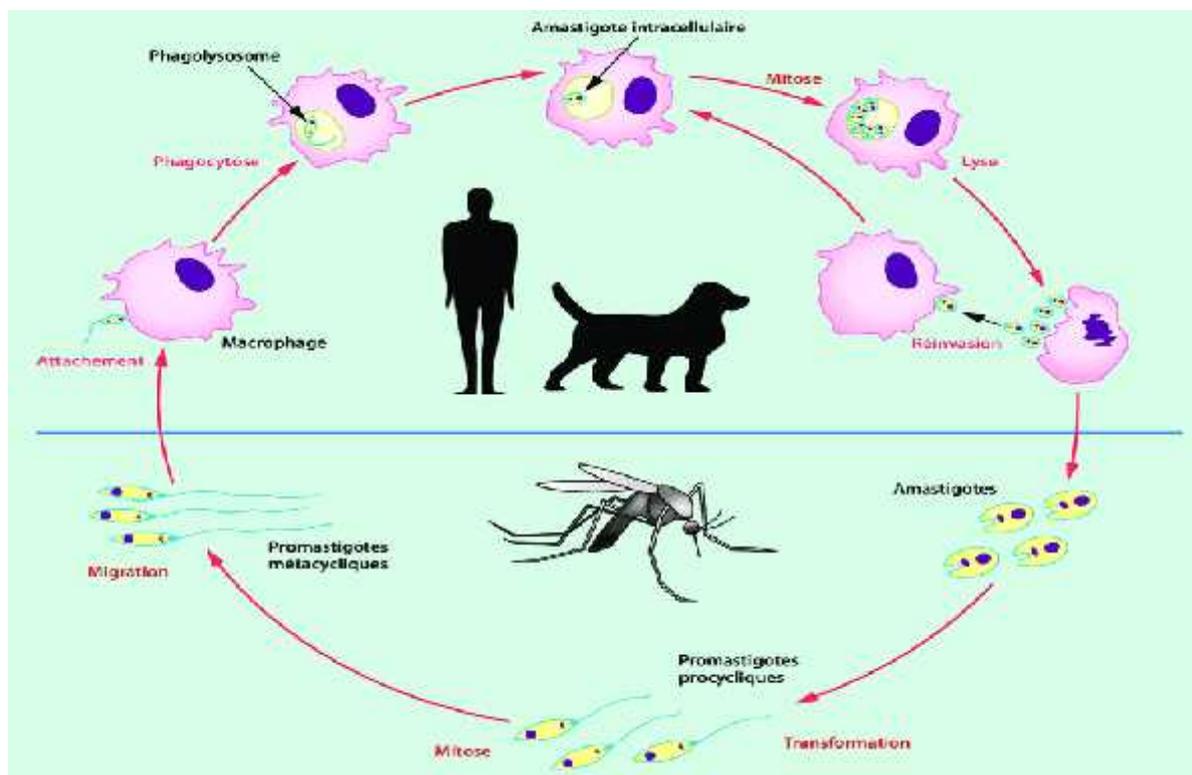


Figure 06 : Cycle évolutif de Leishmania infantum. (Lamoureux.A and al 2016)

3.5-Mode de transmission :

a-Transmission vectorielle :

La contamination tant animale qu'humaine est exclusivement, vectorielle ; parmi les insectes vecteurs de pathogènes, seuls les phlébotomes (diptères psychodidés) sont impliqués.

La plupart des espèces de phlébotomes ne jouent aucun rôle dans la transmission de la leishmaniose, sur quelque 800 espèces de phlébotomes, 93 seulement sont des vecteurs démontrés ou probables de leishmanies.[6]

b-Transmission verticale :

Le fœtus'infecte durant la gestation ou à la naissance, cette transmission est parfaitement démontrée chez le chien. Au Brésil le premier cas de transmission verticale de *L. infantum* a été confirmé par PCR et la technique d'immunohistochimie dans des échantillons de rate et de foie de deux chiots morts, nés d'une chienne naturellement infectée par *L. infantum* dans la ville de Belo Horizonte, zone d'endémie de la LV.[19]

c-Transmission vénérienne :

Le premier cas était montré en Angleterre, une femme qui n'a jamais quitté son pays a présenté une lésion leishmanienne vulvaire, Son mari, par contre, était porteur d'un kala-azar contracté en Afrique.[20]

D'autres modes de transmission ont été décrits mais leur rôle dans l'histoire de la maladie et dans son épidémiologie ne reste pas clair. La contamination de chien sain via la transfusion de sang parasité, La transmission par contact direct chien-chien via plaies ou morsure est suspectée mais non prouvée.

3.6-La répartition géographique :

3.6.1-La leishmaniose dans le monde :

La leishmaniose est une maladie largement répandue, elle est dépendante de la présence de phlébotomes dans l'environnement. Ces derniers sont présents en région méditerranéenne, en Afrique, au Moyen-Orient, en Asie, en Amérique Centrale et du Sud ainsi que le sud de l'Europe.

Elle est considérée comme endémique sur quatre continents, elle affecte 88 pays y compris l'Algérie.[9]

Selon l'Organisation mondiale de la santé on estime environ 350 millions de personnes qui sont exposées au risque de leishmaniose, et 12 millions de personnes infectées par les différentes Leishmania.[15]

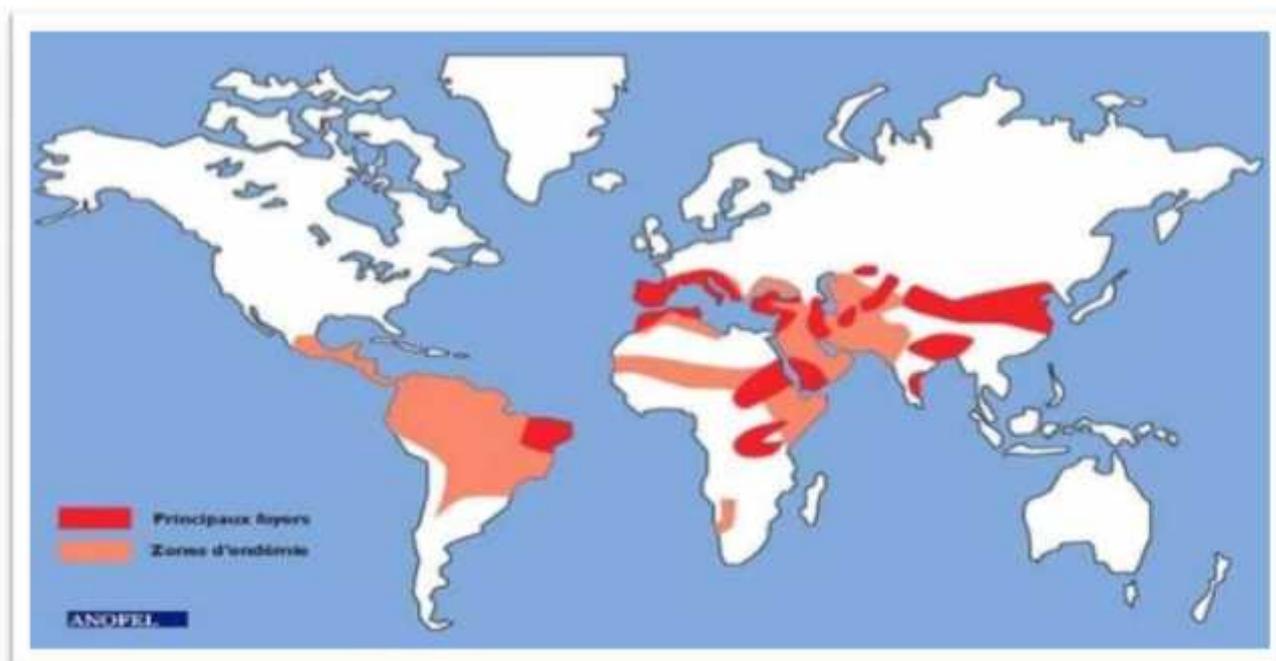


Figure 07 : la répartition géographique de la leishmaniose dans le monde [9]

3.6.2-La leishmaniose en Algérie :

Deux formes cliniques de leishmaniose sont connues pour sévir en Algérie, la forme viscérale et la forme cutanée.

La leishmaniose canine concerne tout le territoire national avec une prévalence qui varie d'une région à une autre.

La région de Tizi-Ouzou, située en Kabylie, est connue depuis longtemps comme étant le foyer le plus actif de la leishmaniose viscérale, vu les conditions climatiques qui permettent le développement de phlébotomes. C'est aussi un foyer de leishmaniose canine.[21]

4-physiopathologie :Après avoir reçu plusieurs piqûres itératives de phlébotomes infectés, leur salive favorise les premières étapes de l'infection car elle contient des substances pharmacologiquement actives qui produisent une vasodilatation et une immunodépression locale.

Le statut clinique et biologique diffère d'un animal à un autre car ils dépendent des capacités de défense immunitaire.

Immunité :

L'infection chez le chien peut se manifester de manière subclinique ou sous la forme d'une maladie limitée voir même sévère.

L'infection dépend d'une phagocytose rapide des promastigotes et de leur transformation en amastigotes qui, dans une vacuole parasitophore, résistent aux mécanismes de défense cellulaire. Le macrophage joue alors le rôle de cellule présentatrice d'antigène (CPA). Il possède à sa surface des molécules appartenant au Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II (CMH II). Ces dernières vont s'associer avec les antigènes et les ramener à la surface du macrophage pour les présenter à des récepteurs antigéniques CD4 de lymphocytes T auxiliaires naïfs (LTa). Par la suite le macrophage produit l'interleukine IL-1 et IL-12, qui entraînent à la prolifération et la différenciation du LTa [13]. A ce niveau-là, deux orientations sont possibles :

a-une réponse immunitaire à médiation cellulaire dite de type TH1 : Dans un environnement riche en IL-12, le LTa se différencie en LTa1. Ce dernier produit des cytokines telles que l'interféron gamma (IFN γ), l'IL2 et le facteur de nécrose tumorale TNF α responsables de l'activité anti-leishmanies des macrophages. Ces cytokines jouent un rôle dans l'activation des mécanismes à médiation cellulaire et l'inhibition de la réponse à médiation humorale. [13]

Il est apparu que les chiens qui développent une réaction immunitaire à médiation cellulaire sont souvent résistants ou asymptomatique. [12]

b- une réponse immunitaire à médiation humorale dite de type TH2 : Dans un environnement riche en IL-4, le LTa se différencie en LTa2. Ce dernier produit des cytokines dont les principales sont l'IL-4, l'IL-10, l'IL-5 et l'IL-6. Elles entraînent une synthèse d'immunoglobulines de types IgG1. L'IL-4 et l'IL-10 inhibent la réponse immunitaire TH1. Enfin, l'IL-10 favorise la dissémination parasitaire par son action antagoniste à celle de l'IFN γ au niveau du macrophage. [13]

Les chiens qui présentent des signes cliniques sont fréquemment associés à une réponse immunitaire à médiation humorale intense mais non protectrice. [12]

Il est important de noter que la résistance à la leishmaniose clinique est sous le contrôle d'un grand nombre de gènes mais elle dépend aussi de plusieurs facteurs tel que la présence d'infections concomitantes ou d'états d'immunodépression, la malnutrition, la charge du parasite et sa virulence, l'environnement en cytokines.[13]

Certaines races comme les Boxers, les Cocker Spaniel, les Rottweilers et les Bergers allemands semblent être plus sensibles au développement de la maladie. [22]

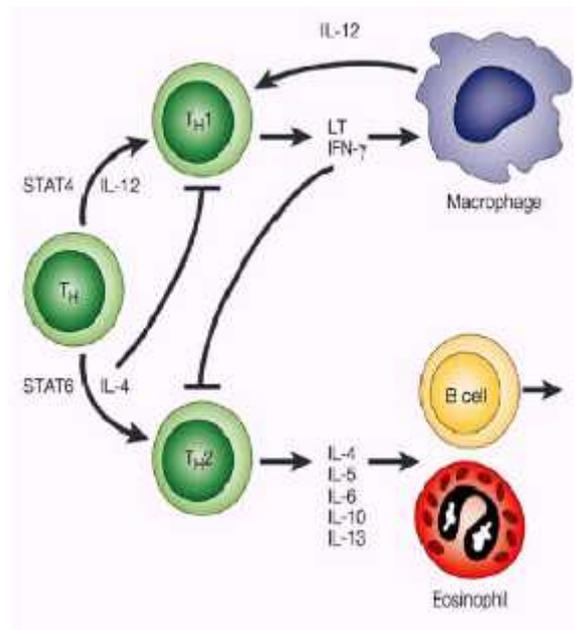
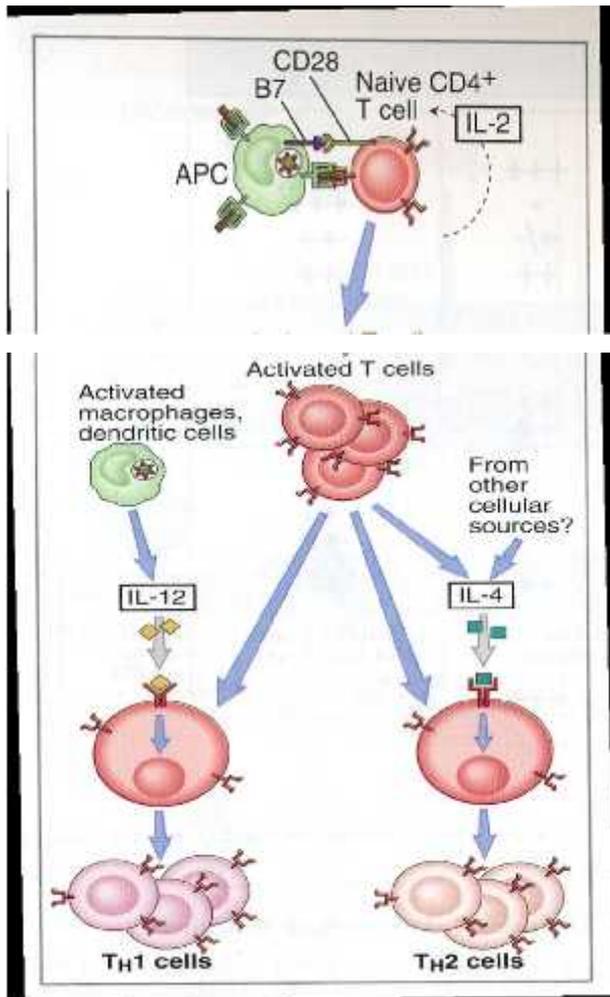


Figure 08 : Dichotomie fonctionnelle des deux types de réponse Th1 et Th2

Source : infectiologie.org.tn

5. Aspect clinique des leishmanioses

Le temps d'incubation est d'un à 3 mois mais peut s'étendre sur quelques années, l'expression des signes cliniques dépend de type de la réponse immunitaire qui prédomine chez le chien. Dans certains cas l'animal peut être porteur de cette maladie mais ne présente aucun

symptôme particulier, dans les autres cas elle s'exprime par divers signes plus ou moins importants tel que [23] :

5.1 – les signes généraux :[2]

- Modification du caractère : triste, apathique, ne joue plus et dort beaucoup.
Les maîtres disent souvent que leur compagnon a pris un coup de vieux
- Abattement : très fréquent et peut aller jusqu'à l'inactivité totale.
- Amyotrophie (fonte musculaire): d'abord la tête avec les muscles temporaux et masticateurs (tête de vieux chien), puis sur l'ensemble du corps.
- Amaigrissement, anémie, fièvre transitoire



Figure10_: chien cachectique atteint de leishmaniose [3]

5.2- Les signes cutanéomuqueux :[2, 12,24]

- **Alopécie** : une perte de poils importante notamment autour des yeux (cela forme comme des lunettes), museau, oreille, membres



Figure 11 : Alopecie au niveau des yeux et l'ensemble du corps chez un chien atteint de leishmaniose. [Anonyme 1]

- **Onychogryphose** : Croissance excessif et rapide des ongles, on parle « d'ongle de fakir »



Figure 12 : lésion d'onychogryphose sur un chien atteint de leishmaniose [3]

- **Hyperkératose** : c'est-à-dire l'épaississement et la pigmentation de l'épiderme, ce qui donne un aspect grisâtre de la peau au niveau de la truffe, oreilles et coussinet.



Figure 13 : Hyperkératose de la truffe chez un jeune chien avec formation de croûtes

Figure 14 : hyperkératose nasale chez un labrador

[Anonyme 3]

- **Chancre d'inoculation** : il s'agit du point d'inoculation des leishmanies par le vecteur, on le trouve souvent au niveau des zones qui sont peu recouvertes de poils. C'est une lésion rougeâtre, un peu surélevée, La lésion peut ensuite s'aggraver et se mettre à saigner puis à former une croûte. Les lésions d'inoculation peuvent persister plusieurs mois et disparaissent spontanément.



Figure 15 : chancre d'inoculation au niveau des oreilles.

Source :Centro Veterinário de Alverca

- **Les ulcérations** : On les trouve sous forme humide ou sèche au niveau de l'oreille interne, coussinet, muqueuses dans le nez (écoulement du sang) (figure 15) , muqueuse des babines
- **Squamosis** : il se présente sous forme de squames abondantes sur la peau, avec une couleur blanc nacré caractéristique. Il peut être généralisé ou localisé ; on parle de « furfurleishmanien »
- **Hémorragies** : On retrouve de l'épistaxis qui est parfois le seul motif de la consultation, de rare entérite hémorragique.



Figure 16 : épistaxis chez une chienne berger allemand **Figure 17** : ulcération muco-cutanée chez un atteint de leishmaniose.[3] chien atteint de leishmaniose.

(Baneth.G, PETERSANS.C,2011)



Figure 18 : un chien leishmanien qui présente des squames au niveau de la tête et le pavillon auriculaire. (Baneth.G, PETERSANS.C,2011)

- **Nodules sous-cutanés, papules, pustules** : Ils sont de taille et de distribution variables. Il peut s'agir de simple papule ou des nodules pseudo-tumoraux (figure 18). Ces lésions contiennent un grand nombre de macrophages infestés de leishmanies. On peut facilement les confondre avec des tumeurs de la peau, mais la mise en évidence d'une ponction simple que l'on met sur microscope après coloration, nous indique qu'il s'agit bien de nodules leishmaniens (Figure 19). Elles disparaissent une fois qu'on commence le traitement de la leishmaniose.

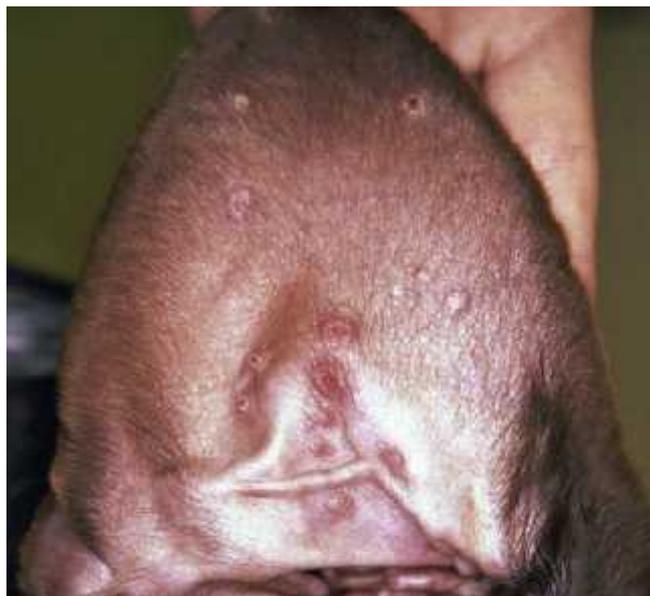


Figure 19 : Multiples papules due à la leishmania infantum sur l'oreille d'un chien.(Baneth.G, PETERSANS.C,2011)

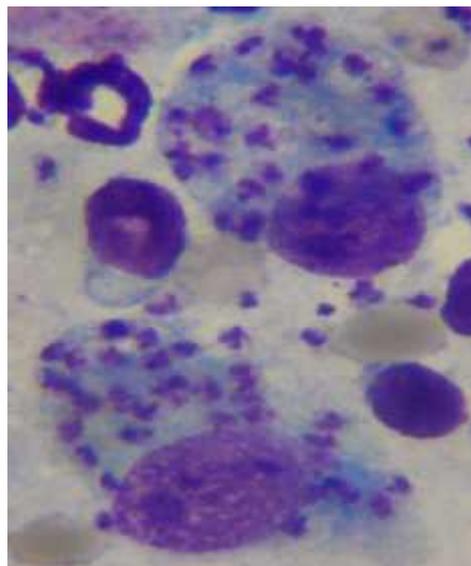


Figure 20 : nodules leishmaniens sur le dos d'un chien. [3] **Figure 21** : Le parasite *Leishmania infantum* observé au microscope à l'intérieur d'un globule blanc. [3]

5.3-les signes oculaires :

Approximativement 16% à 80.5% des chiens qui sont atteints de la leishmaniose présentent des lésions oculaires [24]. On observe le plus souvent une atteinte des paupières ou blépharite, des conjonctives diffuses ou nodulaires, des kératites, une kérato-conjonctivite sèche ou simple et une uvéite, on peut aussi retrouver des granulomes sur la paupière ou la membrane nictitante [12]. Dans certains cas les lésions oculaires sont les seuls signes cliniques de la leishmaniose canine. [24]

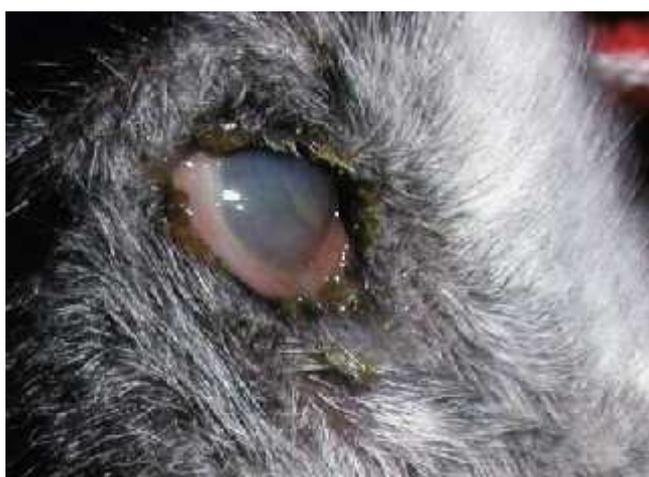


Figure 22: conjonctivite et uvéite chez un chien atteint de leishmaniose. (Baneth.G, PETERSANS.C,2011)

4- D'autres symptômes :

- **La splénomégalie** : fréquente lors de la leishmaniose canine, elle est la conséquence de l'infiltration de l'organe par des cellules du système immunitaire .la rate est parfois douloureuse à la palpation.[24]
- **Atteinte rénale** : elle est assez fréquente, et parfois il peut même s'agir du seul signe clinique exprimé par l'animal. Cette atteinte peut s'exprimer par une protéinurie légère, asymptomatique et se développer jusqu'au syndrome néphrotique sévère, stade final de la maladie rénale. [12]
Il en résulte des symptômes tels que : l'abattement, perte d'appétit, vomissements, dus à l'augmentation de l'urée et de la créatinine. L'insuffisance rénale chronique est la principale cause de décès lors de leishmaniose clinique.[2]
- **Atteinte des nœuds lymphatiques** : une hypertrophie des nœuds lymphatiques est due à l'augmentation en taille et en nombre des follicules lymphoïdes et l'hyperplasie des macrophages médullaires.

Il existe d'autre forme clinique atypique qu'on trouve rarement chez un chien atteint de leishmaniose comme [12]:

- Atteinte nerveuse : méningite, parésie, paraplégie
- Hépatite chronique
- Atteinte de l'appareil locomoteur : polyarthrite, périostite
- Diarrhée
- Atteinte musculaire : myosite, myocardite
- Lésions osseuses prolifératives ou lytiques

Signes cliniques	% des chiens qui présentent ces symptômes
Affection cutanée	81 à 89 %
Hypertrophie des nœuds lymphatiques	62 à 90 %
Affection oculaire	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 30 %

Tableau 01 : Fréquence relative des principaux signes cliniques lors de leishmaniose canine

Source :(Issu de Baneth et al, 2008)

La classification clinique de la leishmaniose :

Le CLWG propose ensuite une classification clinique de la leishmaniose

Stade de l'infection	L'état du chien	Signes cliniques et biologiques
Stade A	Chien à risque	Cytologie, histologie, négatives, taux d'anticorps faible, chien normal ou présentant des signes compatibles avec une autre maladie, vivant ou ayant séjourné en région d'enzootie.
Stade B	Chien infecté	Hébergeant <i>Leishmania</i> (preuve par examen direct) et présentant un taux d'anticorps faible. En bonne santé ou présentant des signes non caractéristiques de leishmaniose.
Stade C	Chien malade	Cytologie et/ou PCR positives et/ou taux d'anticorps élevé. Au moins un signe clinique caractéristique de la leishmaniose.
Stade D	Chien gravement malade	Protéinurie ou IRC, signes cliniques associés (oculaires ou arthrite), maladies concomitantes, échec thérapeutique suite à l'emploi répété de leishmanicides.

Tableau 02 : classification de la leishmaniose selon les signes cliniques que présente le chien [25]

6-Diagnostic :

Le diagnostic de La leishmaniose canine peut s'avérer compliquée et pas toujours aisé. Comme de nombreuses d'autres maladie qui doivent être diagnostiquées le plus tôt et le plus sur possible, dans le but de :

- Confirmer l'atteinte qui veut dire établir si un chien présentant des symptômes ou des anomalies para-cliniques compatible avec la leishmaniose est certainement malade à cause de la contamination par ce parasite. Pour appliquer une bonne conduite à tenir.
- Etudier le taux de propagation de l'infection des chiens asymptomatiques pendant des études épidémiologiques spécialement dans des zones endémiques pour éviter la contamination à partir de chiens cliniquement sains par des transfusions sanguines et arrêter l'importation de chiens malade dans des régions non-endémiques.

Les manifestations cliniques de la leishmaniose canine sont variées et les examens complémentaires sont obligatoires donc plusieurs types de diagnostics existent :

6-1. Diagnostic clinique et différentiel :

6-1-1. Diagnostic clinique :

Le vétérinaire pourra diagnostiquer cliniquement après une bonne anamnèse pour avoir une idée sur le mode de vie du chien, si son foyer est leishmanien et une remarque bien précise des symptômes pour appuyer sur la suspicion de leishmaniose.

La leishmaniose canine est très polymorphe comme on l'a vu dans la partie précédente «< l'Aspect clinique de la leishmaniose canine >> , elle peut présenter tous les types de symptômes, elle peut faire une combinaison de ces derniers ou d'un seul.

6-1-2. Diagnostic différentiel :

Vu que cette zoonose est protéiforme et se présente selon des différentes formes cliniques, Donc son diagnostic différentiel est très vaste. On peut classer pour les plus connues [26] :

- Maladie avec des lésions cutanées et de la muqueuse : vascularité, démodécie, pyodermite, dermatite atopique, lupus érythémateux systémique, granulomateuse, pemphigus foliacés et adénite sébacée.
- Maladie avec polyadénomégalie : lupus érythémateux, pyodémécie, lymphome multicentrique, pyodermes profondes et migration de larves de nématodes.
- Maladie infectieuse : hématozoonose, ehrlichiose, babésiose .

Sans ignorer les symptômes qui sont moins courants : l'épistaxis, les pathologies ostéo-articulaires, oculaires, ou rénales.

Quelque fois, ces affections sont associées à la leishmaniose ce qui rend le diagnostic plus difficile.

6-2. Diagnostic de laboratoire :

6-2.1 Méthode non spécifique :

➤ Hématologie et biochimie :

Aide à faire des diagnostics différentiels parfois. Ils sont des examens non spécifiques qui ne constituent pas les diagnostics de certitude.

▪ NFS(Numération Formule Sanguine) :

On l'appelle aussi l'hémogramme, c'est un examen du sang qui compte les éléments figurés du sang : les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes et aussi le taux d'hémoglobine et les différentes variétés de globules blanc : lymphocytes, monocytes et polynucléaires.

Cette parasitose causera des anomalies de l'hémogramme avec anémie plus ou moins régénérative normocytaire et normochrome, leucocytose en début de maladie et leucopénie plus tardive conséquence d'une lymphopénie et souvent monocytose et thrombocytopenie.[27,28]

▪ Electrophorèse des protéines :

C'est un examen qui fait migrer les différentes protéines en fonction de leur poids et de leur charge électrique.

La leishmaniose se caractérise par l'hyperprotéinémie (>70g/l), cette dernière interprète la réponse humorale non spécifique. L'électrophorèse des protéines facilite d'imputer cette élévation à celle des globulines, on observe β -gamma globulines en « pain de sucre » sur la figure n°23, qui diffère par rapporte à l'ancienneté de l'infection. [28]

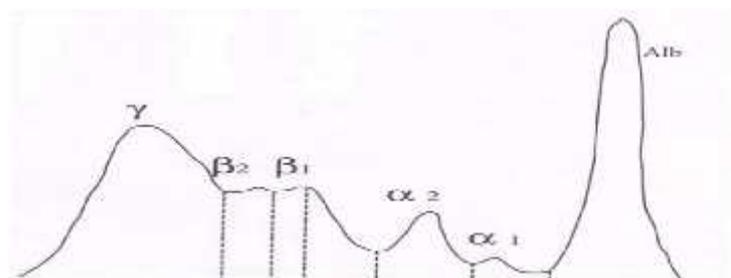


Figure 23 : Electrophorèse des protéines sériques chez un chien leishmanien (Denerolle, 1996)

- Formoleucogélification :

C'est un simple test intéressant qui se réalise par l'ajout d'une goutte de formol dans 1 ml de sérum : si y'aura une gélification et une opacification dans les minutes suivantes ça explique une Hyperglobulinémie. [28]

Cet examen n'est pas spécifique et se révèle positive dans toutes les maladies qui cause une hyperprotéinémie (cancer, ankylostomose, cachexie ...)

6-2-2. Méthode spécifique :

- **Technique directe :**

C'est une technique de diagnostic directe qui met en évidence la présence de leishmanie sous la forme amastigote ou de son ADN après quelques semaines de contamination. Ça se réalise par des méthodes différentes à partir des échantillons obtenus par biopsie, ponction du nœud lymphatique ou de la moelle osseuse et rarement par raclage conjonctival ou biopsie de la ratte ou foie. [27,28]

D'après Djeddar-Mihoubi en 2006, c'est possible de trouver des amastigotes dans le sang.

Il y' a une catégorie des chiens infectés qu'après leurs premier diagnostic direct positif après peu de temps peuvent présenter un résultat négatif et sans aucun traitement. Onne sait pas si les parasite ont été éliminé ou sont devenus indétectables ou bien lesprotozoaires sont dans des tissus différents de ceux examinés lors du premier diagnostic. [34]

Ce sont les seules méthodes de diagnostic de certitude. [27,28]

- **Parasitologie :**

La cytologie :

Ce fait à partir des échantillons obtenus après une aspiration à l'aiguille fine de tissus ou de lésions papuleuses, nodulaires ou ulcéraives, cutanées, de la moelle osseuse ou des nœuds lymphatiques, ou encore de liquides biologiques tels que du sang, du liquide synovial, du liquide céphalo-rachidien...etc, seront fixés au méthanol sur des lames, puis colorés au MGG [29]

La cytologie permet la détection au microscope des leishmanies dans les macrophages, les monocytes ou des neutrophiles ou dans l'espace extracellulaire d'après la destruction cellulaire

pendant la préparation des frottis des cellules très infectés et l'absence des amastigotes ne permet pas d'exclure une leishmaniose.

L'identification est selon des critères précis de taille et forme, les leishmanies apparaissent sous forme amastigote, des cellules ovoïdes ou ellipsoïdes de tailles variable (2 à 6 μm), avec un cytoplasme bleu pale, un noyau arrondi de couleur rouge pourpre et un corps de forme de bâtonnet de couleur violette qui est le kinétoplaste.[11]

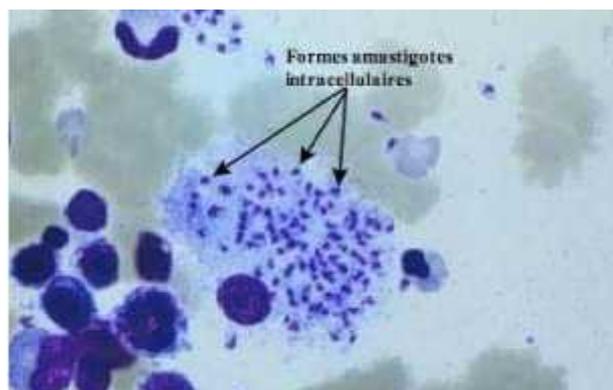


Figure 24 : Exemple de visualisation des leishmanies sur un prélèvement coloré au MGG.

L'histologie :

Des préparations de sections de tissus colorés à l'hémalun-éosine classique permettent de détecter des leishmanies et/ou des modifications dans la structure des tissus (en cas de présence de modifications tissulaires sans la détection de parasite, une coloration immunohistochimique s'impose en utilisant des anticorps anti-leishmanies), l'observation est plus difficile que lors de diagnostic cytologique. [29]

▪ **Polymerase Chain Reaction (PCR) :**

Réaction en chaîne par polymérase est une technique rapide et un outil précieux dans le domaine de la biologie moléculaire, ça permet d'identifier et d'amplifier le matériel génétique d'un agent pathogène [30], d'un échantillon conservé en frais, congelés ou fixés dans l'alcool à 95% et envoyé dans laboratoire équipé avec du personnel spécialisé.

Dans le cas de la leishmaniose canine, la PCR consiste en l'amplification d'une séquence d'ARN ribosomique (ARNr) ou une séquence d'ADN kinétoplastique (ADNk) d'un prélèvement de la moelle osseuse, ponction de nœuds lymphatiques, sang, biopsies de peau, raclage cutané et

d'après Maia et Campino en 2008, l'ADN de leishmanie est également retrouvé dans d'autres tissus : foie, poumons, intestins, spermés, organes génitaux, reins, lait ou aussi urine. [31]

En 1999, Roura et coll déclarent que la PCR est plus sensible que la sérologie.

Le degré de sensibilité de cette technique dépend du nombre de copies du fragment à amplifier qui a le parasite. S'il y'a un nombre élevé, il y'aura une amplification plus visible même sur un faible nombre de parasite : la sensibilité sera élevée.

Mais s'ils ont un fragment avec un très peu de copies par parasite, pour que l'amplification soit visible il faudra un grand nombre de parasite donc la sensibilité sera plus faible.

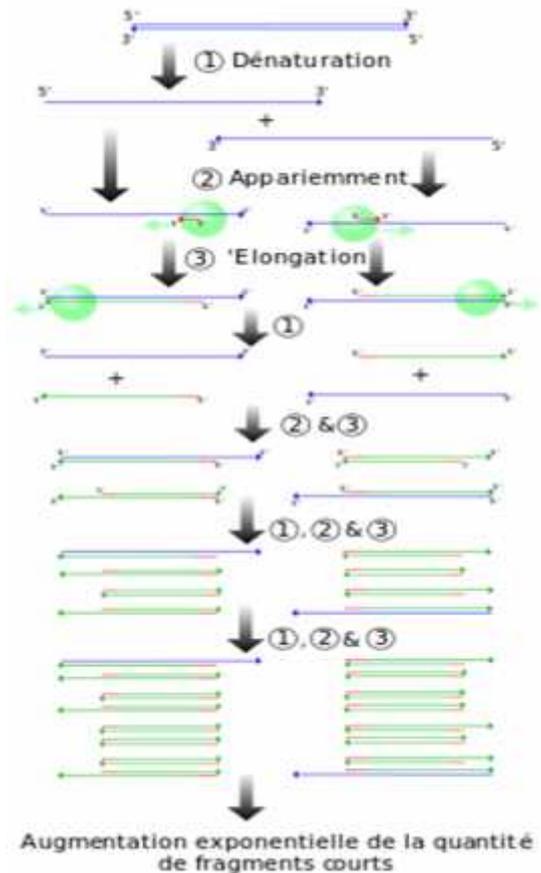


Figure 25 : Diagramme des quatre premiers cycles de la PCR.

Il y'a trois méthodes de PCR qui sont valables :

- La PCR conventionnelle dite classique.
- La PCR nichée.
- La PCR quantitative en temps réel.

La PCR niché dite « nested-PCR » :

Elle se pratique comme la PCR classique avec le couple d'amorces externes pour 10 cycles d'amplification, on les met à incuber avec un autre couple d'amorce interne avant de prolonger l'amplification pour encore 25 cycles. Ça permet d'obtenir l'amplification spécifique d'un seul

fragment. L'hybridation, de ces amorces sur les produits d'amplification erratiques, a une probabilité très faible.

Cette technique est plus sensible et moins spécifique que la première vu les étapes supplémentaires du processus augmentent le risque de contamination. [12]

La PCR en temps réel dite quantitative :

C'est une méthode spéciale de PCR en utilisant des sondes fluorescentes aide à suivre depuis le début l'amplification de séquences d'ADN spécifique, ça mesure le nombre d'amplicon qui est une portion d'ADN définie par un couple d'amorces. Cette technique a une réduction du temps expérimental et une meilleure sensibilité par rapport aux techniques de PCR classique. Elle est très utile pour suivre le traitement des animaux leishmaniens. [32]

Si le résultat de la PCR est négatif chez un chien qui est suspect, ce n'est pas suffisant pour écarter une infection par les leishmanies. Il y'a plusieurs facteurs qui influence l'efficacité de la technique PCR comme le nombre de copies de la cible, les amorces utilisées, la méthode d'extraction de l'ADN et le protocole sans ignorer le matériel utilisé.

➤ **Technique indirecte :**

Sont des méthodes de diagnostic sérologique qui met en évidence la réaction immunitaire de l'organisme contre l'infection parasitaire, c'est vaste comme méthode et très utilisé.

▪ **Qualitative :**

Test d'immuno-chromatographie :

Test sérologique rapide et facile à mettre en œuvre. Ils utilisent les antigènes rK39 recombinant est aussi sous forme de bande de papier de nitrocellulose imprégnée d'antigène, deux ligne apparus indique un résultat positif. [13]

Ce test ne permet pas de mesurer le titre en anticorps.[32]

▪ **Quantitative :**

Test d'Immunofluorescence Indirecte :

Dite IFAT « indirect immunofluorescent antibody test » en anglais. D'après Maia et Campino en 2008, ce test est considéré comme la méthode sérologique de référence par l'Office

International des Epizooties [31]. D'après des études, ce test a une forte sensibilité et spécificité. Ils l'utilisent les chercheurs dans les études épidémiologiques, les diagnostics et les suivis des patients. La mise en œuvre de cette technique demande un bon niveau de compétence et d'expérience et des matériels de laboratoires coûteux, mais il y'a quelque kits commerciaux d'IFI disponible.

Tout d'abord, on fixe les antigènes leishmaniens sur une lame puis on dépose sur elle le sérum du chien et on les laisse incuber, ça va former des complexes immuns. Puis on les lave, les complexes restent fixés sur la lame et les anticorps non fixé seront éliminés. Ensuite on ajoute des anticorps anti immunoglobulins canines marqués par une substance fluorescente, l'isothiocyanate de fluorescéine. Après on les rince et les anticorps anti-immunoglobuline non fixés seront éliminés. Par la suite la lecture des lames se fait au microscope à fluorescence, plus il y a de complexes, plus la fluorescence est intense, si on observe une fluorescence verte homogène à de fortes dilutions sera considérée comme résultats positif contrairement à celle présentant une coloration rouge matte qui sera considérée comme résultat négatif. Enfin, on réalise une dilution successive du sérum, aide à quantifier le taux d'anticorps [29]. Le seuil de positivité n'est pas standard, il varie entre des dilutions au 1 :40 et 1 :60 tout dépend de laboratoire. [32]

Il y'a des chiens qui sont au début de l'infection parasitaire ou ayant une forte immunité cellulaire et ils peuvent se révéler faussement négatif donc on ne peut pas éliminer l'hypothèse d'une leishmaniose.

En général, la séroconversion est rapide chez les chiens.

Test d'Enzyme-LinkedImmunoSorbentAssay (ELISA) :

C'est une technique quantitative automatisable contrairement à l'IFI. Sa sensibilité varie de 29% à 65% et sa spécificité de 96% à 100%, la sensibilité varie en fonction de l'antigène utilisé et selon l'espèce de leishmanie qui a permis d'obtenir ces antigènes. ELISA permet de diagnostiquer un grand nombre d'échantillons donc elle est utilisée beaucoup plus dans le cadre d'études épidémiologique, elle est utilisée pour les analyses de laboratoires ainsi que pour les applications sur le terrain.

Au début on fixe les antigènes leishmaniens choisis sur un support en polystyrène, puis on dépose le sérum à tester et on laisse incuber et s'il contient des anticorps qui sont contre ces antigènes, ils vont s'y fixer. On rince, les anticorps non fixés seront éliminés et les complexes formés restent fixés. Après on ajoute des anticorps anti-immunoglobulines canines qui sont marqués par une enzyme, et on lave encore une fois, les anticorps anti-immunoglobulines non fixés seront éliminés. Ensuite on ajoute du substrat incolore, qui sera coloré en se fixant aux enzymes présentes. Enfin, s'il y'a plus de complexe immuns, la réaction colorée sera plus intense et cette dernière est mesurée par spectrophotométrie. [29]

Chaque laboratoire a ses valeurs de référence et son seuil de positivité.

Ce tableau résume les différents avantages et inconvénients de ces tests précédents :

Technique	Avantages	Inconvénients
Cytologie Histopathologie	<ul style="list-style-type: none"> - Détection directe du parasite et type de pathologie - Permet l'exclusion de diagnostic différentiel - Rapide et non invasive (cytologie) 	<ul style="list-style-type: none"> - Faible sensibilité pour la détection des leishmanias amastigotes dans les tissus ou les fluides - Besoin d'autres tests comme immunohistochimie ou PCR quand les parasites ne sont pas visibles - Ne révèle pas le statut immunologique du chien - Requiert des compétences
PCR	<ul style="list-style-type: none"> - Permet la détection d'ADN leishmanien - Très haute sensibilité et spécificité - Quantification de la charge parasitaire (PCR en temps réel) 	<ul style="list-style-type: none"> - Faux positifs possible due à la contamination de l'ADN - Laboratoire avec standardisation et techniques différentes - Ne révèle pas le statut immunologique - Ne peut pas être le seul diagnostic pour confirmer la maladie car un diagnostic positif confirme l'infection mais pas la maladie
Sérologie	<ul style="list-style-type: none"> - Détermination du taux d'AC essentiel au diagnostic et au pronostic 	<ul style="list-style-type: none"> - Pas de détection du parasite - Risque de réaction sérique croisée avec les trypanosomes

Immuno-chromatographie (Qualitative)	-Tests rapide en clinique	-Ne fournit que des résultats positifs ou négatifs -Sensibilité et performance variables avec risque de faux négatifs -un résultat positif doit être évalué ultérieurement par une méthode sérologique quantitative
ELISA, IFI (Quantitative)	-Détermine le taux d'AC -Haut taux d'AC associé à des signes ou anomalies cliniques présents dans une leishmaniose concluent d'une leishmaniose	-qualité, précision du test dépend du laboratoire -Différence entre laboratoire et peu de standardisation des techniques -Taux faible d'AC nécessite un autre test

Tableau 03 : Avantages et inconvénients des méthodes diagnostiques de l'infection à *Leishmania infantum* chez le chien.[33]

7-Traitement :

Le progrès de traitement de la leishmaniose canine reste jusqu'à présent long, difficile, et plus ou moins bien toléré, et aucun protocole établi à ce jour n'est efficace pour pouvoir éliminer l'infection. En effet il est possible d'améliorer l'état des malades en traitant les signes cliniques, mais même si ces derniers disparaissent, l'animal reste toujours un porteur du parasite.

Une thérapie médicamenteuse est indiquée chez les chiens dont l'infection a été confirmée et présentant des signes cliniques et/ou des résultats d'analyse sanguine anormaux (biochimie et hématologie). Au contraire, une thérapie n'est pas nécessaire chez les chiens infectés mais asymptomatiques et présentant des valeurs de laboratoire normales. Ils doivent cependant être surveillés et suivis régulièrement par un vétérinaire durant toute leur vie. [23]

Parmi les médicaments les plus utilisés on note :

➤ Antimoniote de méglumine :

Il s'agit d'une molécule de la famille des stibiés (dérivés de l'antimoine), aussi appelée antimoniote de N-méthylglucamine. De nom déposé GLUCANTIME®. [13]

C'est une molécule leishmanicide dont le mode d'action pourrait être lié à l'inhibition de quelques enzymes glycolytiques parasites. Elle a un temps de demi vie très réduit chez les

chiens, elle est de 20 minutes après une administration IV, 42 minutes pour la voie IM et 120 minutes pour la voie SC. Plus de 80% du produit est éliminé par voie urinaire dans les 9 premières heures qui suivent l'administration. Ce produit induit à une réduction de la charge parasitaire associée à une restauration de la réponse immunitaire à médiation cellulaire. En général, l'amélioration des signes cliniques. Cependant ce traitement ne permet pas l'élimination complète du parasite puisque quelques mois après, on détecte la présence des leishmanies chez un chien guéris cliniquement.[12]

La posologie (ayant démontré une efficacité) est de 100 mg/kg, pouvant être fractionnée en 2(50 mg/kg matin et soir). [35]

Enfin, la durée d'administration doit être de 20 jours au minimum voire 30, soit de façon continue, soit en 2 cures de 10 jours séparées par une pause de 10 jours. [35]

Les effets indésirables de l'utilisation du GLUCANTIME® sont multiples [12,13]:

- Il provoque une réaction douloureuse et un gonflement au site de l'injection
- Une intolérance au traitement peut être observée les premiers jours et il en résulte des signes de type anaphylactique (hyperthermie, frissons, problèmes gastro-intestinaux, douleurs musculaires...)
- Une toxicité rénale ou hépatique

Ce médicament peut être associé à L'allopurinol pour avoir de meilleurs résultats.

➤ **L'allopurinol :**

Cette molécule est utilisée en médecine vétérinaire et humaine dans le traitement de la leishmaniose et la goutte (Zyloric®).[35]

Les leishmanies dépendent sur les bases puriques de l'hôte pour pouvoir survivre et se multiplier, L'allopurinol est un composé « leishmanistatique » qui prend la place de ses bases et interdit ainsi la synthèse d'un ARN normal.[13]

Une fois incorporé par les amastigotes intracellulaires, l'allopurinol est transformé en composé toxique, le 4-amino-pyrazolepyrimidine, qui tue le parasite.

La dose leishmaniostatique chez le chien est de 15 mg/kg, p.o, 2 fois par jour pendant une période variant de deux mois à deux ans voir même à vie parfois.

Son effet toxique est trop faible, il ne permet pas l'élimination complète du parasite et des rechutes peuvent se produire en cas d'interruption du traitement.[35]

➤ **La miltéfosine :**

C'est est une alkylphospholipide développé chez l'homme comme un agent anticancéreux chez l'homme. Puis elle a été utilisée récemment pour le traitement de la leishmaniose canine dans la plupart des pays européens. [13]

Son mode d'action consiste à détériorer les voies de signalisation de la synthèse des membranes cellulaires, conduisant à la mort du parasite.

La miltéfosine a la posologie de 2mg/kg/jour par voie orale pendant 28 jours, elle peut être administré seule ou associé avec l'allopurinol avec 10 mg/kg/ par voie orale 2 fois par jour pendant plusieurs mois.

Ses effets secondaires sont légers puisqu'il s'agit de vomissement et de la diarrhée qui sont réversible après l'arrêt de traitement. [36]



Figure 26 : chiens qui présentent des signes cliniques avant le traitement (a c e g), puis leur disparition après 60 jours de traitement avec le miltéfosine (b d f h)

➤ **L'aminosidine :**

Appelée aussi paromomycine, elle a une activité antimicrobienne et anti protozoaire découverte dans les 1960, elle est très utilisée en médecine humaine.

Elle peut être administrée seule ou associée avec l'antimoniote de méglumine.

Le protocole recommandé chez le chien est de 5 mg/kg/j pendant 3 semaines en association avec l'antimoniote de méglumine à la dose de 60 mg/kg/12 heures IM pendant 4 semaines.

Les effets secondaires rénaux et nerveux (syndrome vestibulaire) ne sont pas rares, c'est pourquoi son utilisation est limitée et n'est pas recommandée en première intention.[36]

➤ **Amphotéricine B :**

Cette molécule est très efficace car elle interagit avec le stérol particulièrement l'ergostérol qui se trouve sur la membrane des leishmanies [12]. Mais les effets secondaires de cette substance sont importants et sévères, elle provoque une toxicité rénale, des vomissements, un état fibrillaire. Il n'existe pas de préparation destinée au chien, des formules liposomales sont disponibles chez l'homme, mais l'OMS dissuade fortement les vétérinaires de l'utiliser de crainte d'engendrer des résistances.[25]

➤ **La marbofloxacin :**

Cette fluoroquinolone est active in vitro sur Leishmania sp. Une seule étude a montré des résultats encourageants à la dose de 2 mg/kg/j par voie orale pendant 28 jours.[25]

➤ **Dompéridone :**

Il s'agit d'un antagoniste des récepteurs dopamine D2.

Une étude menée sur 98 chiens à la dose de 1 mg/kg/12 heures pendant un mois a montré une amélioration clinique et une baisse du taux d'anticorps. Aucun effet indésirable n'a été mis en évidence lors de cette étude.[36]

➤ **Enrofloxacin** :

Il s'agit aussi d'une fluoroquinolone qui améliore la capacité d'élimination des leishmanies par les macrophages via la production d'oxyde nitrique. Une étude a montré une amélioration clinique en association avec le métronidazole. [12,25]

Les experts recommandent en première intention l'antimoniote de méglumine associé à l'allopurinol.[25]

Le CLWG propose plusieurs protocoles de traitement en fonction du stade clinique défini précédemment :

Stade de l'infection	Protocole utilisé
Stade A	pas de traitement, sérologies tous les 2 à 4 moi
Stade B	Traiter s'il ya présence du parasite et une élévation du taux d'anticorps. Pas de traitement si le taux d'anticorps reste stable
Stade C et D	Traitement étiologique et symptomatique
Stade Ea	Chien ne répondant pas au traitement. S'assurer de l'observance, rechercher d'autres maladies, vérifier le diagnostic par des méthodes de laboratoire.
Stade Eb	Chien malade rechutant rapidement. Réévaluer le diagnostic et tenter un traitement alternatif à l'association allopurinol - antimoniote de méglumine.

Tableau 04 : le choix d'un protocole thérapeutique en fonction du stade clinique [25]

8- Prophylaxie :

La prévention reste conseillée en zone d'enzootie canine vu l'absence de traitement efficace et sans effet secondaire dangereux que ce soit chez les chiens ou chez les humains. La protection est importante pour prévenir l'apparition de la parasitose chez les chiens et les humains sains.

8-1 Prophylaxie sanitaire :

L'action la plus efficace est la lutte contre le vecteur de leishmanies adulte et en forme larvaire, pour une protection réussite et efficace contre les phlébotomes on doit prendre en considération ces mesures suivantes :

- Le maintien des chiens à l'intérieur pendant la période d'activité des phlébotomes du crépuscule à l'aurore, durant la saison à risque et en évitant leurs promenades dans un environnement risqué, pour limiter l'exposition à leurs piqûres.
- L'élimination des lieux des larves en stade immature, par exemple en goudronnant les sols, et aussi les lieux de repos et d'alimentation des phlébotomes adultes en appliquant d'insecticides dans les fissures des murs, des pentes rocheuses, des grottes calcaires et des trous d'arbres. [37]

8-2 Prophylaxie médicale :

La leishmaniose est devenue un problème sanitaire d'urgence dans certains pays donc les médecins vétérinaires ont la conscience qu'il est indispensable d'assurer une protection maximale pour les chiens qui résident ou qui séjournent dans des zones à risque.

*** Les antiparasitaires externes :**

L'utilisation d'insecticides spécifique est efficace et aide à diminuer la prévalence de la leishmaniose, Leurs modes d'administration sont divers, ils se présentent sous forme :

a. De colliers :

A base de deltaméthrine de la famille des pyréthrinoides, c'est un insecticide naturel issu de la fleur du pyrèthre, ce principe actif se libère lentement et se distribue progressivement dans le tissu adipeux sous-cutané [13], son efficacité sera complète après deux semaines de sa disposition sur le chien et ça dure jusqu'à six mois.

Une étude menée en Iran a confirmé que ces colliers réduisent le taux d'infection chez les chiens de 54%, et surtout diminuaient significativement le taux d'infection chez les enfants des régions où vivent ces chiens.

b. De spot-on :

Qui est de 50% de la perméthrine, de la famille des pyréthrinoides, combinée à 10% d'imidaclopride qui est un insecticide nicotinoïde, son activité protectrice est bien complète qu'après 24 à 48h après son application sur le chien et le principe actif est distribué par le stratum corneum qui est la couche cornée, correspond à la couche la plus externe de la peau et de l'épiderme. [13]

Ils ont une bonne protection mais une courte durée par rapport au collier. Ça applique au moins deux jours avant l'entrée en milieu infesté contrairement aux poudres et aux sprays qui ont un effet immédiat mais dont la durée d'action est plus courte donc il est recommandé de renouveler leurs applications souvent.

*** Les vaccins :**

Il faut savoir que la vaccination contre la leishmaniose canine est à faire seulement chez les chiens sains, séronégatifs et qui ont 6 mois ou plus.

Le premier vaccin, Canileish, commercialisé par le laboratoire français VIRBAC, existe depuis septembre 2011.

D'abord il faut faire une prise de sang pour vérifier que le chien n'est pas déjà atteint par la maladie, puis une primo-vaccination se fait en 3 injections à 3 semaines d'intervalles. La protection commence 4 semaines après la dernière injection. Le rappel de vaccination se fait ensuite par une injection tous les ans.

Récemment MSD Santé animale, en partenariat avec le laboratoire espagnol Leti ont communiqué un nouveau vaccin le LetiFend qui se fait en une seule injection, toujours après l'âge de 6 mois, avec un rappel annuel de vaccination.

Quelques effets secondaires peuvent apparaître suite à l'injection, ils sont qualifiés de « mineurs » et ne sont que transitoires (apathie, baisse d'appétit, œdème au niveau du site de l'injection...)

Les experts vétérinaires en matière de leishmaniose recommandent la vaccination des chiens, qui vivent dans une zone à risque ou qui fréquentent régulièrement une zone à risque (par exemple pendant les vacances).

La vaccination renforce le système immunitaire et le rend capable de se défendre contre la maladie, mais elle n'empêche pas l'infection.[38]

Conclusion :

La leishmaniose canine est une maladie zoonotique chronique, transmise principalement par des phlébotomes infectés et peut être potentiellement mortelle pour les humains et les chiens. Leurs aspects épidémiologiques, cliniques et de laboratoire sont très variables, ce qui rend difficile pour les vétérinaires de compléter un diagnostic, puis de traiter et de contrôler la maladie, notamment en raison du manque de médicaments et de vaccins plus efficaces. Cependant, des efforts considérables sont déployés par des professionnels issus de domaines multidisciplinaires afin d'améliorer les connaissances sur cette maladie parasitaire, afin que la prévention, le traitement et le contrôle puissent être améliorés à l'avenir.

Références bibliographiques :

- 1- Leishmaniose. [https://fr.wikipedia.org/wiki/Leishmaniose#:~:text=Ce%20protozoaire%20parasite%20est%20mis,canine%20par%20Pringault%20en%201914.\(consulté le 1-07-2019\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Leishmaniose#:~:text=Ce%20protozoaire%20parasite%20est%20mis,canine%20par%20Pringault%20en%201914.(consulté%20le%201-07-2019))
- 2-Pratlong F, Lambert M, Bastien P, Dedet JP1997, Leishmanioses et immunodépression : aspects biochimiques actuels. Rev Fr Lab; 291 :161-8
- 3--clinique vétérinaire calvisson / ville vieille . (s.d.). Consulté le 29-07, 2020, sur <http://www.cliniqueveterinairecalvisson.com/article-veterinaire-41-12-la-leishmaniose>
- 4- BANETH.G , AROCH.I2008.School of veterinary medicine, Hebrew university. The Veterinary Journal 175 14–15
- 5-Frahtia-Benotmane K, 2015. Détection moléculaire des leishmanies à partir du genre phlébotomus(Diptera : psychodidae) : tendance vers la régression de la leishmaniose à constantine ? . Thèse : Science en Biologie Animale. Constantine, Université des Frères Mentouri, 120.
- 6-Richard W. Ashford,Dr Caryn Bern,Marleen Boelaert,Anthony Bryceson,Dr François Chappuis,Simon Croft,Jean-Pierre Dedet,Dr Philippe Dejeux.La lutte contre les leishmanioses: rapport de la réunion du comité OMS d'experts de la lutte contre les leishmanioses, Genève, 22 - 26 mars 2010.OMS, Série de rapports techniques ; no. 949
- 7-Sergent ED, Sergent ET. Kalaazar : existence de la leishmaniose chez les chiens d'Alger, première note. Bull Soc FatholExot 1910 ;3 ;510-1.
- 8-Belazzoug S, Bendali-Brahim S, Lakhal Z, Abdennebi H 1986. Hémagglutination indirecte dans le sérodiagnostic de la Leishmaniose viscérale, comparaison avec l'immunofluorescence indirecte. Arch Inst Pasteur Alger ;55 :107-12.
- 9- Dr GAIED MEKSI S. Laboratoire de Parasitologie, CHU FarhatHached Faculté de Médecine, Sousse. COURS DE COLLEGE DE MALADIES INFECTIEUSES MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE. 6-8
- 10-Estevez.Y ,2009.Activité leishmanicide de plantes issues de la pharmacopée traditionnelle Péruvienne et de molécules de synthèse ; étude relation structure activité. Thèse, Innovations pharmaceutiques, l'Université Toulouse III - Paul Sabatier, 86.
- 11-QUITTERIE , LAURE ,ODETTE ,CHRISTEL NADAU 2005.Etude préliminaire de l'utilisation de la protéine Lack dans le test intra dermo reaction de la leishmaniose canine. Thèse école nationale vétérinaire lyon toulouse
- 12-BRIFFOUD.C,2011.REVUE ACTUELLE EN MATIÈRE DE LEISHMANIOSE CANINE, THESE :Docteur Vétérinaire.Toulouse, Université Paul-Sabatier de Toulouse,P 25-26, 44-49.
- 13- Granier M, 2013. Etude de la perception du vaccin contre la leishmaniose par les vétérinaires et les propriétaires de chiens en zone d'enzootie sur le territoire de France métropolitaine. Thèse : Docteur Vétérinaire. Toulouse, Université Paul-Sabatier de Toulouse. 101

- 14- Association française des enseignants de parasitologie et mycologie, Leishmanioses, Dans : Association française des enseignants et mycoses des régions tempérées et tropicales Issy-les-Moulineaux ; Elsevier-Masson : 2016 , p, 95-107.
- 15- Organisation mondiale de la santé, Leishmaniose, Aide-mémoire n 375 , 2017-
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/fr/>
- 16- Defet JP, Addadi K, Lannutel B 1977. Epidémiologie des leishmaniose en Algérie : la leishmaniose viscérale dans le foyer de la Grande Kabylie. Bull Sac Pathol Exot ;70 :250-65
- 17- Belazzoug S 1984. La leishmaniose en Algérie à travers l'identification isoenzymatiques des souches. Coll Inter Tax Pky des leishmanias. Montpellier:397-400.
- 18- Belazzoug S. La leishmaniose canine en Algérie. Magh Yeter 1987 ;3;(13) :11-3.
- 19-Veterinary Parasitology Volume 166, 3 December 2009, Pages 159-162
First report of vertical transmission of Leishmania (Leishmania) infantum in a naturally infected bitch from Brazil. Sydnei MagnodaSilvaaVitor ,MarcioRibeirob ,Raul RioRibeiroaWagner LuizTafuric ,Maria NormaMelo, MarileneSuzan MarquesMichalicka.
- 20- Symmers WS (1960) Leishmaniasisacquired by contagion: a case of marital infection in Britain. The Lancet volume 275, Issue 7116, 16 January 1960, Pages 127-132
- 21-F. Bachi , La Lettre de l'Infectiologue - Tome XXI - n° 1 - janvier-février 2006,Aspects épidémiologiques et cliniques des leishmaniosesen Algérie. P 9-11
- 22- Manolis N. Saridomichelakis,Veterinary Dermatology Advances in the pathogenesis of canine leishmaniosis: epidemiologic and diagnostic implications 2009 ,volume 20 .
- 23-Dr. PETER FREI,ESCCAP Suisse04/17, c/o fp-consulting, , Prise de position sur laleishmaniose P 1-2
- 24-<https://veteriankey.com/leishmanias/>
- 25-Leishmaniose un consensus sur la prévention et le traitement, L'ESSENTIEL N°182 du 24 juin au 7 juillet 2010, P 20-22
- 26- BOURDOISEAU G. (2000). Chapitre 13 : Maladies parasitaires disséminées, la leishmaniose. In : Parasitologie clinique du chien, Ed.NEVA, Créteil, 325-362.
- 27- Bourdoiseau, Gilles2000. Parasitologie clinique du chien. Créteil: Nouvelles éd.Vétérinaires et alimentaires.
- 28- Boni M., Davoust B., Dereure J. « Intérêt des techniques de laboratoire dans lediagnostic de la leishmaniose canine ». Revue Française des Laboratoires, Volume1999, Issue 310, Février 1999, pages 33-38

- 29- Martinetti L, 2013. Dépistage, traitement et prévention de la leishmaniose canine en corse : enquête auprès des vétérinaires praticiens de l'île. Thèse : Docteur vétérinaire. Toulouse, Université Paul-Sabatier de Toulouse, 100.
- 30- Bourdache K et Toumi N, 2015. Etude épidémiologique des leishmanioses humaines à *leishmania infantum* en Kabylie entre 2007 et 2014. Mémoire de fin d'étude : Microbiologie. Tizi-Ouazou ; université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouazou, 49.
- 31- MAIA C., CAMPINO L. (2008). Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Vet Parasitology* 158 274-287.
- 32- SOLANO-GALLEGO L, KOUTINAS A, MIRO G, CARDOSO L, PENNISI M.G, FERRERL, BOURDEAU P, OLIVA G, BANETH G (2009). Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, 165, 1-18.
- 33-Solano-Gallego L., Miro G., Koutinas A., Cardoso L. ; Grazia Pennisi M., Ferrer L., Bourdeau P., Oliva G., Baneth G., « LeisVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis », *Parasite and Vector* 4, Mai 2011
- 34-PALTRINIERI S., SOLANO-GALLEGO L., FONDATI A., LUBAS G., GRADONI L., CASTAGNARO M., CROTTI A., MATOLI M., OLIVA G., ROURA X., ZATELLI A., ZINI E. (2010) Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *JAVMA*, Vol 236, No. 11.
- 35-BOURDOISEAU (G.) ET DENEROLLE (Ph.)2000. Traitement de la leishmaniose canine : *Revue Méd. Vét.* 151, 5, 396-400
- 36- Gaetano.O, Xavier.R ,Alberto.C, Michelle.M, Massimo.C, Luigi.G, phd; George.L, Saverio.P, Andrea.Z, Eric.Z ,Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs ,*Vet Med Today: Reference Point JAVMA*, Vol 236, No. 11, June 1, 2010, p 1192-1196
- 37-RANQUE J., QUILICI M. 1983 : Kala-azar. *Encyclopédie Médico- chirurgicale* (Paris). 8093-A10- 2.
- 38-Nouvelle vaccination Leishmaniose en une seule primo-injection ? posted on 1 mars 2018 de Webmaster. <https://vet4care.com/une-nouvelle-vaccination-leishmaniose-en-une-seule-primo-injection/>