



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

Investigation épidémiologique de la leishmaniose canine dans le nord
et le sud-Est de l'Algérie

Présenté par

Tchoketch-kébir Abderrahmane

Soutenu le 12/2020

Devant le jury :

Président(e) :	Ouchene N.	Professeur	ISV Blida
Examineur :	Kaaboub E.A.	MCB	Univ. Médéa
Promoteur :	Benikhlef R.	Chargée de Recherches	IPA
Co-promoteur :	Khelifi N.A.	MCA	ISV Blida

Année : 2019 - 2020

Remerciements

Au terme de mon travail je tiens à remercier « Allah » le miséricordieux de m'avoir donné la force, la volonté et le courage d'achever ce travail.

Par ces quelques lignes je veux exprimer ma gratitude envers tous ceux qui par leurs conseils, et soutient m'ont aidé d'accomplir ce travail.

Je commence par remercier Dr Harrat Z, ancien directeur de l'institut Pasteur d'Algérie et chef de service de laboratoire d'éco-épidémiologie parasitaire et génétique des populations, de nous avoir acceptées au sein de son laboratoire

Je commence par remercier ma promotrice M BENIKHLEF Razika, chargée de recherches au sein du laboratoire d'éco-épidémiologie de l'Institut Pasteur d'Algérie, qui nous a fait l'honneur d'être ma directrice, ainsi que pour la confiance qu'elle m'a accordée tout au long de la réalisation de ce mémoire et aussi pour son suivi et ses orientations durant l'élaboration de ce mémoire

Je tiens à remercier les respectables membres du jury pour bien pouvoir m'accorder de leur temps précieux pour commenter, discuter et juger mon travail.

Je tiens d'autre part à remercier également Dr Mouloud, vétérinaire à Draria pour sa collaboration et de m'avoir autorisé à réaliser des prélèvements à ses patients.

Mes remerciements vont également à tout l'ensemble du personnel du service d'Eco-épidémiologie parasitaire et génétique des populations

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie cet humble travail à tous ceux qui me sont chères.

A ma chère mère.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance et jusqu'à présent. Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, je te dédie ce travail en signe de ma vive reconnaissance et mon profond estime
Puisse Dieu, le tout puissant, te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A ma collègue Anastasiia Klus merci pour ton aide de trouver les bons mots et d'arranger mes pensées et mes idées de sorte qu'elles soient éloquentes.

Et à tous mes amis qui étaient avec moi durant cette longue période très importante dans ma vie

Résumé

En Algérie, les leishmanioses constituent un problème de santé publique. Vu le potentiel zoonotique de la maladie, il est important de contrôler l'infection chez le chien réservoir pour prévenir la leishmaniose viscérale zoonotique humaine mortelle en absence de traitement et la leishmaniose cutanée sporadique qui laisse des cicatrices indélébiles. Ainsi, la détection rapide des animaux infectés est une priorité pour permettre le control et la prévention de ces parasitoses. Sur cette base, 72 chiens ont été diagnostiqués durant Décembre 2019 et Juillet 2020 provenant de deux régions différentes : 22 chiens suspects du nord de l'Algérie et 50 chiens asymptomatiques du sud-Est (M'sila) du pays. Parmi les 72 prélèvements dépistés, 2 chiens ont été trouvés positifs par l'utilisation de la PCR-ITS1, soit 2,77% de l'ensemble des chiens diagnostiqués. Ces deux chiens ont représenté 9% des chiens du nord de l'Algérie et provenaient de deux zones différentes : la région de Tizirt de la wilaya de Tizi-Ouzou (50%), et la région d'El-biar de la wilaya d'Alger (50%). Par ailleurs, tous les chiens de la wilaya de M'sila étaient indemnes de toute infection de *Leishmania*, ce qui confirme encore une fois l'installation de la LCan au nord du pays. L'efficacité du traitement par l'antimoniote de méglumine (Glucantime®) avec l'association de l'allopurinol (Zyloric®) chez un des deux chiens malades nécessite un suivi et un contrôle plus prolongé.

Mots clés : LCan, PCR, épidémiologie, Alger, M'sila, chiens

Abstract

In Algeria, leishmaniasis is a public health problem. Given the zoonotic potential of the disease, it is important to control the infection in the canine reservoir to prevent the fatal human zoonotic visceral leishmaniasis in the absence of treatment and the sporadic cutaneous leishmaniasis that leaves indelible scars. Thus, rapid detection of infected animals is a priority to allow control and prevention of these parasitoses. On this basis, 72 dogs were diagnosed during December 2019 and July 2020 from two different regions: 22 suspect dogs from the north of Algeria and 50 asymptomatic dogs from the south-east (M'sila) of the country. Among the 72 samples detected, 2 dogs were found positive using PCR-ITS1, representing 2.77% of all diagnosed dogs. These two dogs represented 9% of the dogs in northern Algeria and came from two different areas: the Tizirt region of the wilaya of Tizi-Ouzou (50%), and the El-biar region of the wilaya of Algiers (50%). In addition, all the dogs from the wilaya of M'sila were free of any *Leishmania* infection, which confirms once again the establishment of LCan in the north of the country. The efficacy of treatment with meglumine antimoniate (Glucantime®) in combination with allopurinol (Zyloric®) in one of the two sick dogs requires a more prolonged follow-up and control.

Key words: LCan, PCR, Epidemiology, Alger, M'sila, dogs

Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	

Généralités

1. Agent pathogène.....	1
1.1. Morphologie et biologie.....	1
1.1.1. Le stade amastigote	1
1.1.2. Le stade promastigote	1
2. Le vecteur	2
3. Les réservoirs	4
4. Cycle de transmission du parasite Leishmania.....	6
5. Répartition géographique des leishmanioses	6
6. Les leishmanioses en Algérie.....	7
6.1. Répartition géographique et situation épidémiologique.....	7
6.2. Les réservoirs des leishmanioses en Algérie.....	9
7. La leishmaniose canine (LCan).....	10
7.1. Signes cliniques et examen physique	10
7.2. Étiologie et pathogénie de la leishmaniose canine.....	12
7.3. Méthodes de diagnostic.....	13
7.3.1. Signalement et histoire	13
7.3.2. Tests de laboratoire de base.....	13
7.3.3. Tests de laboratoire spécifiques (diagnostic étiologique).....	14
7.4. Traitement de la LCan.....	14
7.5. La vaccination.....	17

Matériel et méthodes

1. Matériel	18
1.1. Zones de l'étude.....	18
1.2. Recrutement des chiens.....	20
2. Méthodes.....	21
2.1. Examen et prélèvements des chiens.....	21
2.2. Cultures sur milieux.....	22
2.3. Diagnostic parasitologique et moléculaire de la LCan.....	24
2.3.1. Diagnostic parasitologique : Isolement et culture des parasites.....	24
2.3.2. Diagnostic moléculaire par PCR-ITSI.....	25

2.3.2.1. Extraction de l'ADN parasitaire par phénol chloroforme alcool iso-amylque	25
2.3.2.2. La PCR ITS1.....	26
2.3.2.3. Révélation des produits PCR : Electrophorèse sur gel d'agarose.....	27
2.3.3. Control moléculaire des chiens atteints de LCan et traitement au Glucantime.....	28

Résultats et interprétation

1.Examen clinique	29
2.Répartition des chiens selon l'âge.....	31
3.Répartition des chiens selon le sexe.....	31
4.Répartition des chiens selon la race.....	32
5.Diagnostic parasitologique	33
5.1.Examen direct sur lame.....	33
5.2.Examen sur milieux de culture.....	33
5.3. Diagnostic moléculaire par PCR-ITS1.....	33
6.Traitement des chiens malades et contrôle moléculaire.....	36

Discussion

.....	37
-------	-----------

Conclusion

.....	42
-------	-----------

Liste des tableaux

Tableau 1 : Phlébotomes transmettant la plupart des leishmanioses humaines.....	3
Tableau 2 : Hôtes réservoirs de la leishmaniose humaine dans certains pays endémiques (Akhoundi et al., 2016).....	5
Tableau 3 : signes cliniques généraux et spécifiques par région corporelle chez les chiens atteints de leishmaniose	11
Tableau 4 : Produits commerciaux actuellement étiquetés pour une application cutanée sur les chiens pour la prévention des piqûres de vecteurs de Leishmania.....	17
Tableau 5 : Renseignements des 22 chiens recrutés au niveau du cabinet de Draria durant la période de Décembre 2019 à Juillet 2020.....	20
Tableaux 6 : Résultats du diagnostic parasitologique et moléculaire chez les 72 chiens	34

Liste des figures

Figure 1 : forme (a-amastigote, b-promastigote) du parasite Leishmania vue au microscope optique GrX100 après coloration au Giemsa. Figure 1c : forme promastigote à l'état libre à partir d'une goutte de culture, vue au microscope optique GrX25.....	2
Figure 2 : Phlébotome femelle vue sous loupe	2
Figure 3 : Cycle épidémiologique de la leishmaniose	6
Figure 4 : Régions endémiques des leishmanioses cutanée, mucocutanée et viscérale.....	7
Figure 5 : Origine géographique des cas de LC (a gauche) et de LV (à droite) signalés en Algérie..	9
Figure 6 : la Leishmaniose chez le chien –Clinique vétérinaire Ric et Rac.....	10
Figure 7 : les principaux réservoirs de la LCZ en Algérie.....	10
Figure 8 : traitements de la leishmaniose.....	14
Figure 9 : collier Scalibor utilisé sur un des chiens malades	16
Figure10 : Vaccins contre la LCan	17
Figure 11 : Géolocalisation des deux zones d'études	19
Figure 12 : Examen clinique et prélèvement des chiens au niveau des deux zones d'études...	21
Figure 13 : prélèvement sanguin d'un chien suspect de Lcan après centrifugation.....	22
Figure 14 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'analyse des prélèvements.....	23
Figure 15 : Culture des parasites.....	24
Figure 16 : Les différentes étapes de l'extraction de l'ADN.....	25
Figure 17 : le principe de la PCR.....	27
Figure 18 : Révélation des produits PCR	28
Figure 19 : Etat d'amaigrissement et déshydratation d'un chien asymptomatique de la région de M'sila (photo originale, 2020).....	29
Figure 20 : Répartition des 22 chiens d'Alger selon les signes cliniques.....	30
Figure 21 : Amaigrissement et allongement des griffes chez le chien Lcan21/20 (photo originale, 2020).....	30
Figure 22 : Répartitions des 22 chiens d'Alger selon l'âge.....	31
Figure 23 : Répartitions des 22 chiens d'Alger selon le sexe.....	32
Figure 25 : Répartitions des 22 chiens d'Alger selon la race.....	32
Figure 24 : Résultat de l'électrophorèse sur gel d'agarose de la PCR ITSI des isolats (photo Originale, 2020).	35
Figure 25 : Résultat de l'électrophorèse sur gel d'agarose de la PCR ITSI des isolats (photo Originale, 2020).	35

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

E: Erinaceidae: Les érinacéidés forment une famille de mammifères insectivores

Lcan : Leishmaniose canine.

L : Leishmania

LCC : Leishmanioses cutanée chronique.

LCS : Leishmaniose cutnée sporadique.

LCZ : Leishmaniose cutanée zoonotique.

LV : Leishmaniose viscérale .

LVA : Leishmaniose viscérale anthroponotique

MENA : Middle East & North Africa

NNN : Novy-MacNeal-Nicolle

OMS/WHO : Organisation mondiale de la santé.

P : Phlebotomus

PCR : Réaction en chaîne de la polymérase

SL : Sérum de lapin

T : thymus

FDA : Food and Drug Administration est l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments. Cet organisme a, entre autres, le mandat d'autoriser la commercialisation des médicaments sur le territoire des États-Unis

La FDA est chargée de protéger la santé publique en assurant la sécurité, l'efficacité et la sûreté des médicaments à usage humain et vétérinaire

NOAA: National Oceanic and Atmospheric Administration

Introduction

La leishmaniose est une maladie zoonotique à transmission vectorielle causée par des protozoaires parasites intracellulaires obligatoires du genre *Leishmania*. La maladie atteint la population humaine lorsque l'homme, les phlébotomes et les hôtes réservoirs partagent le même environnement (**Lemma et al., 2017 ; Assimina et al., 2008**). L'infection est transmise à l'homme et aux autres mammifères par la piqûre d'un phlébotome vecteur infecté (**Ready, 2013**).

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a déclaré que la leishmaniose est l'une des maladies les plus négligées, avec 350 millions de personnes considérées comme risquant de contracter la maladie. Une charge d'environ 12 millions de personnes actuellement infectées dans 98 pays, et deux millions de nouveaux cas estimés chaque année (**OMS, 2010 ; Alvar et al. 2012**).

Bien que l'on estime que la leishmaniose est la neuvième maladie infectieuse en importance, elle est largement ignorée en matière de maladies tropicales (**Hotez et al., 2006**). Diverses formes de manifestations cliniques de la leishmaniose humaine ont été décrites : la leishmaniose viscérale (LV), la leishmaniose cutanée localisée (LCL), la leishmaniose diffuse (LCD) et la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM) (Fraga et al., 2010 ; Akhoundi et al., 2016).

La leishmaniose canine (LCan) a été décrite par Nicolle et Comte en 1908. C'est une maladie endémique répandue dans le monde, et en particulier dans le bassin méditerranéen. Les chiens ont longtemps été impliqués comme les principaux réservoirs domestiques de *Leishmania infantum*, l'agent étiologique des formes viscérales (VL) et cutanées (CL) de la leishmaniose humaine. En 1908, Charles Nicoll a nommé *L. infantum* comme agent causal du kala-azar infantile (**Nicolle, 1908**). La même année, Nicolle et Comte découvrent le même protozoaire chez des chiens à Tunis et développent le milieu NNN (Novy-McNeal-Nicolle) pour sa culture (**Nicolle et Comte, 1908**).

Les leishmanioses humaines viscérales et cutanées ont été connues pour être endémiques en Algérie depuis le début du vingtième siècle (**CAMBILLET, 1909 ; LEMAIRE, 1911**). Les différents foyers dans le pays ont été étudiés de manière intensive par plusieurs auteurs de l'Institut Pasteur d'Algérie et leurs caractéristiques épidémiologiques étaient bien établies (**Harrat et al., 1996 ; Belazzoug et al., 1982-1987**). Cependant depuis la description du premier cas de leishmaniose canine (LCan) en Algérie en 1910 par les frères Sergent (**Sergent et Sergent, 1910**), peu d'études ont été consacrées malgré l'implication du chien comme réservoir dans la forme viscérale qui est mortelle en absence de traitement et aussi dans la forme cutanée

sporadique qui laisse des cicatrice indélébiles (**Benikhlef et al., 2004, 2008 ; Aït-Oudhia et al., 2011**).

Les différentes investigations épidémiologiques se basent généralement sur plusieurs outils du diagnostic. Actuellement, le diagnostic au laboratoire est généralement effectué par un examen parasitologique direct nécessitant un observateur expérimenté et/ou des méthodes sérologiques qui peuvent manquer de précision. Par conséquent, des méthodes plus sensibles et spécifiques, à savoir des outils de diagnostic moléculaire, sont essentielles pour détecter l'infection par *Leishmania*, tant chez les chiens cliniquement suspects que chez les chiens apparemment sains, puisque ce dernier groupe peut également être une source du parasite pour le vecteur phlébotomes (**Campino L, Maia C.2013**). La PCR (polymerase chain reaction) est aujourd'hui un outil moléculaire, simple sensible et spécifique permettant de détecter la présence du parasite *Leishmania* très rapidement sur les différents échantillons cliniques (biopsie, sang et suc dermique), sans la nécessité de l'isolement du parasite et ainsi identifier les espèces en causes (**Schönian et al., 2003**).

La présente étude a visé d'actualiser les données sur la LCan en Algérie à travers une investigation épidémiologique réalisée dans deux régions bioclimatiques différentes : un climat humide au nord de l'Algérie et un climat semi-aride au sud -Est du pays. Ainsi un dépistage moléculaire de l'ADN *Leishmania* a été réalisé chez des chiens suspects de la wilaya d'Alger et chez des chiens asymptomatiques de la wilaya de M'sila.

Notre étude s'articule autour de 4 chapitres. Le premier est consacré à une revue bibliographique sur les leishmanioses. Le deuxième chapitre est dédié à la présentation du matériel et des méthodes utilisées tout au long de cette étude. Le troisième chapitre qui est consacré à l'interprétation des résultats obtenus et enfin un quatrième chapitre qui est réservé à la discussion des résultats.

Chapitre 1 Généralités

La leishmaniose canine est une protozoose infectieuse et zoonotique due à l'action pathogène et à la multiplication de *Leishmania* dans les cellules à propriété macrophagique, transmis essentiellement par la piqûre de phlébotomes (**Gilles BOURDOISEAU, 2015**). Depuis 1908, il est reconnu que le chien joue un rôle majeur dans le cycle de vie du parasite *Leishmania infantum* qui cause la leishmaniose humaine autour du bassin méditerranéen (**Dereure et al., 1999 ; Dantas Torres, 2007**).

1. Agent pathogène

1.1. Morphologie et biologie

Au cours de leur cycle de vie, les parasites de *Leishmania* alternent entre des formes promastigotes et amastigotes chez les hôtes invertébrés et vertébrés, respectivement. Les premières formes survivent dans la lumière du tube digestif des phlébotomes, tandis que les seconds se trouvent dans les vacuoles parasitophores des macrophages (**Bates and Rogers, 2004**).

Le parasite est un protozoaire flagellé tissulaire qui présente au cours de son cycle deux stades évolutifs distincts :

1.1.1. Le stade amastigote : il est intramacrophagique et/ou libre chez les hôtes vertébrés dont l'homme (figure 1a). Les formes amastigotes sont ovoïdes, mesurent 2 μm à 6 μm et présentent en microscopie optique, après coloration au May-Grünwald-Giemsa, deux inclusions pourpres caractéristiques : le noyau arrondi, et le kinétoplaste (origine du flagelle) en bâtonnet plus sombre (figure 1a).

1.1.2. Le stade promastigote : il est retrouvé dans l'intestin du phlébotome (figure 1b) et dans les milieux de culture (figure 1c). Cette forme est libre et mobile grâce à son flagelle. Les formes promastigotes sont allongées, mesurant 10 μm à 25 μm de longueur. Le noyau est central, le kinétoplaste est en position antérieure et le flagelle libre s'échappe à l'extrémité antérieure. En culture entre 24 à 28°C, sur milieu NNN (Novy, McNeal, Nicolle) ou d'autres, les amastigotes se transforment en promastigotes comme dans l'intestin du vecteur. Pendant la phase de culture exponentielle les promastigotes dits procycliques se multiplient par scissiparité longitudinale.

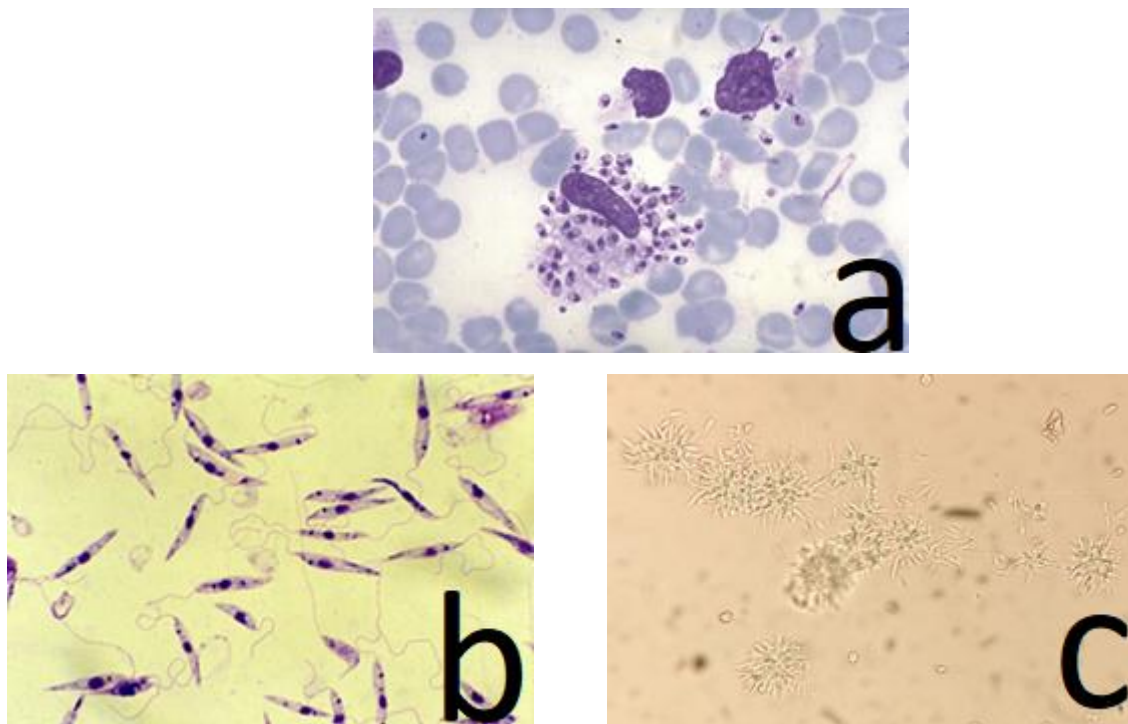


Figure 1 : forme (a-amastigote, b-promastigote) du parasite *Leishmania* vue au microscope optique GrX100 après coloration au Giemsa. Figure 1c : forme promastigote à l'état libre à partir d'une goutte de culture, vue au microscope optique GrX25 (**Photos originales, 2020**).

2. Le vecteur

La leishmaniose est transmise par la piqûre de Phlébotome femelles infectées (figure 2).

Les phlébotomes sont regroupés dans le sous-ordre des *Nématocères*, de l'ordre des *Diptères*, famille des *Psychodidés*, sous-famille des *Phlébotomes*.



Figure 2 : Phlébotome femelle vue sous loupe (photos originales, 2020)

À ce jour, on estime plus de 800 espèces présentes dans différentes régions du monde (**Killick-Kendrick, 1999**). Actuellement, la classification des phlébotomes reste controversée, lourde et

loin d'être définitive. En se basant sur la classification pionnière de Theodor (1948, 1958), Lewis et al. (1977) ont proposé deux genres pour les espèces de l'Ancien Monde, *Phlebotomus* et *Sergentomyia*, et trois pour les espèces du Nouveau Monde, *Lutzomyia*, *Brumptomyia*, et *Warileya*. Le genre *Chinius* est un taxon distinct utilisé pour certaines espèces de phlébotomes chinois aux caractères primitifs (Leng, 1987).

Parmi les plus de 800 espèces de phlébotomes, seules 98 espèces des genres *Phlebotomus* et *Lutzomyia* sont actuellement des vecteurs avérés ou suspectés de leishmanioses humaines (Killick-Kendrick 1999 ; WHO, 2010). Dans l'Ancien Monde, les vecteurs prouvés ou probables représentent un total de 42 espèces, dont 20 sont impliquées dans la transmission de *Leishmania infantum*, six dans la transmission de *Leishmania donovani*, sept dans la transmission de *Leishmania major*, sept dans la transmission de *Leishmania tropica* et trois dans la transmission de *Leishmania aethiopica*. Chaque espèce semble être impliquée dans la transmission d'un seul agent de *Leishmania*, sauf *Phlebotomus sergenti*, qui a été incriminé dans la transmission de *L. Tropica* et *L. Aethiopica* dans certaines parties de l'Éthiopie (Gebre-Michael et al., 2004), (tableau1).

Tableau 1 : Phlébotomes transmettant la plupart des leishmanioses humaines (Bates PA., 2007)

Espèce de phlébotome	Répartition géographique
<i>Phlebotomus papatasi</i> , <i>Phlebotomus dubosqi</i> , <i>Phlebotomus salehi</i>	Asie centrale et occidentale, Afrique du Nord, Sahel africain, Afrique centrale et occidentale
<i>Phlebotomus sergenti</i>	Asie centrale et occidentale, Afrique du Nord
<i>Phlebotomus longipes</i> , <i>Phlebotomus pedifer</i>	Ethiopia, Kenya
<i>Phlebotomus argentipes</i> , <i>Phlebotomus orientalis</i> , <i>Phlebotomus martini</i>	Sous-continent indien, Afrique de l'Est
<i>Phlebotomus ariasi</i> , <i>Phlebotomus perniciosus</i>	Bassin méditerranéen, Asie centrale et occidentale
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	Amérique centrale et du Sud
<i>Lutzomyia olmecaolmeca</i>	Amérique centrale
<i>Lutzomyia flaviscutellata</i>	Amérique du Sud
<i>Lutzomyia wellcomei</i> , <i>Lutzomyia complexus</i> , <i>Lutzomyia carrerae</i>	Amérique centrale et du Sud
<i>Lutzomyia peruensis</i> , <i>Lutzomyia verrucarum</i>	Peru
<i>Lutzomyia umbratilis</i>	Amérique du Sud
<i>Lutzomyia trapidoi</i>	Amérique centrale

3. Les réservoirs

Les réservoirs animaux sont importants pour le maintien du cycle de vie de nombreuses espèces de *Leishmania* et donc importants pour la transmission des infections zoonotiques et rurales/sylvatiques. Il existe deux sources principales des leishmanioses humaines : les leishmanioses zoonotiques, dont les hôtes réservoirs sont des animaux sauvages, des animaux commensaux ou domestiques, et les leishmanioses anthroponotiques, dont l'hôte réservoir est l'homme. Bien que chaque espèce de *Leishmania* entre généralement dans l'une ou l'autre de ces catégories, il existe des exceptions où les espèces anthroponotiques provoquent des transmissions zoonotiques **(WHO, 2010)**.

Plusieurs espèces de mammifères sauvages, domestiques et synanthropiques ont été enregistrées comme hôtes et/ou réservoirs de *Leishmania spp.* dans différentes parties du monde (tableau 2). Les hyrax de roche, les rongeurs, les mangoustes, les chiens, les chats, les renards, les chacals, les loups, les chauves-souris, les primates, les tatous et autres animaux domestiques font partie des réservoirs multi-hôtes qui maintiennent la transmission de la leishmaniose dans différentes localités **(Rohousova et al., 2015 ; Dereure et al., 2000)**.

La transmission sylvatique de la leishmaniose se fait par l'établissement de populations d'animaux sauvages à l'intérieur et autour des établissements humains en présence de vecteurs appropriés. Les chiens et les chats peuvent être impliqués dans les cycles de transmission de ces parasites dans les zones urbaines, et la présence et la fréquence de ces animaux peuvent avoir un effet significatif sur la pression exercée par la maladie sur l'homme. Dans les zones urbaines et périurbaines, la fréquence des contacts entre la faune sauvage et l'homme passe de rencontres sporadiques à un partage permanent de l'environnement, ce qui augmente considérablement le risque de transmission du parasite de la leishmaniose à l'homme **(Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD 2000)**.

Les êtres humains sont directement impliqués en tant qu'hôte réservoir principal dans deux formes de la maladie: la leishmaniose viscérale causée par *L. donovani* et la leishmaniose cutanée causée par *L. tropica*. Bien que les infections dues à *L. tropica* et *L. donovani* aient été considérées comme anthroponotiques dans la plupart des rapports **(Bates PA 2007);(Chappuis F, Sundar S, Hailu A, Ghalib H, Rijal S, et al. 2007)**, il existe des preuves de l'implication possible de la transmission zoonotique de ces deux espèces avec des hôtes réservoirs incertains dans certains foyers **(WHO 2010 ; Ashford RW 2000)**. En plus, il existe des rapports récents sur l'implication zoonotique de *L. donovani* en tant qu'infection naturelle des chiens **(Bashaye et al.,**

2009), des animaux domestiques (Rohousova et al., 2015) et des rongeurs (Kassahun et al., 2015).

Bien que les chiens soient considérés comme les réservoirs domestiques les plus importants de *L. infantum*, le rôle d'autres mammifères domestiques comme réservoirs a également été impliqué et leur capacité synanthropique pourrait faciliter la connexion entre les environnements sauvages et péri-domestiques (WHO, 2010).

En plus, de nombreuses espèces de rongeurs ont été identifiées comme des réservoirs de différentes espèces de *Leishmania*, ce qui démontre leur capacité à maintenir le parasite (Lemma et al., 2017). Même si peu d'études ont été réalisées sur des animaux volants pour confirmer leur statut d'hôte réservoir, des parasites de *Leishmania (L. infantum)* ont été isolés du sang de chauves-souris (Kassahun et al., 2015 ; De Lima et al., 2008 ; Berzunza-Cruz et al., 2015).

Tableau 2 : Hôtes réservoirs de la leishmaniose humaine dans certains pays endémiques (Akhoundi et al., 2016)

Région	Pays	Réservoirs
L'ancien monde	Afrique du Nord, Asie centrale et occidentale	Chien, humain, rongeur
L'ancien monde	Ethiopia, Kenya	Rongeurs, chien, animaux domestiques, chauve-souris, humain, hyrax
L'ancien monde	Sous-continent indien, (Inde, Népal, Bangladesh) et Afrique de l'Est	Chien, humain, Hyrax, rongeur
L'ancien monde	Bassin méditerranéen, Asie centrale, occidentale et Afrique de l'Ouest	Chien, renard, rongeur, humain
L'ancien monde	Europe	Chien, renard
Nouveau monde	Argentine, Belize, Bolivie, Brésil, Colombie, Costa Rica, République dominicaine, Équateur, El Salvador, Guyane française, Guadeloupe, Guatemala, Guyane, Honduras, Martinique, Mexique, Nicaragua, États-Unis, Venezuela, Paraguay, Pérou, Suriname, Panama,	Chien, chat, rongeur, marsupiaux, fourmilier, renard, singe, coati, paresseux, tatou, porc-épic, kinkajou, raton laveur, écureuil roux,

4. Cycle de transmission du parasite *Leishmania*

Les femelles suceuses de sang ingèrent la forme non flagellée (amastigote) pendant les repas sanguins sur les hôtes infectés. Le développement du parasite *Leishmania* au sein du vecteur, Phlébotome, est une étape inévitable pour la transmission de la leishmaniose entre différents hôtes. Ainsi, le parasite se multiplie et se différencie en d'autres stades, et le promastigote métacyclique étant le dernier stade infectieux pour les mammifères (Rogers et al., 2002). Ces formes infectieuses se déplacent vers l'avant du vecteur et sont inoculées à l'hôte au prochain repas de sang (figure 3). Les parasites sont phagocytés par les macrophages (Bates PA. 2007). Les amastigotes sont résistants à la digestion phagolysosomale en raison de l'interférence avec l'activité oxydative de ces cellules et donc survivent et se reproduisent dans les macrophages (Sacks D, Noben-Trauth N 2002) (Engwerda CR, Ato M, Kaye PM. 2008). Ainsi, de plus en plus de macrophages sont progressivement infectés et détruits.

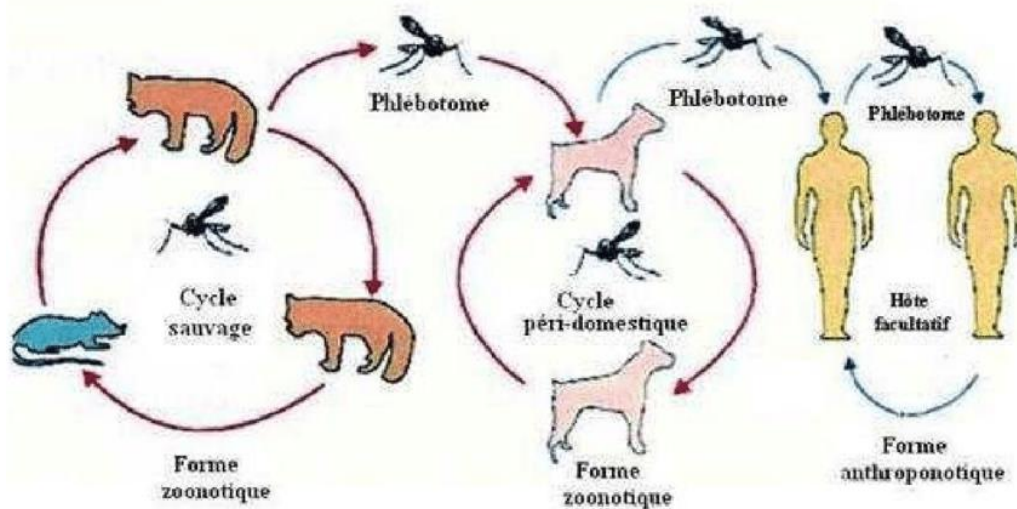


Figure 3 : Cycle épidémiologique de la leishmaniose (Unanleon)

5. Répartition géographique des leishmanioses

Les leishmanioses s'étendent sur 88 pays, dont 72 pays en voies de développement et 13 des pays dit sous-développés. Globalement, la population à risque représente 350 millions de personnes avec une prévalence de plus de 14 millions de personnes atteintes et quelques 2 millions de nouveaux cas par ans (OMS, 2017). L'OMS, déplore 500 000 cas de leishmaniose viscérale à travers 61 pays mais 90% des cas se trouvent confinés au Bangladesh, au nord-est du Brésil, en Inde (plus particulièrement dans l'état du Bihar), au Soudan et au Népal (figure 4). 1 million à 1,5 millions de cas de leishmaniose cutanée sont reportés et 90% des cas se trouvent dans 8 pays, 6 de l'Ancien Monde en Afghanistan, l'Algérie, l'Arabie Saoudite, l'Iran, l'Iraq et la Syrie et

2 du Nouveau Monde au Brésil et le Pérou (**figure 4**). La répartition de la leishmaniose mucocutanée est concentrée sur 3 pays du Nouveau Monde : la Bolivie, le Brésil et le Pérou qui a eux seuls présentent 90% des cas (**OMS, 2007 ; Reithinger, R., et al.2007**).

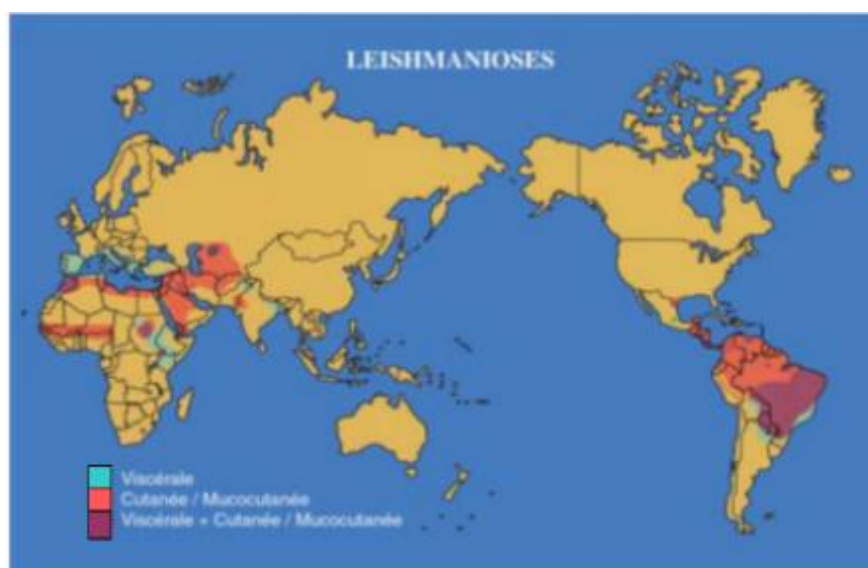


Figure 4 : Régions endémiques des leishmanioses cutanée, mucocutanée et viscérale (Handman, 2001)

6. Les leishmanioses en Algérie

6.1. Répartition géographique et situation épidémiologique

En Algérie, les leishmanioses constituent un problème de santé publique. Trois formes de leishmanioses humaines existent en Algérie : la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ), la leishmaniose cutanée sporadique (LCS), la leishmaniose cutanée chronique (LCC) et la leishmaniose viscérale (LV).

- **La LCZ due à *L. major***

Autrefois dénommée "clou de Biskra", décrite pour la première fois par Hamel en 1860, sévit à l'état endémo-épidémique sur toute la frange nord-saharienne correspondant à l'étage bioclimatique aride et semi-aride (figure 5). Les foyers anciennement connus sont ceux de Biskra à l'Est et d'Abadla à l'Ouest (Belazzoug, 1986). Cette forme cutanée connaît une extension vers le Nord (les hauts plateaux) avec la survenue d'épidémies (**Boudrissa et al., 2012**).

- **La LCS du Nord due à *L. infantum***

Cette forme touche tout le littoral et le Tell algérien et s'observe de façon permanente durant toute l'année (Harrat et al., 1996). Les foyers les plus touchés sont Tizi-Ouzou, Ténès, Bordj Menaiël, Bouira, Meftah, Larbaa et Alger (figure 5).

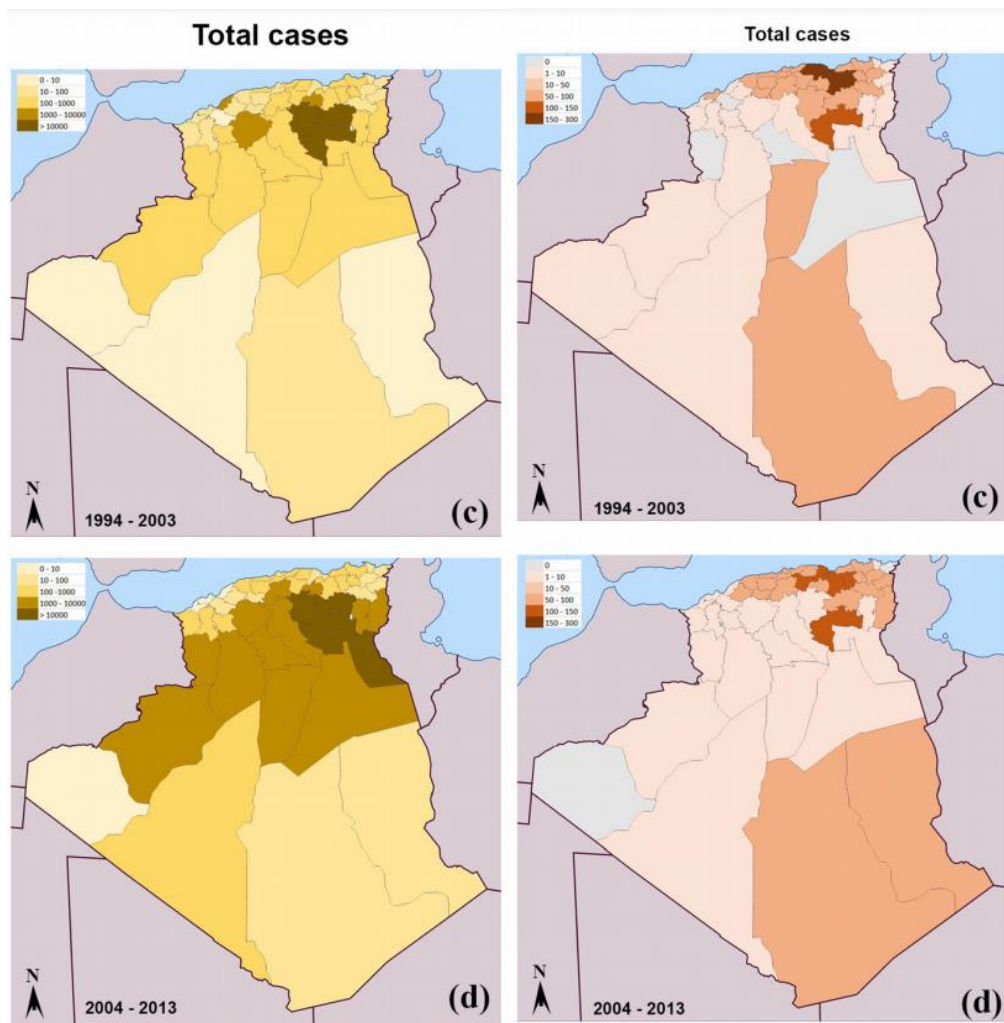
- **La LCC due à *L. tropica***

Cette forme a été signalé pour la première fois en 2009 à Ghardaïa (Sud-Est de l'Algérie) (Harrat et al., 2009). Par la suite d'autres foyers ont été aussi rapporté comme Constantine (nord-est de l'Algérie) en 2015 et à Annaba dans le nord-est du pays en 2017 (**Bachi et al., 2019**)

- **La LV due à *L. infantum***

Elle s'étend sur toute la partie Nord du pays au niveau des étages bioclimatiques humide et subhumide (Harrat et al., 1996). Cependant, il est important de signaler la survenue de nombreux cas dans les régions semi-arides et arides connues pour être des foyers de leishmaniose cutanée zoonotique (Eddaikra et al., 2018). En effet, Belazzoug en 1986 signalait déjà la présence de 21 cas de leishmaniose viscérale à Biskra, foyer de la LC (**Belazzoug et al., 1986**). D'autres cas continuent à être signalés dans le Hoggar et dans le Tassili N'ajjar (**Belkaid et al., 1997 ; Eddaikra et al., 2018**).

À côté des anciens foyers de Tizi Ouzou, Constantine, Jijel, Mila, Boumerdès et Médéa, de nouveaux foyers sont apparus. Il s'agit d'Annaba et de Collo à l'Est, de Blida, Cherchell, Ténès et Chleff au centre et de Tlemcen et Oran à l'Ouest (Eddaikra et al., 2018). En 1987, l'Ouest algérien était considéré comme indemne de la LV, mais l'existence de la leishmaniose canine dans la région de Tlemcen faisait de cette ville un territoire potentiel pour cette affection (**Belazzoug, 1987**).



Figures 5 : Origine géographique des cas de LC (à gauche) et de LV (à droite) signalés en Algérie (Eddaikra et al., 2018).

6.2. Les réservoirs des leishmanioses en Algérie

Depuis les travaux des frères Sergent en 1910 (**Sergent et al., 1910**), le chien a été incriminé comme réservoir de la forme viscérale. Plus tard, Dedet et al., en 1977 ont montré que 11,4 % des chiens de la Grande Kabylie étaient atteints. Ce rôle de réservoir n'a été admis que par déduction, et ce sont les travaux de Belazzoug et al. (1984-1985 et 1987) qui ont confirmé le rôle joué par cet animal et fait la corrélation entre le foyer de leishmaniose canine et la LVH.

En revanche, le rôle du chien comme réservoir de la LCS a été rapporté par Benikhlef et al en 2004 et en 2008. Par ailleurs, le chacal doré « *Canis aureus* » a été aussi trouvé infesté par *L. infantum* dans la région de la Kabylie (**A Bessad et al.2012**)



Figure 6 : la Leishmaniose chez le chien (Clinique vétérinaire Ric et Rac)

Par ailleurs, le réservoir de la leishmaniose cutanée zoonotique est représenté essentiellement par deux rongeurs sauvages gerbillidés (**figure 7**). Le premier découvert naturellement infesté par *L. major* au niveau du foyer de M'sila est le *Psammomys obesus* (**Belazzoug S, 1983**). Cependant *Meriones shawi* a été rapporté comme réservoir secondaire au niveau du foyer de Ksar chellala (**Belazzoug S, 1986**).

L'*Erinaceidae* (hérissons) est un autre réservoir potentiel de *Leishmania*. *Algirus Atelerix* a été trouvé infecté par *L. major* en Algérie dans la région de M'sila en 2014 (**Tomás-Pérez et al., 2014 ; Chemkhi et al., 2015**).



Figure 7 : les principaux réservoirs de la LCZ en Algérie (a :*Psammomys obesus*, b :*Meriones shawi*, c : *Algirus Atelerix*)

7.La leishmaniose canine (LCan)

7.1.Signes cliniques et examen physique

Les signes cliniques les plus courants de la leishmaniose chez le chien sont l'hypertrophie des ganglions lymphatiques et les lésions cutanées. Toutefois, un large spectre hétérogène de signes cliniques et de lésions peut être détecté lors de l'examen physique (**Martinez-Subiela et al., 2002 ; Bonfanti et al., 2004 ; Rosypal et al., 2005**), (tableau 3).

Tableau 3 : signes cliniques généraux et spécifiques par région corporelle chez les chiens atteints de leishmaniose (Slappendel RJ. *Canine leishmaniasis*. 1988) ; (Ciaramella P, Oliva G, Luna RD, et al. 1997) ; (Koutinas AF, Polizopoulou ZS, Saridomichelakis MN, et al. 1999) ; (Solano-Gallego L, Riera C, Roura X, et al. 2001).

Région du corps	Constatations cliniques:
General:	<ul style="list-style-type: none"> -Mauvais état nutritionnel ou cachexie -Hypotrophie musculaire -Léthargie -Muqueuses pâles -Hypertrophie légère à modérée des ganglions lymphatiques palpables -Epistaxis -Hépatosplénomégalie -Boiteries et gonflements articulaires -Fièvre
Cutané et muco-cutané:	<ul style="list-style-type: none"> -Dermatite desquamative (localisée ou généralisée) -Dermatite ulcéreuse d'aspect et de distribution variables (par exemple, - jonctions muco-cutanées, peau couvrant les extrémités et sites traumatisés) -La dermatite populaire -Dermatite nodulaire -Lésions nasales de type lupus ou -pemphigus -Onychopathie -Hyperkératose nasodigitale -La dermatite pustuleuse
Oculaire:	<ul style="list-style-type: none"> -Lésions palpébrales : Voir lésions cutanées et les découvertes muco-cutanées -Lésions conjonctivales diffuses ou nodulaires -Les lésions cornéennes, principalement associées à la conjonctive (kératoconjunctivite) -Kératite nodulaire et kératoconjonc. -tivitis sicca -Les lésions sclérositaires (diffuses ou nodulaires sclérite et épisclérite) -Lésions diffuses ou granulomateuses de -L'uvéa antérieure et les lésions de l'uvéa postérieure -L'uvéa (choriorétinite, hémorragies et détachements de la rétine) -Les complications possibles des maladies uvéales (glaucome et panophtalmie) -Lésions orbitales granulomateuses ou myosite des muscles extrinsèques
Autres:	<ul style="list-style-type: none"> -Implication gastro-intestinale ou neurologique

7.2.Étiologie et pathogénie de la leishmaniose canine

Bien que la plupart des chiens développent une réponse anticorps peu après le premier contact avec le parasite *Leishmania*, la résistance ou la sensibilité à une infection progressive dépend de l'équilibre entre les réponses immunitaires de l'auxiliaire Th1 à médiation cellulaire et de l'auxiliaire Th2 à médiation humorale (**Pinelli E et al., 1994 ; Santos-Gomes et al., 2002**). Les chiens ayant une réponse Th2 prédominante sont probablement enclins à la dissémination du parasite dans de multiples tissus et à des signes cliniques manifestes, tandis que les chiens ayant une réponse Th1 prédominante peuvent garder le parasite sous contrôle et être cliniquement sains (**Brachelente et al., 2005 ; Chamizo et al., 2005**).

Ainsi, la présence d'anticorps circulants n'implique pas nécessairement que le chien souffre de leishmaniose clinique, et la présence d'amastigotes dans les tissus peut être constatée chez des chiens cliniquement sains. Par conséquent, les lignes directrices pour le diagnostic et la détermination des stades de la leishmaniose canine, publiées par le Groupe de travail sur la leishmaniose canine (**Canine Leishmaniasis Working Group (CLWG)**) ; suggèrent une combinaison de critères cliniques et de laboratoire pour la classification des chiens en animaux exposés, infectés ou réellement malades (**Solano-Gallego et al., 2009**) :

- **Chiens exposés** : chiens qui ne sont pas cliniquement remarquables, dont la sérologie est positive à un faible niveau et qui sont négatifs par PCR et/ou cytologie.
- **Chiens infectés** : chiens qui ne présentent pas de signes cliniques particuliers, dont l'hématologie et les variables de chimie clinique sont normales, mais dont la PCR et/ou la cytologie sont positives dans la moelle osseuse, les ganglions lymphatiques, la rate, la peau ou le sang périphérique.
- **Chiens malades** : chiens infectés présentant des changements cliniques ou clinico-pathologiques typiques.
- **Chiens gravement malades** : chiens malades présentant un état clinique grave tel qu'une néphropathie protéinurique, une insuffisance rénale chronique, et présentant des problèmes concomitants qui peuvent ou non être liés à la leishmaniose, tels qu'une maladie oculaire entraînant la cécité et une maladie articulaire grave altérant la motilité, et qui nécessitent un traitement immunosuppresseur. Ces chiens comprennent également les animaux présentant des affections concomitantes potentielles telles que des co-infections

ou des maladies néoplastiques, endocriniennes ou métaboliques, ou ceux qui ne répondent pas à des traitements antileishmaniques répétés.

7.3.Méthodes de diagnostic

Le diagnostic de la leishmaniose chez le chien doit être basé sur une approche intégrée prenant en compte la signalisation, l'histoire, les résultats cliniques et les résultats des analyses de laboratoire de base qui détectent le parasite ou évaluent la réponse immunitaire de l'hôte :

7.3.1.Signalement et histoire

Toute race canine peut être affectée par la leishmaniose, bien que certaines races (par exemple, le Berger allemand et le Boxer) semblent être plus prédisposées que d'autres à la maladie déclarée (**Abranches et al., 1991 ; Sanchez-Robert et al., 2005**). De plus, une prédilection sexuelle peut exister ; les mâles auraient un risque plus élevé que les femelles de développer la leishmaniose (**Brandonisio O et al., 1992 ; Fisa et al., 1999**). Tout comme les humains, les chiens peuvent être infectés à tout âge (**Shiddo al., 1995**), mais la prévalence de l'infection dans certaines tranches d'âge a une distribution bimodale, avec un premier pic chez les chiens < 3 ans et un second chez les chiens de 8 à 10 ans (**Alvar et al., 2004**). La distribution de la maladie étant très variable dans le monde, il est essentiel de savoir si un chien vit ou a voyagé dans une zone endémique connue et a donc été potentiellement exposé aux phlébotomes. Il est également important de savoir si le chien a reçu des traitements préventifs potentiellement efficaces contre les phlébotomes ou si des traitements susceptibles d'interférer avec l'efficacité du système immunitaire ont été administrés. La prise d'antécédents doit inclure la collecte d'informations concernant tout signe détecté par le propriétaire qui est cohérent avec la leishmaniose, comme la perte de poids, les changements cutanés, la polyurie polydipsie et l'épistaxis.

7.3.2.Tests de laboratoire de base

Les tests de base comprennent une NFS, une analyse biochimique du sérum, une électrophorèse des protéines sériques et une analyse d'urine. Dans le cas de la leishmaniose, ces tests permettent de détecter un ou plusieurs des changements associés à la maladie (**Slappendel, 1988 ; Ciaramella et al., 1997 ; Koutinas et al.1999 ; Solano-Gallego et al.2001**).

7.3.3. Tests de laboratoire spécifiques (diagnostic étiologique)

En règle générale, la leishmaniose chez le chien peut être confirmée rapidement et efficacement par des analyses cytologiques, sérologiques ou PCR chez les chiens présentant des signes cliniques manifestes ou de graves altérations des variables clinico-pathologiques pertinentes (Gradoni, 2002 ; Ashford et al., 1995 ; Leontides et al., 2002). Ainsi, les méthodes de diagnostic sont regroupées en deux grandes catégories : directes (évaluation cytologique, évaluation histologique, culture d'organismes, test PCR et xénodiagnostic) et indirectes (test sérologique et évaluation de la réponse immunitaire cellulaire).

La réaction en chaîne de la polymérase (PCR) est aujourd'hui un outil moléculaire simple et valable pour détecter *Leishmania spp.* Dans différents échantillons cliniques, ainsi que pour identifier les espèces, souches et génotypes de parasites (Schönian G, Nasereddin A, Dinse N, Schweynoch C, Schallig HD, Presber W, et al. 2003).

7.4. Traitement de la LCan

- Antimoniés pentavalents

L'antimoniote de N-méthyl-glucamine (mégлумine) est le composé le plus utilisé pour traiter la leishmaniose chez les chiens et les humains, Le médicament inhibe sélectivement la glycolyse leishmanienne et l'oxydation des acides gras. Chez 94% à 95% des humains atteints de leishmaniose, une dose de 20 mg/kg/j (27,3 mg/lb/j) pendant 28 jours entraîne une guérison parasitologique et clinique (Gradoni et al., 1995 ; Gradoni et al., 2003). L'antimoniote de mégлумine a une courte demi-vie chez le chien (21, 42 et 122 minutes) lorsqu'il est administré par voie intraveineuse, intramusculaire et sous-cutanée, respectivement. Six à neuf heures après l'administration, 80 à 95 % de l'antimoniote de mégлумine est éliminé par les reins (Tassi et al., 1994 ; Valladares et al., 1996).



Figure 8 : traitements de la leishmaniose (photos originales, 2020)

- **Allopurinol**

Lorsqu'il est administré à des chiens en tant qu'agent anti-*Leishmania* unique pendant une période minimale de 2 à 3 mois, l'allopurinol entraîne généralement une amélioration clinique modérée et le rétablissement partiel de certains analytes de laboratoire dans les limites de référence, tels que les protéines d'inflammation en phase aiguë (**Pennisi et al.2005 ; Sasanelli et al., 2007 ; Vercammen et al., 2002**). Le traitement à l'allopurinol n'aboutit pas à une guérison parasitologique complète et des rechutes se produisent lorsque le traitement est interrompu. C'est pourquoi l'allopurinol est généralement administré pendant des périodes pouvant aller jusqu'à plusieurs mois (**Cavaliero et al., 1999 ; Pennisi et al., 2005**). La tolérance du médicament est excellente et semble ralentir la détérioration de la fonction rénale chez les chiens atteints de protéinurie mais sans insuffisance rénale (**Plevraki et al., 2006**). Les doses d'allopurinol les plus couramment prescrites se situent entre 5 et 20 mg/kg (2,3 et 9,1 mg/lb), toutes les 12 heures pendant 2 à 24 mois.

- **Amphotéricine B**

L'amphotéricine B est un antifongique puissant utilisé dans le traitement des Mycoses systémiques. Il représente un anti-leishmanien puissant utilisé dans le traitement des leishmanioses graves (viscérales et muqueuses) ou résistantes aux antimonies (Jebbouri, 2013). Cette molécule, diluée avec une solution saline stérile (0,9% NaCl) et émulsifiée avec de l'huile de soja a été utilisé chez les chiens (**Cortadellas, 2003 ; Lamothe, 2001**). Bien que la formulation permette la guérison clinique de la plupart des chiens traités, elle n'est généralement pas utilisée comme traitement de routine en raison de la complexité de la préparation et de l'administration.

D'autres produits comme la Marbofloxacin, l'Enrofloxacin et l'Aminosidine ont été approuvés par la FDA (Food and Drug Administration) pour l'utilisation chez les chiens

8.Lutte et mesures préventives contre le parasite *Leishmania*

Étant donné que les chiens traités contre la leishmaniose peuvent toujours être contagieux pour les phlébotomes, Il est recommandé que tout chien en bonne santé vivant ou visitant des zones où la leishmaniose est endémique soit protégé des piqûres de phlébotomes pour prévenir les infections à *Leishmania* (**Gradoni L, Maroli M, Gramiccia M, et al.1987**) (**Alvar J, Molina R, San Andrés M, et al.1994**) et réduire le risque d'infections humaines (**Killick-Kendrick, 1999 ; Quinnell et al., 2009**).

Dans ce domaine, plusieurs études ont été menées sur les pyréthroïdes synthétiques à utiliser sur les animaux. Le mode d'action des pyréthriinoïdes synthétiques comporte deux aspects pharmacologiques principaux. Après s'être posés sur des chiens traités, les phlébotomes peuvent se reposer sur la peau pendant une période suffisante pour absorber une dose létale d'insecticide (effet obtenu par des effets toxiques) ou les phlébotomes peuvent n'avoir qu'un contact fugace avec la peau traitée par un insecticide, suffisant pour provoquer une irritation et une désorientation, entraînant une réduction du taux d'alimentation sanguine (effet obtenu par le manque d'alimentation) (Killick-Kendrick et al., 1997). Les pyréthroïdes synthétiques utilisés pour l'application sur les chiens combinent les propriétés d'effets toxiques faibles à modérés sur les mammifères, d'une faible volatilité et d'une activité insecticide élevée et rapide (Wells et al., 1986 ; Zaim et al., 2000).

Les modes d'application comprennent les bandes de protection à libération lente comme le collier de chien (figure 9), les formulations spot-on ou les formulations en spray (tableau 4). Parmi les pyréthroïdes synthétiques, la perméthrine et la deltaméthrine ont reçu une autorisation de mise sur le marché avec des indications d'efficacité en ce qui concerne la non-alimentation et les effets toxiques contre les vecteurs *Leishmania* (Tableau 4) (Michele Maroli.2010).



Figure 9 : Collier Scalibor (photo originale, 2020)

Tableau 4 : Produits commerciaux actuellement étiquetés pour une application cutanée sur les chiens pour la prévention des piqûres de vecteurs de *Leishmania* (Michele Maroli.2010).

Mode d'application	Produit commercial	Principe actif	Intervalle d'action après application	Durée estimée de la protection
Spot-on	Advantixa	50% perméthrine et 10% imidaclopride	24–48 h	3 semaines
Spot-on	Exspote	65% de perméthrine	24–48 h	4 semaines
Spray	Duowinf	2 % de perméthrine et 0,2 % de pyriproxifène	Immédiatement	3 semaines
Collier	Scalibore	4 % de deltaméthrine et de phosphate de triphényle	1 semaine	5 mois

7.5..La vaccination

La vaccination contre les agents pathogènes est considérée comme une étape importante dans le domaine de la prévention des maladies infectieuses (figure10). Cependant, cet outil important n'est pas encore disponible dans le monde entier pour la prévention de la leishmaniose chez les chiens (Miró et al.2017 ; Solano-Gallego et al.2017)



Figure 10 : Vaccins contre la LCan (https://saludanimal.leti.com/en/letifend-vaccine-against-canine-leishmaniasis_3944,

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1.Zones de l'étude

Cette étude a été menée entre Décembre 2019 et Septembre 2020 dans deux zones bioclimatiques différentes (figure 11) :

- La zone urbaine de Draria, wilaya d'Alger qui couvre 273 km², sur les pieds du Sahel algérien avec un bioclimat humide (**figure 11a**). En 2020 elle comptait 8 000 000 habitants (Population Data, 2020). La wilaya d'Alger comprend plus de 40 communes (municipalités), regroupées en 13 arrondissements administratifs ou daïras. La région d'Alger a un climat méditerranéen, caractérisé par des étés longs, chauds et secs et des hivers chauds et humides. Les températures varient entre 6°C en hiver et 32°C l'été. Les pluies annuelles moyennes peuvent atteindre les 800 mm (**NOAA ;1990**).
- La zone rurale de Chellal de la wilaya de M'sila, qui est située à 250 km au Sud-Est d'Alger, sur les hauts plateaux du pays avec un bioclimat semi-aride à aride, dans la région du Hodna (**figure 11b**). Elle est divisée en 15 Daïras et 47 communes. Elle a une superficie de 18 175 km² et est limitée par les wilayas de Médéa, Bouira, Bordj-Bou-Argeridj et Sétif au nord, Batna à l'est, Djelfa à l'ouest et Biskra au sud. La population totale de la wilaya est estimée au 31/12/2014 à 1 210 952 habitants (<http://www.wilaya-msila.dz/>). Sa morphologie et sa position géographique confèrent à cette région un aspect écologique unifié représenté par la prédominance de la steppe qui couvre 63 % de la superficie totale de la wilaya. La superficie affectée à l'agriculture représente 20 % de la surface totale, consacrées essentiellement à la céréaliculture, à l'arboriculture et au maraîchage. La pluviométrie y varie de 69 mm/an à 316 mm/an, et les températures annuelles entre -5°C en hiver à 46°C en été (**climate-data.org**).
- Wilaya deTizi-Ouzou : en debut de l'étude sur LCan la wilaya de tizi-ouzou faisait partie de notre programme mais devant la pandémie du covid-19 ; celle-ci n'a pu être réalisée (mesure de confinement-interdiction de déplacement inter wilaya- réduction du personnel de l'institu pasteur...)

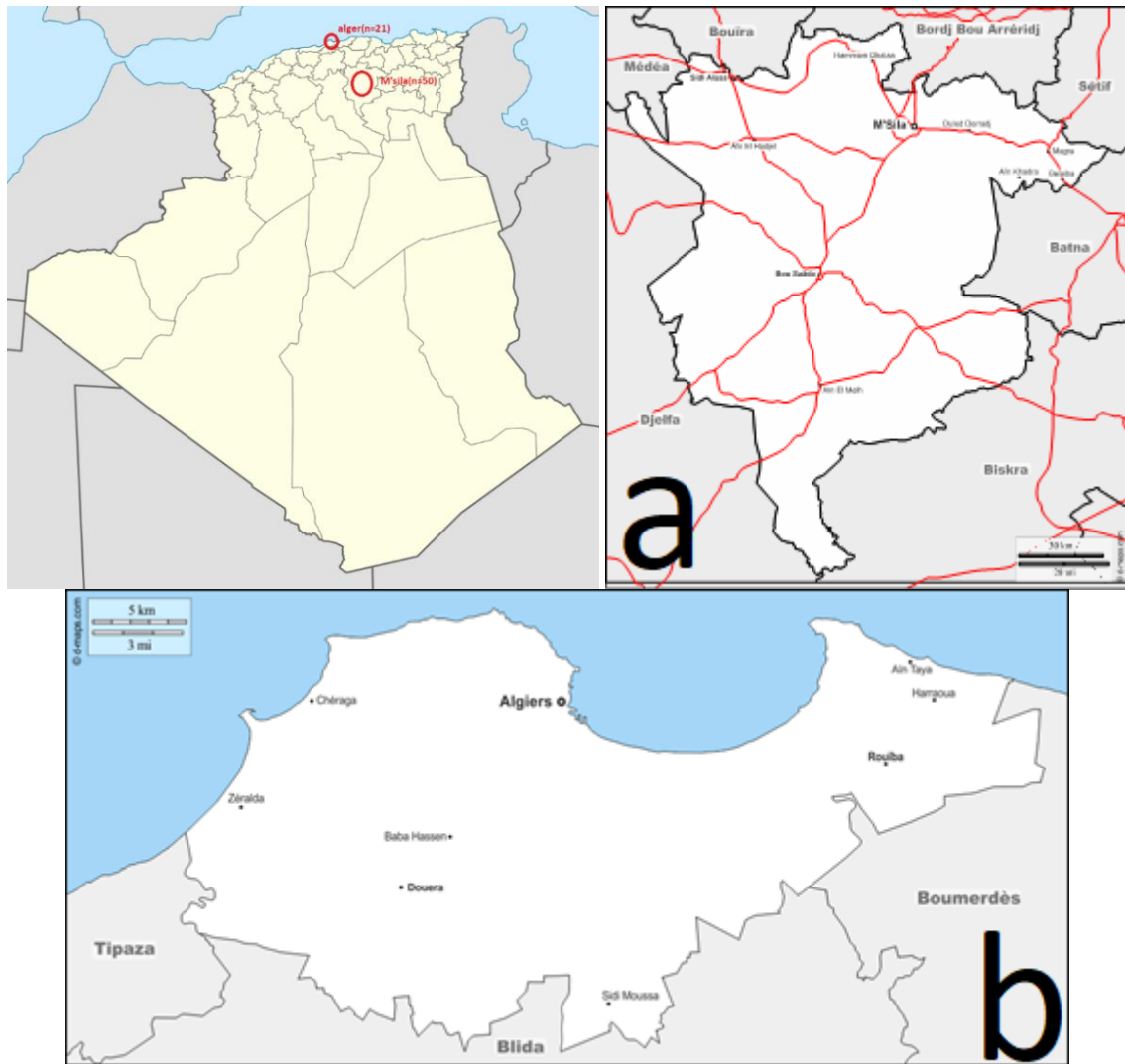


Figure 11 : Géolocalisation des deux zones d'études (Alger au nord et M'sila au sud-Est du pays (La figure 11a représente la wilaya de M'sila, et la figure 11b représente la wilaya d'Alger)

1.2.Recrutement des chiens

Soixante-douze (72) chiens ont fait l'objet de notre étude après obtention du consentement de leurs propriétaires. 22 chiens suspect d'une leishmaniose canine (LCan) provenant de différentes localités de la wilaya d'Alger ont été prélevés depuis décembre 2019 jusqu'à juillet 2020 au niveau d'un cabinet vétérinaire privé de la région de Draria (tableau 1). Par ailleurs 50 chiens asymptomatiques provenaient de la daïra de Chellal de la wilaya de M'sila. Ces derniers ont été réalisés du 23 février au 28 février 2020 dans le cadre d'une investigation réalisée par l'équipe du Laboratoire d'Eco-épidémiologie Parasitaire et Génétique de populations (LEEPGP) et rentrant dans les enquêtes de surveillance de la leishmaniose cutanée dans la région de M'sila. Un code d'enregistrement a été attribué pour chaque chien sélectionné pour l'étude (tableau 5).

Tableau 5 : Renseignements des 22 chiens recrutés au niveau du cabinet de Draria durant la période de Décembre 2019 à Juillet 2020 (ND : non déterminé)

Code	Nom	Age	Sexe	Race	Origine	Lieux d'habitat	Vaccination
Lcan1/19	Liza	12 ans	Femelle	Berger Allemand	Espagne	Blida	-
Lcan 2/20	Clar	18 mois	Male	Berger Allemand	Blida	Blida	-
Lcan 3/20	Alice	10 mois	Femelle	Berger Allemand	Boufarik	Boufarik	-
Lcan4/20	Chana	3 ans	Femelle	Berger Allemand	Boufarik	Boufarik	-
Lcan5/20	Lara	2 ans	Femelle	Berger Allemand	El Biar	El Biar	+
Lcan6/20	Yola	13 ans	Femelle	Berger Allemand	Bou Mérdess	Zeralda	-
Lcan7/20	Toner	2.5 ans	Male	Berger Allemand	Oued Roman	Oued Roman	-
Lcan8/20	Cristal	10 ans	Femelle	Dog Argentin	Oued Roman	Oued Roman	+
Lcan9/20	Tampo	9 ans	Male	Rottweiler	Oualed Fayed	Ain Beniyan	+
Lcan10/20	Turbo	5 ans	Male	Berger Belge (Malinois)	Draria	Draria	-
Lcan11/20	Roxane	4 ans	Femelle	Berger Allemand	Souidania	Souidania	-
Lcan12/20	Diego	5 ans	Male	Berger Belge (Malinois)	Khraissia	Khraissia	-
Lcan13/20	Ice	5 ans	Male	Dog Argentin	Draria	Draria	-
Lcan14/20	Rode	3 ans	Male	Rottweiler	Draria	Draria	-
Lcan15/20	Escobar	8 ans	Male	Staff Americain	Blida	Blida	-
Lcan16/20	Katti	9mois	Femelle	Berger Allemand	Baraki	Baraki	-
Lcan17/20	Soket	2 ans	Male	Berger Allemand	ND	ND	-
Lcan18/20	Panda	2 ans	Femelle	Berger Allemand	ND	ND	-
Lcan19/20	Volt	3 ans	Male	Berger Belge (Malinois)	ND	ND	-
Lcan20/20	Lenox	4 ans	Male	Berger Allemand	ND	ND	-
Lcan21/20	Pedro	6 ans	Male	Berger Allemand	Tizi-Ouzou	Tizi-Ouzou	-
Lcan22/20	Vinette	2 ans	Femelle	Berger Allemand	El-Biar	El-Biar	+

2.Méthodes

2.1.Examen et prélèvements des chiens

Les 72 chiens ont fait l'objet d'un examen clinique minutieux pour suspicion de LCan (figure12).

Le prélèvement sanguin a été réalisé avec une épicrotène sur 2 tubes EDTA sous vide au niveau de la veine de la patte avant du chien après désinfection. Quelques prélèvements ont été fait au niveau de la veine saphène pour les chiens trop agités où déshydratés. Les prélèvements ont été réalisés tout en respectant les lois éthiques et droits des animaux prescrits dans la république Algérienne démocratique et populaire (**Loi n° 88-08 du 26 janvier 1988 relative aux activités de médecine vétérinaire et à la protection de la santé animale**).

Les chiens présentant des lésions cutanées ont bénéficié d'un prélèvement du suc dermique. Le produit du raclage a été mis sur une lame porte objet et coloré au MGG (Mac Grunwald Giemsa)



Figure 12 : Examen clinique et prélèvement des chiens au niveau des deux zones d'études (photos originales 2020)

2.2. Cultures sur milieux

Les milieux de culture ayant servi à l'isolement des parasites sont : le milieu gélose au sang de lapin NNN (Novy McNeal Nicolle) et le Sérum de lapin. Ces milieux sont préparés au niveau du LEEPGP de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA).

Les prélèvements ont été immédiatement acheminés au LEEPGP de l'IPA et le laboratoire de Parasitologie de l'annexe de M'sila pour traitement et ensemencement.

Les 2 tubes EDTA de chaque chien ont été centrifugés à 2500 tr/min pendant 10 min à température ambiante.

Après centrifugation, nous avons obtenues 3 couches bien séparées : le plasma en haut du tube, la couche leucocytaire au milieu et les globules rouges au fond du tube (**figure 13**).

Les tubes sont mis à proximité d'un bec benzène dans un périmètre de 15 cm afin d'assurer la stérilisation de l'air environnant.

Le plasma de chacun des tubes a été transférés dans des tubes Eppendorf et garder à -20°C pour une éventuelle technique sérologique (IFI, ou ELISA).

La couche leucocytaire du premier tube est ensemencée sur deux tubes contenant les milieux de cultures NNN et sérum de lapin coagulé. Ces 2 tubes (NNN et SL) sont supplémentés de 0,5 ml d'eau physiologique et quelques gouttes d'antibiotiques pour empêcher toute prolifération de bactéries. Les tubes sont incubés à 25°C pendant une semaine.

La couche leucocytaire du deuxième tube est transférée dans un tube Eppendorf contenant 0,5 ml du tampon TE et garder à 4°C pour une extraction d'ADN pour le diagnostic moléculaire par PCR.



Figure 13 : prélèvement sanguin d'un chien suspect de Lcan après centrifugation (**Originale 2020**)

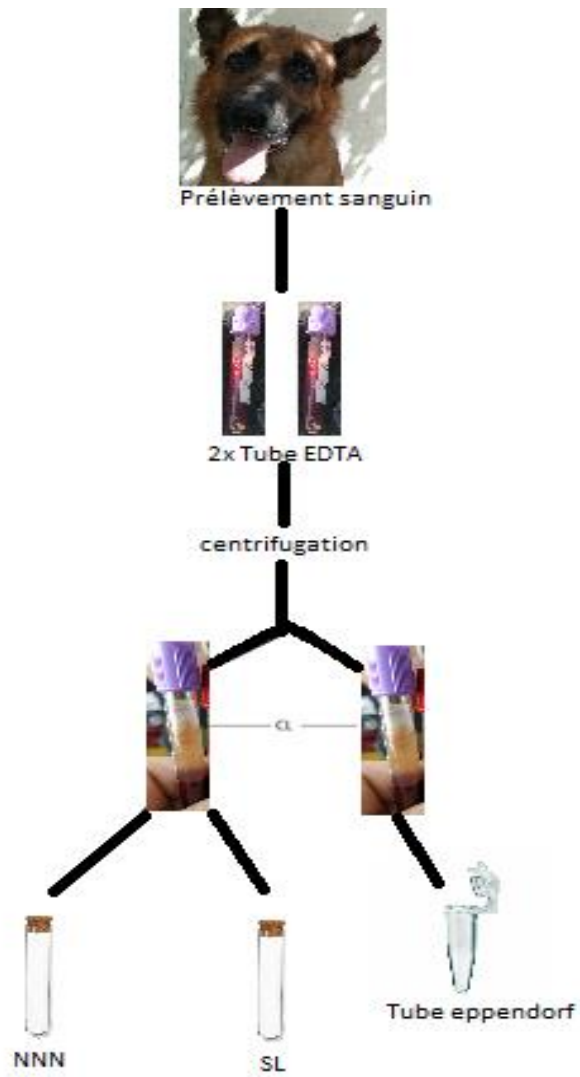


Figure 14 : Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'analyse des prélèvements (photos originales, 2020)

2.3. Diagnostic parasitologique et moléculaire de la LCan

2.3.1. Diagnostic parasitologique : Isolement et culture des parasites

Des contrôles parasitologiques d'une goutte de la suspension de la couche leucocytaire ont été effectués chaque semaine pour les 72 prélèvements (soit 144 tubes). L'examen a été réalisé entre lame et lamelle, au microscope optique au grossissement moyen (objectif x 40). Des repiquages sur de nouveaux milieux ont eu lieu toutes les semaines pendant un mois en l'absence de contaminations. La mise en évidence de promastigotes de *Leishmania* permettait de retenir le prélèvement comme positif (figure 15).

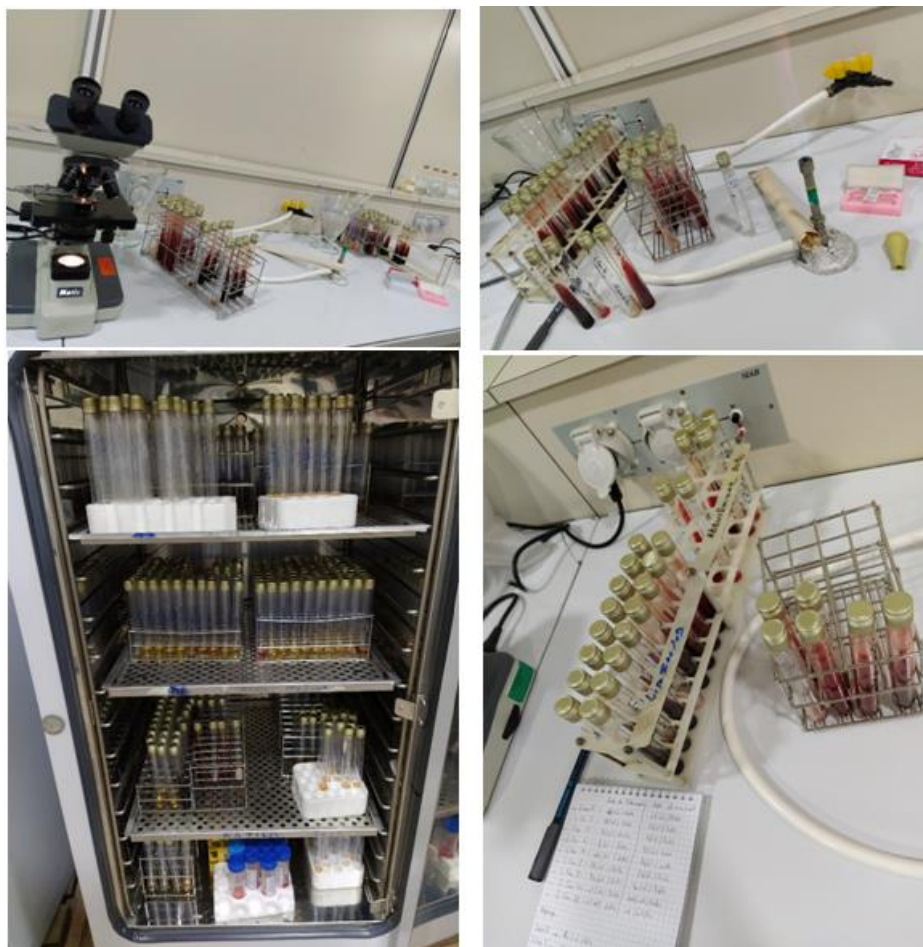


Figure 15 : Culture des parasites (photos originales, 2020).

2.3.2. Diagnostic moléculaire par PCR-ITSI

2.3.2.1. Extraction de l'ADN parasite par phénol chloroforme alcool iso-amylque

L'ADN a été extrait à partir de la couche leucocytaire (CL) gardé auparavant à 4°C des 72 prélèvements de LCan (figure 16).

- **Lyse cellulaire**

Un tampon de lyse et du SDS à 10% ont été ajoutés au tube eppendorf contenant la CL pour casser les ponts disulfures et la bicouche lipidique de la cellule. Par la suite, la proteinase K est ajoutée pour digérer les protéines existantes dans la cellule et notamment celles qui sont liées à l'ADN. La lyse est réalisée au bain marie à 37°C toute la nuit.

- **Déprotéinisation (sous hotte chimique)**

La déprotéinisation se fait par l'ajout d'un volume du phénol /chloroforme/alcool isoamylque à la préparation précédente. Après centrifugation à 13000g pendant 10 minutes, les protéines dénaturées forment un précipité à l'interface phénol-eau, tandis que l'ADN reste en solution dans la phase aqueuse. Cette dernière est récupérée délicatement dans un nouveau tube.

- **Précipitation**

De l'acétate de sodium et un volume d'éthanol absolu sont par la suite ajoutés à la solution récupérée précédemment. L'ADN est précipité sous forme de filaments blanchâtre (Méduse), après centrifugation à 12000g à 4°C pendant 15 minutes. L'ADN est séché une nuit à température ambiante. Après une nuit de séchage, du tampon d'élution est ajouté pour réhydrater l'ADN et conserver à -20°C pour une utilisation ultérieure (PCR).



Figure 16 : Les différentes étapes de l'extraction de l'ADN (photos originales, 2020).

2.3.2.2. La PCR ITS1

Dans la présente étude, la PCR a été appliquée selon le protocole de **Schonian (2008)** pour amplifier la région ITS1 (Internal transcribed spacer 1) de l'ADN extrait. Les amorces LITSR (5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3') et L5.8S (5'-TGATACCACTTATCGCACTTA-3') ont été utilisées pour l'amplification de la région ITS1 (figure 17).

- Préparation du mix

La préparation du mix se fait sous hôte dans des conditions aseptiques pour éviter toute contamination du mix. Un mélange réactionnel est préparé selon le protocole de **Schonian (2008)** contenant : 10X PCR buffer, DNTP mix (2.5mm), primer LITRS et L5.8S (10um), Taq (5U/ul) et de l'eau distillée.

- La PCR

L'ADN extrait auparavant est mis en contact avec le mélange réactionnel et placé dans le thermocycleur selon un programme spécifique à l'amorce ciblé (**Schonian, 2008**).

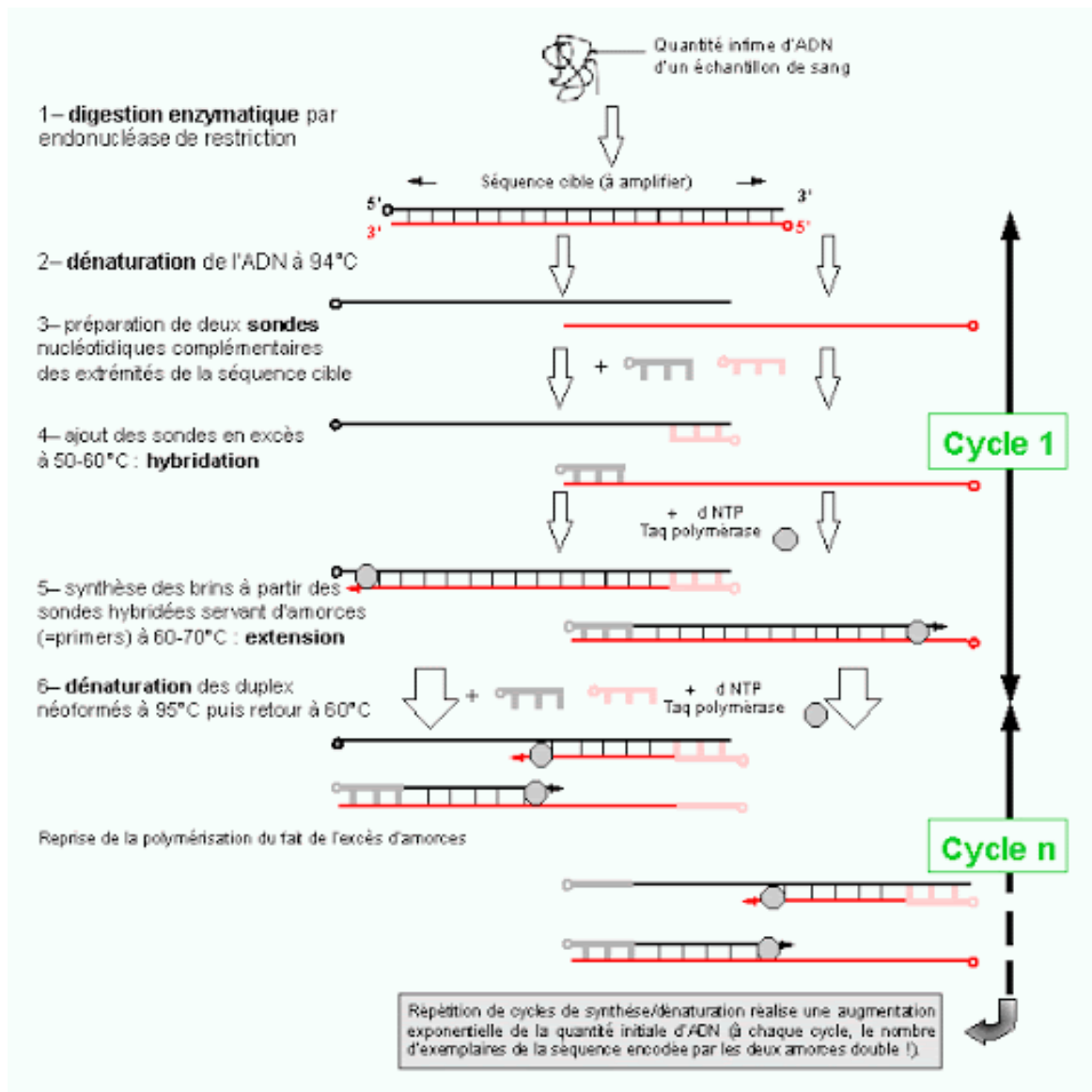


Figure 17 : le principe de la PCR

2.3.2.3. Révélation des produits PCR : Electrophorèse sur gel d'agarose

Les produits PCR (amplicons) sont révélés par électrophorèse horizontale sur gel d'agarose à 2%. Un gel d'agarose est préparé dans du tampon Tris Acid acétique EDTA (TAE) dont le Bromure d'Ethidium est ajouté. Ce dernier s'intercale entre les acides nucléiques et permet la visualisation de la partie amplifiée sous UV (figure 18). Un marqueur de taille est utilisé (100 paires base) pour vérifier la taille du produit PCR.



Figure 18 : Révélation des produits PCR (photo originale, 2020)

2.3.3. Control moléculaire des chiens atteints de LCan et traitement au Glucantime

Pour tout chien atteint d'une Lcan (culture et/ou PCR positives), une prescription de l'antimoniote de N-méthyl-glucamine (méglumine) (Glucantime) en association avec l'allopurinol (Zyloric) a été envisagé par nous-même et le vétérinaire privé collaborateur dans cette étude avec l'accord du propriétaire. La posologie du traitement été de 2 ampoules de Glucantime/jour par voie sous-cutanée pendant un mois et 3 comprimés de zyloric/jour jusqu'à obtention d'une diminution de la charge parasitaire et guérison du chien.

Résultats et interprétation

1.Examen clinique

Notre examen clinique des 50 chiens asymptomatiques de M'sila n'a pas montré de signes en faveur d'une LCan. Cependant nous avons noté une déshydratation et un amaigrissement très importants en rapport avec la malnutrition observé chez l'ensemble des chiens à cause du faible niveau socio-économique constaté (figure 19).



Figure 19 : Etat d'amaigrissement et déshydratation d'un chien asymptomatique de la région de M'sila (**photo originale, 2020**)

Par ailleurs, les 22 chiens recrutés au cabinet vétérinaire de Draria (Alger), ont montré la présence d'un à plusieurs signes cliniques (figure 20, tableau 6). Le signe clinique le plus observé est un amaigrissement chez 16 chiens, soit 72.73% de l'ensemble des chiens. Cependant, les lésions cutanées ont été observé chez 41% des chiens. Par contre un allongement des griffes a été remarqué chez seulement deux chiens LCan21/20 et LCan22/20, soit 9% de l'ensemble des chiens.

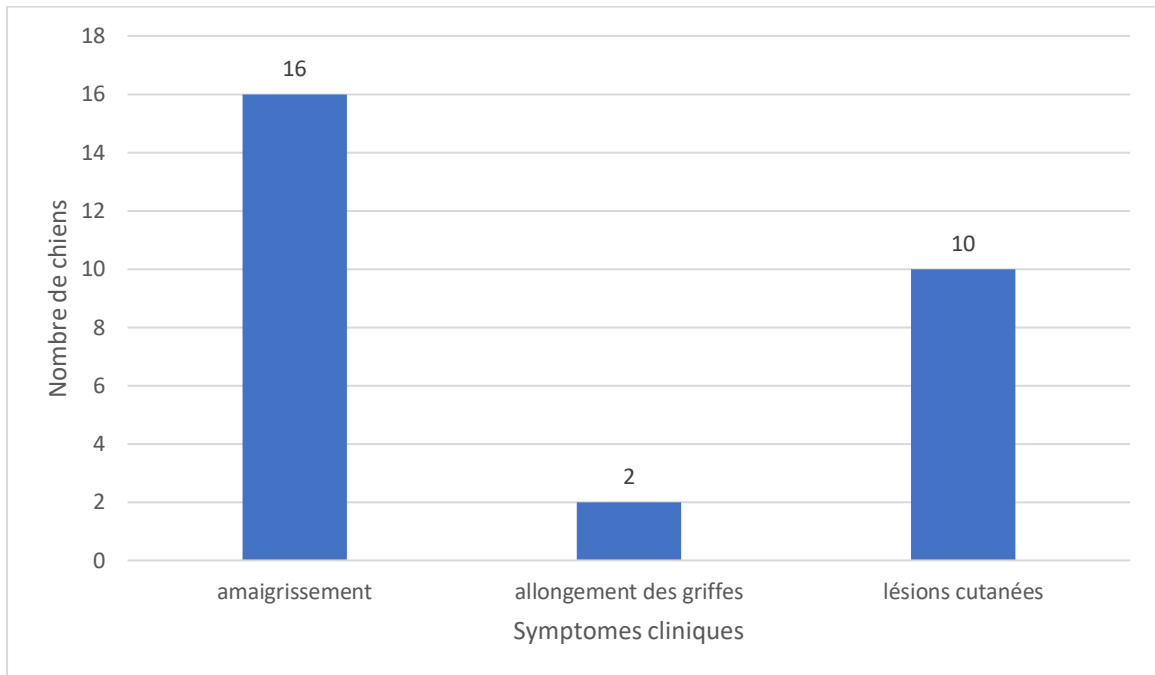


Figure 20 : Répartition des 22 chiens d'Alger selon les signes cliniques



Figure 21 : Amaigrissement et allongement des griffes chez le chien Lcan21/20 (photo originale, 2020)

2. Répartition des chiens selon l'âge

Les chiens que l'on a prélevés au niveau de la wilaya de M'sila étaient dans la majorité des cas des adultes, sachant que la plupart de leurs propriétaires ne connaissaient pas l'âge précis de leurs chiens.

Par ailleurs, l'âge des 22 chiens d'Alger a varié entre moins deux ans et plus de 12 ans (figure 22). La tranche d'âge 2-6 ans été la plus prédominante avec 63,63%. Par ailleurs, 13.64% des chiens avaient moins de 2ans ; 9% des chiens avaient entre 8-10 ans et 12-14 ans et enfin 4.55% des chiens avait entre 10-12 ans.

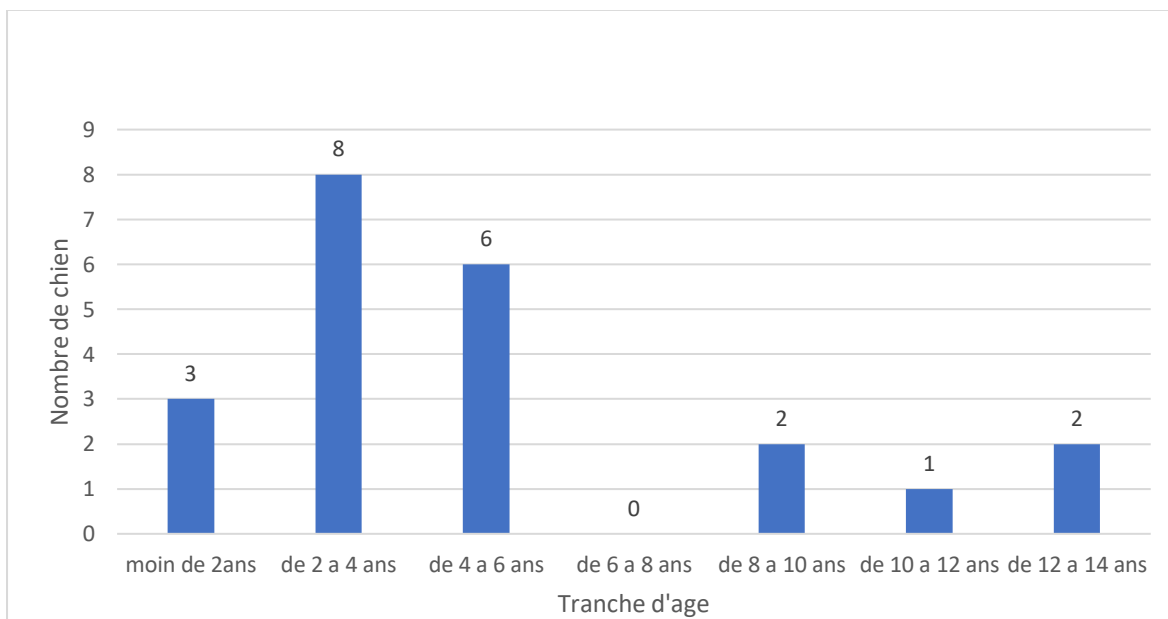


Figure 22 : Répartitions des 22 chiens d'Alger selon l'âge

3. Répartition des chiens selon le sexe

Nous avons remarqué une prédominance du sexe masculin aussi bien chez les chiens de M'sila que chez les chiens d'Alger. Chez ces derniers le sexe ratio male/ femelle été de 1,2 (figure 23).

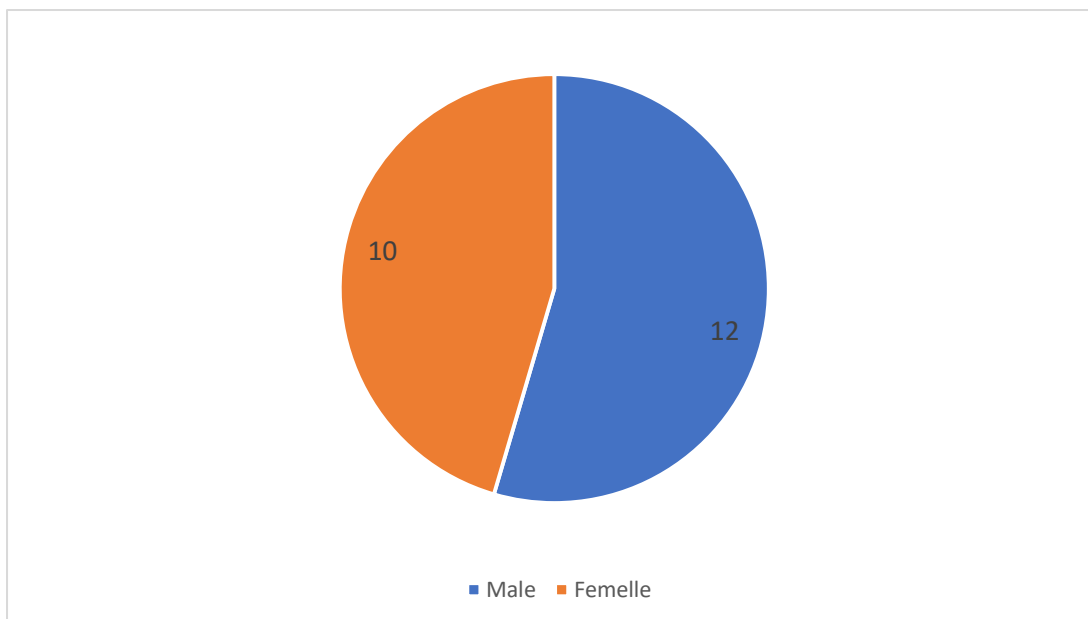


Figure 23 : Répartitions des 22 chiens d’Alger selon le sexe

4. Répartition des chiens selon la race

Au niveau de M’sila, la plupart des propriétaires ignoraient la race de leurs chiens, ils les appelaient « chien arabe » Cependant nous avons constaté la présence des chiens sloughis utilisés dans la chasse. A Alger, le berger allemand été le plus prédominant avec 63.64% de l’ensemble des chiens, suivi du berger belge malinois chez 13.64%, le dog argentin comme le rottweiler chez 9.09% et enfin le staff américain chez 4.55% (figure 24).

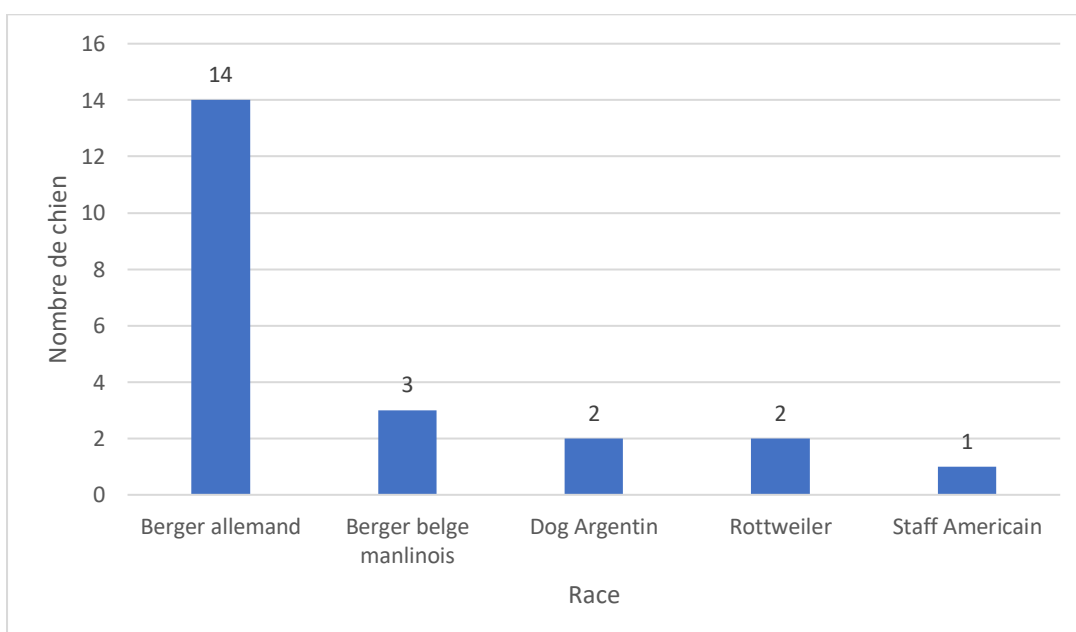


Figure 24 : Répartitions des 22 chiens d’Alger selon la race

5. Diagnostic parasitologique

5.1. Examen direct sur lame

Sur les 22 chiens recrutés à Alger, 10 ont bénéficiés d'un examen direct sur lame colorée au MGG. Le résultat de l'examen direct n'a pas révélé la présence de formes amastigotes dans l'ensemble des lectures.

5.2. Examen sur milieux de culture

La culture des parasites est très importante pour l'isolement du parasite et l'identification de l'espèce en cause. Plusieurs mois ont été consacré pour les repiquages et l'observation microscopique des 72 prélèvements (un mois/prélèvement). 144 tubes ont été observés et repiqué chaque semaine pour renouveler le milieu.

Sur les 144 prélèvements observés chaque semaine, aucune culture n'a montré la présence de la forme promastigote, et donc toutes les cultures sur milieu NNN et SLC étaient négatives.

5.3. Diagnostic moléculaire par PCR-ITS1

Révélation des produits PCR : Electrophorèse sur gel d'agarose

L'ADN chromosomique intacte apparaît comme une bande distincte à environ 30 Kb (300pb). La comparaison de l'intensité de cette bande avec des bandes standard (marqueur de taille de 100pb), nous a permis de poser un diagnostic positif pour deux échantillons sur les 72, soit 2,77%. Il s'agit du prélèvement LCan 21/20 originaire de Tizi-Ouzou et du prélèvement LCan 22/20 d'Elbiar de la wilaya d'Alger (figure 24, 25). Ainsi, les produits des amplifications (amplicons), qui ont ciblés la région ITS1 des 2 isolats d'ADN ont montré que la région ITS1 des Leishmania été bien amplifiée. Par ailleurs, les 70 prélèvements d'ADN restants étaient tous négatifs et donc aucune bande n'a été observée (figure 24, 25). Le tableau 6 regroupe les résultats parasitologique direct sur milieux de culture et moléculaires des 72 prélèvements effectués.

Tableau 6 : Résultats du diagnostic parasitologique et moléculaire des 72 chiens

Code	Région	Nom	Age	Sexe	Signes clinique	Frottis cutanée	Hémoculture	PCR
Lcan1/19	Alger	Liza	12 ans	Femelle	Lésion cutanée	Négatif	Négative	Négative
Lcan 2/20	Alger	Clar	18 mois	Male	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan 3/20	Alger	Alice	10 mois	Femelle	Lésion cutanée	Négatif	Négative	Négative
Lcan4/20	Alger	Chana	3 ans	Femelle	Lésion cutanée	Négatif	Négative	Négative
Lcan5/20	Alger	Lara	2 ans	Femelle	Lésion cutanée	Négatif	Négative	Négative
Lcan6/20	Alger	Yola	13 ans	Femelle	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan7/20	Alger	Toner	2.5 ans	Male	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan8/20	Alger	Cristal	10 ans	Femelle	Amaigrissement Lésion cutanée	Négatif	Négative	Négative
Lcan9/20	Alger	Tampo	9 ans	Male	Lésion cutanée	Négatif	Négative	Négative
Lcan10/20	Alger	Turbo	5 ans	Male	Lésion cutanée Amaigrissement	Négatif	Négative	Négative
Lcan11/20 Cas Lcan traité pendant 7 mois	Alger	Roxane	4 ans	Femelle		-	Négative	Négative
Lcan12/20	Alger	Diego	5 ans	Male	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan13/20	Alger	Ice	5 ans	Male	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan14/20	Alger	Rode	3 ans	Male	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan15/20	Alger	Escobar	8 ans	Male	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan16/20	Alger	Katti	9 mois	Femelle	Amaigrissement Lésion cutanée	Négatif	Négative	Négative
Lcan17/20	Alger	Soket	2 ans	Male	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan18/20	Alger	Panda	2 ans	Femelle	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan19/20	Alger	Volt	3 ans	Male	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan20/20	Alger	Lenox	4 ans	Male	Amaigrissement	-	Négative	Négative
Lcan21/20	Alger	Pedro	6 ans	Male	Amaigrissement, Lésion cutanée, Allongement des griffes	Positif	Positive	Positive
Lcan22/20	Alger	Vinette	2 ans	Femelle	Amaigrissement Dermatite Allongement des griffes	Positif	Positive	Positive
Lcan 23-72/20	M'sila	Chiens asymptomatique	Adulte	Mâle et femelle	Asymptomatique	-	Négative	Négative



Figure 24 : Résultat de l'électrophorèse sur gel d'agarose de la PCR ITS1 des isolats (photo Originale, 2020).

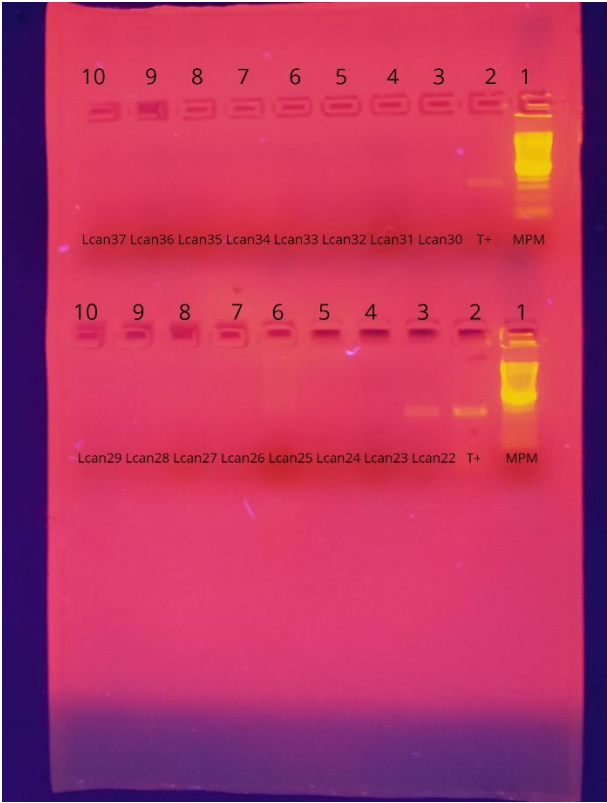


Figure 25 : Résultat de l'électrophorèse sur gel d'agarose de la PCR ITS1 des isolats (photo Originale, 2020).

6.Traitement des chiens malades et contrôle moléculaire

Sur la base du diagnostic moléculaire positif chez les deux cas canins LCan21/20 et LCan 22/20, un traitement à base de Glucantime/allopurinol (Zyloric) a été administré au chien LCan 21/20 et un collier anti-phlébotomes (Scalibor) lui a été placé. Ce dernier était dans un état cachectique, léthargique pesant seulement 30kg, avec des lésions cutanées au niveau de ses oreilles. Après un mois de traitement, le chien Pedro (LCan21/20) a perdu tout signe clinique d'une LCan. Une nette amélioration de l'état de santé et un comportement devenant à nouveau éveillé ont été remarqués. Ce chien a pesé après ce mois de traitement 40 kg (le poids idéal d'un berger allemand mâle adulte est de 40kg). Un deuxième contrôle par PCR-ITS1 a été réalisé pour vérifier la guérison du chien Pedro et le résultat du diagnostic était toujours positif.

Discussion

Notre étude a visé un dépistage épidémiologique moléculaire au niveau de 3 zones : Alger et Tizi-Ouzou connues par la présence des chiens canins infectés et M'sila qui n'a jamais enregistré jusqu'à ce jours la présence de la LCan. Malheureusement, la pandémie de la COVID 19, a beaucoup perturbé la réalisation de notre étude et le dépistage de la LCan dans la wilaya de Tizi-Ouzou a été reporté.

L'utilisation des cultures est utile non seulement pour confirmer le diagnostic mais aussi pour identifier l'agent causal. Dans notre étude aucune culture n'a montré la présence de *Leishmania* sur les 72 prélèvements. Il est à signalé qu'en Algérie, l'agent causal de la leishmaniose isolé chez le chien appartient au complexe *L. infantum* et plusieurs zymodèmes comme le MON-1, MON-24, MON-34, MON-77, MON-80 et le MON-269 ont été détectés chez le chien à ce jours (Belazoug et al., 1986 ; Harrat et al., 1996 ; Benikhlef et al., 2008 ; Ait-houdhia et al., 2011). La croissance de ces agents est très difficile dans les milieux de cultures et nécessite des repiquages successifs sur d'autres milieux comme le sérum de lapin coagulé additionnés avec le RPMI-1640 pour l'isolement du parasite (Jorge Alvar et al., 2004)). Ainsi, le diagnostic rapide par les outils moléculaires s'avère très indispensable dans les situations d'isolement difficiles par les milieux de cultures. Ces techniques permettent non seulement de détecter de très faibles quantités d'ADN protozoaire dans le matériel biologique, mais aussi permet de connaître l'espèce de *Leishmania* en cause et aide donc dans le traitement approprié (Aoun et al., 2012). Dans notre étude, nous avons utilisé la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) qui est aujourd'hui considéré comme un simple et valable outil moléculaire pour détecter le parasite *Leishmania* dans différents échantillons cliniques (Muller et al., 2003 ; Schönian et al. 2003).

La PCR ITS1 de l'ADN extrait à partir de la couche leucocytaire des 72 chiens recrutés au niveau de deux wilayas Alger au nord et M'sila au sud-est a révélé un diagnostic positif chez 2 chiens canins (LCan21/20 et LCan22/20), soit une fréquence de 2,78%. Les deux chiens malades étaient originaires du Nord dans la région humide de l'Algérie, connue comme zone endémique de la LVH (Belazzoug et al., 1986 ; Adel A et al., 2014). Par ailleurs, les chiens asymptomatiques recrutés étaient originaires de M'sila zone endémique de la LCZ. Le résultat de la PCR-ITS1 chez les 50 ADN extraits chez ces chiens étaient tous négatifs, ce qui

suggère que cette zone est indemne de la présence de la LCan. Selon une récente méta-analyse sur la LCan effectuée en Iran, sur un total de 19903 chiens testés en zone d'endémie 14 % des chiens infectés ne présentaient aucun signe clinique (asymptomatique), alors que 3% de chiens ayant une LCan présentaient des signes cliniques (**Shokri et al., 2017**). En revanche, sur les 22 chiens d'Alger, deux LCan ont représenté une fréquence de positivité de 9,09% sur l'ensemble des chiens du nord. Malgré le faible échantillonnage de notre étude, ce pourcentage apparaît cohérent et concorde avec ce qui a été rapporté par plusieurs auteurs. En effet, la LCan, se localise dans le même territoire que la LVH avec une prévalence qui varie d'une région à une autre. Sa fréquence est passée de 11,4% en 1977 (**Dedet et al., 1977**) à 15,19 % en 1987 (**Belazzoug, 1987**). Au cours d'une enquête réalisée dans l'Algérois en 1997, cette fréquence était plus élevée de l'ordre de 36,5 %, et parmi les chiens séropositifs, 25 % étaient asymptomatiques (**Belkaid M & Harrat Z, 1997**). **Solano-Gallego (2007)**, avait rapporté une séroprévalence plus faible de 6,3 % enregistrée dans les écorégions du nord-est de la Méditerranée (**Solano-Gallego et al., 2007**). Par ailleurs, en **2010, Adel** avait trouvé une prévalence de 11,7 % de LCan dans un groupe des chiens errants, suivi de 9,7 % de LCan chez les chiens de garde nationaux et 5,9% de LCan chez les chiens de ferme sur un ensemble de 462 chiens diagnostiqués. Plus récemment en 2015, **Adel** avait rapporté une estimation de la prévalence de la leishmaniose du chien de 11 à 38% dans six localités le long d'un axe ouest-est dans la zone littorale algérienne sur un ensemble de 2184 chiens testés (**Adel et al., 2015**).

Nos deux cas positifs sont originaires de deux villes côtières, avec un climat doux humide, avec une altitude relativement élevée (213m et 229m d'altitude moyenne pour la wilaya d'Alger et de Tizi-Ouzou respectivement), offrant ainsi des conditions favorables au développement de *Phlebotomus perniciosus* et *P. perfiliewi* deux espèces incriminées dans la transmission de *L. infantum* du nord de l'Algérie (**Harrat,1995**). En effet, *Phlebotomus perniciosus*, a été trouvée avec un taux de 15% en Afrique du Nord (**Izri et al., 1992**). Cette espèce est incriminée dans le cycle de transmission de la LVH en Algérie (**Harrat,1995**). Par ailleurs, lors de l'inventaire de **Bouizeri & Fali (2018)**, *P. perfiliewi* était majoritaire dans la zone de Tizi-Ouzou avec un taux de 48,15%. Il s'agit d'une espèce qui s'installe vers la fin du mois de juillet et qui est incriminée dans la LCS.

D'après notre étude, malgré que les chiens n'étaient pas atteints de la LCan chez 87.5%, le signe clinique le plus observé était l'amaigrissement chez 72.73% des chiens. Ce signe clinique est probablement dû à la mauvaise prise en charge, la malnutrition et à l'absence des soins corporels (toilette, vermifuge) des propriétaires. La présence de lésion cutanée retrouvée non-amputable à la leishmaniose chez 80% des chiens confirme aussi la mauvaise prise en charge des chiens. Il est à signaler aussi que certaines races comme le Berger allemand et le Boxer semblent être plus prédisposées que d'autres à la maladie (**Abranches et al., 1999 ; Sanchez-Robert et al., 2005**), ce qui concorde avec nos résultats. En effet, les deux cas canins (LCan21/20 et LCan22/20) étaient des bergers allemands. De plus, une prédilection sexuelle peut exister (**Brandonisio et al., 1992 ; Fisa et al., 1999**). Les mâles auraient un risque plus élevé que les femelles pour développer la leishmaniose. Chez les deux cas de LCan de notre étude les deux sexes ont été infectés (50% mâles, 50% femelle). Les chiens peuvent être infectés à tout âge, mais la prévalence de l'infection dans certaines tranches d'âge a une distribution bimodale, avec un premier pic chez les chiens < 3 ans et un second chez les chiens de 8 à 10 ans (**Alvar et al., 2004**). Dans notre série, un des deux chiens positifs était âgé de 2 ans, alors que l'autre était âgé de 6 ans, concordant approximativement aux données sus citées.

En Algérie, notamment dans l'agglomération d'Alger, les chiens souffrant de leishmaniose ne sont généralement pas traités (**Eddaikra et al., 2018**). Les composés antimoniaux pentavalents (SbV) développés au cours de la première moitié du siècle dernier sont les médicaments les plus utilisés pour le traitement de la LCan (**Adler et Tchernomoretz, 1946**). La plupart des études sur les chiens ont révélé que le médicament (l'antimoniote de méglumine) a une bonne efficacité clinique. Au cours de la dernière décennie, des médicaments alternatifs tels que l'allopurinol (**Koutinas et al., 2001 ; Saridomichelakis et al., 2005**) est devenu une arme thérapeutique efficace contre la LCan. Les résultats des différentes études ont confirmé l'efficacité de l'allopurinol dans le traitement de la leishmaniose canine avec une baisse de l'infection des phlébotomes nourris sur les chiens malades traités (**Baneth et al., 2001**). Il apparaît que les rechutes avec l'allopurinol sont moins fréquentes comparativement au traitement par le N-méthyl glucamine seul ; cependant l'association des deux médicaments semble donner de meilleurs résultats (**Denerolle et Bourdoiseau, 1999**). En effet, cette molécule a été utilisée chez le chien Pedro

(LCan21/20) qui a donné de bons résultats sur le plan clinique, malgré la présence de l'ADN de *Leishmania* lors du deuxième contrôle par PCR-ITS1 à un mois après le traitement. Pendant le traitement, l'amélioration clinique est généralement observée après une période d'une semaine ou plus (**Amusategui et al., 1998**). Plusieurs auteurs ont décrit que le traitement à l'antimoniote de méglumine n'entraîne pas l'élimination totale des organismes de *Leishmania* chez les chiens infectés (**Ikeda-Garcia et al., 2007 ; Oliva et al., 1998**). En effet, les rechutes cliniques surviennent généralement après un traitement sur une période allant de quelques mois à 1 ou 2 ans et sont plus fréquentes lorsque la durée du traitement est inférieure à 4 semaines.

En Algérie, les vétérinaires administrent un protocole thérapeutique adéquat mais ce dernier n'est pas respecté voire non-appliqué par les différents propriétaires de chiens vu la cherté et la longue durée du traitement, ainsi que la cherté des produits anti-phlébotomes (collier Scalibor), sans oublier le temps nécessaire à l'application de tous les moyens thérapeutiques et le faible niveau socio-économique de la plus part des propriétaires, obligeant certains vétérinaires traitants à pratiquer l'euthanasie. Au fil des années, des millions de chiens ont été tués dans le cadre des politiques gouvernementales visant à contrôler la LVH (**Dantas-Torres et al., 2019**). Les politiques nationales de santé publique des pays d'Asie centrale, du Caucase et de certains pays des Balkans recommandent toujours l'abattage de tout chien porteur de *L. infantum* (**Alvar et al., 2012**). Dans les zones rurales de Chine, des pays du Maghreb (Afrique du Nord) et de certaines parties du Moyen-Orient, l'abattage des chiens reste une pratique courante, bien que la thérapie médicale soit généralement autorisée pour les chiens qui appartiennent à des propriétaires. Par ailleurs et au cours des 20 dernières années, une masse de preuves scientifiques s'est accumulée dans le monde entier et selon différents scénarios écologiques qui démontrent l'échec de l'abattage des chiens comme stratégie de contrôle, notamment au Brésil (**Dantas-Torres et al., 2019 ; Costa CH, 2011**). Une stratégie d'abattage des chiens n'est pas soutenable pour plusieurs raisons. Premièrement, aucun ensemble de preuves scientifiques fiables ne soutient l'efficacité de l'abattage des chiens comme moyen de réduire l'incidence de la LVH (**Romero et al., 2015**). Deuxièmement, d'autres hôtes réservoirs peuvent jouer un rôle dans le maintien du cycle de vie de *L. infantum* ; et doivent être pris en considération lors de la formulation d'une stratégie de lutte intégrée (**Ferreira et al., 2018 ; Maia C et al., 2018**). Troisièmement, les

chiens abattus sont rapidement remplacés par de jeunes chiens qui sont souvent plus sensibles aux infections primaires **(Nunes et al., 2010)**. Quatrièmement, les outils de diagnostic sérologique souvent utilisés pour le dépistage des chiens dans le cadre d'un programme d'abattage ont des limites en termes de sensibilité et de spécificité et des réactions croisées en présence d'autres protozoaires a été remarqué **(Silva et al., 2011 ; Travi et al., 2018)**. Cinquièmement, l'abattage des chiens n'est pas une alternative rentable et valable d'un point de vue socio-économique pour les institutions gouvernementales, en particulier dans les pays en développement, qui promettent une solution à long terme au problème **(Costa, 2011)**. Enfin, le contrôle efficace de la transmission de *L. infantum* nécessite des approches intégrées qui se concentrent non seulement sur le chien comme source indirecte, mais aussi sur le parasite et, surtout, sur le phlébotome vecteur **(Gálvez et al., 2018)**.

Conclusion

La leishmaniose canine (Lcan) causée par *L. infantum* est une zoonose grave qui touche des millions de chiens, aussi bien dans le monde qu'en Algérie. Dans notre pays, le parasite *L. infantum* est associé à diverses manifestations cliniques et éco-épidémiologiques. Elles sont réparties sur les zones bioclimatiques humides et sub-humides du littoral.

Le diagnostic parasitologique et/ou moléculaire, l'isolement du parasite dans les milieux de cultures, sont des outils indispensables dans l'analyse et la compréhension de l'épidémiologie des leishmanioses dans notre pays. Malgré le nombre réduit des prélèvements obtenus durant notre étude (Décembre 2019 et Septembre 2020), une fréquence de positivité de 9,09% sur l'ensemble des chiens du nord a été détecté. Par ailleurs, l'étude du dépistage moléculaire par PCR- ITS1 chez les chiens asymptomatiques d'une zone endémique de LCZ été infructueuse.

Le traitement de la LCan par le N-méthyl Glucamine associé à l'allopurinol chez un des deux chiens trouvés malades (LCan 21/20) a donné de bons résultats sur le plan clinique, mais nécessitant un suivi plus prolongé chez une population d'étude plus représentatif. En revanche l'utilisation d'insecticide répulsif est un bon moyen de prévention contre la maladie. Il permet non seulement de protéger les chiens contre les phlébotomes infectés, mais aussi de réduire la présence de ces vecteurs à proximité des humains, ce qui peut entraîner une réduction des infections humaines et de l'incidence clinique de la LVH.

A travers notre étude, les enquêtes épidémiologiques détaillées axées sur les facteurs liés à l'hôte, à l'agent et à l'environnement sont recommandées afin d'identifier les facteurs de risque associés à la transmission et au maintien de ces zoonoses à médiation par les chiens. Une communication ouverte et l'intégration des systèmes de surveillance et de suivi, tant pour les humains que pour les animaux, sont bénéfiques pour : assurer une meilleure compréhension, décrire les caractéristiques démographiques des populations de chiens et des animaux errants, veiller à ce qu'il y ait au moins un refuge pour animaux par commune, faire respecter le caractère obligatoire de la vaccination contre la rage et des colliers antiparasitaires pour les carnivores, renforcer les opérations de lutte contre le phlébotome pour combattre la leishmaniose, encourager les citoyens à jouer un rôle actif dans la prévention par l'éducation à la santé et enfin la sensibilisation et l'information du public

restent des éléments essentiels pour le succès des campagnes et l'éradication de ces maladies zoonotiques à médiation canine.

References bibliographiques

A

Assimina et al., 2008 Assimina Z, Charilaos K, Fotoula B. Leishmaniasis: an overlooked public health concern. Health Science Journal. 2008;2(4):196-205

(<http://www.hsj.gr/volume2/issue4/3Leishmaniasis196-205.pdf>).

Akhoundi et al., 2016 Akhoundi M., Kuhls K., Cannet A, VotyÁpka J, Marty P, Delaunay P, Sereno D. (2016): A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. PLoS Negl Trop Dis. 10(3).

Aït-Oudhia et al., 2011 : Ait-Oudhia, K., Harrat, Z., Benikhlef, R., Dedet, J. P., Pratlong, F. (2011). Canine Leishmania infantum enzymatic polymorphism: a review including 1023 strains of the Mediterranean area, with special reference to Algeria. Acta tropica, 118(2), 80-86.

Ashford RW 2000 Ashford RW (2000) Theleishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. Int JParasitol 30: 1269-1281

Akhoundi et al., 2016 Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, VotyÁpka J, Marty P, et al. (2016) A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of Leishmania parasites and sandflies. PLoSNegl Trop Dis 10: e0004349.

Abranches et al., 1991 Abranches P, Silva-Pereira MCD, Conceição-Silva F, et al. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. J Parasitol 1991;77:557–561.

Alvar et al., 2004 Alvar J, Cañavate C, Molina R, et al. Canine leishmaniasis. Adv Parasitol 2004;57:1–88

Ashford et al., 1995 Ashford DA, Bozza M, Freire M, et al. Comparison of the polymerase chain reaction and serology for the detection of canine visceral leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 1995; 53:251–255

Alvar J, Molina R, San Andrés M, et al.1994 Alvar, J., Molina, R., San Andrés, M., Tesouro, M., Nieto, J., Vitutia, M., ... Escacena, C. (1994). *Canine leishmaniasis: clinical, parasitological and entomological follow-up after chemotherapy. Annals of Tropical Medicine & Parasitology, 88(4), 371–378.* doi:10.1080/00034983.1994.11812879

Aoun et al., 2008 Aoun, K., Amri, F., Chouihi, E., Haouas, N., Bedoui, K., Benikhlef, R., Ghrab, J., Babba, H., Chahed, M.K., Harrat, Z., Bouratbine, A., 2008. Epidemiology of Leishmania (L.) infantum, L. major and L. killicki in Tunisia: results and analysis of the

identification of 226 human and canine isolates. Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique 101, 323–328

Aoun et al., 2012 Aoun, K., Ben Abda, I., Bousslimi, N., Bettaieb, J., Siala, E., Ben Abdellah, R., Benmously, R., Bouratbine, A., 2012. Caractérisation comparative des trois formes de leishmaniose cutanée endémiques en Tunisie. Ann. Dermatol. Venereol. 139, 452–458.

Adel A et al., 2014 Adel, A., Boughoufalah, A., Saegerman, C., De Deken, R., Bouchene, Z., Soukehal, A., ... Boelaert, M. (2014). *Epidemiology of Visceral Leishmaniasis in Algeria: An Update. PLoS ONE, 9(6), e99207.* doi:10.1371/journal.pone.0099207

amel adel 2015 Sandflies (Phlebotomus spp.), the vectors of *L. infantum* in the mediterranean basin, are active during the warmer months of the year [54]. The present study thus involved sampling during two periods, one before the main vector season and one after

Abranches et al., 1999 Abranches P, Silva-Pereira MCD, Conceição-Silva F, et al. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. J Parasitol 1991;77:557–561

Alvar et al., 2004 Alvar J, Cañavate C, Molina R, et al. Canine leishmaniasis. Adv Parasitol 2004;57:1–88.

Adler et Tchernomoretz, 1946 Failure to cure natural canine visceral leishmaniasis . S ADLER, I TCHERNOMORETZ PMID: 20289231

DOI: 10.1080/00034983.1946.11685288

Amusategui et al., 1998 Amusategui I, Sainz A, Tesouro MA. Effects of antimonial therapy for canine leishmaniasis on antibody titer. Ann N Y Acad Sci 1998;849:444–446

Alvar et al., 2012 Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al.; WHO Leishmaniasis Control Team. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS One. 2012;7:e35671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>

B

Belazzoug S. (1982). Une épidémie de leishmaniose cutanée dans la région de M'SILA (ALGERIE). Bull. Soc.Path. Ex, 75: 497-504. & Belazzoug S. (1983). Le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de M'sila (Algérie), infestation naturelle de "Psammomys obesus" (rongeur, gerbillide). Bull Soc Pathol Exot, 76 : 146-9.

Belazzoug S. (1984). La leishmaniose en Algérie à travers l'identification isoenzymatique des souches. Coll Inter Tax Phy des Leishmania, Montpellier, 397-400.

Belazzoug S. (1985). Épidémiologie des leishmanioses en Algérie : Etude des réservoirs. Analyse chimiotaxonomique des parasites. Thèse de Doctorat en Sciences médicales.

Belazzoug S. (1986). Découverte d'un *Meriones shawi* (Rongeur, gerbillide) naturellement infesté par *Leishmania* dans le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de Ksar chellala (Algérie). Bull Soc Pathol Exot, 79 : 630-3.

Belazzoug S. 1987. La leishmaniose canine en Algérie. Magh Veter, 3: (13): 11-3. &

Belazzoug S., 1985 Ammar-Khodja A., Belkaid M. et Tabet-Derraz O. (1985). La leishmaniose cutanée du nord de l'Algérie. Bull. Soc. Path. Ex.; 78 :615-22.

Benikhlef et al., 2004 Benikhlef R, Harrat Z, Toudjine M, Djerbouh A, Bendali-Braham S, Belkaid M. Présence de *Leishmania infantum* Mon-24 chez le chien. Med Trop 2004;64; 4:381-3.

Benikhlef et al., 2008 : Epidemiology of *Leishmania* (*L.*) *infantum*, *L. major* and *L. killicki* in Tunisia: results and analysis of the identification of 226 human and canine isolates ; PMID: 18956815 ; DOI: 10.3185/pathexo3201

Bates and Rogers, 2004 : Rogers, M. E., Ilg, T., Nikolaev, A. V., Ferguson, M. A. J., & Bates, P. A. (2004). *Transmission of cutaneous leishmaniasis by sand flies is enhanced by regurgitation of fPPG. Nature, 430(6998), 463–467. doi:10.1038/nature02675*

Bates PA., 2007 Bates PA (2007) Transmission of leishmaniametacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. Elsevier Int J Parasitol 37: 1097-1106

Bashaye et al., 2009 Bashaye S, Nombela N, Argaw D, Mulugeta A, Herrero M, et al. (2009) Risk factors for visceral leishmaniasis in a new epidemic site in Amhara Region, Ethiopia. Am J Trop Med Hyg 81: 34-39

Berzunza-Cruz et al., 2015 Berzunza-Cruz M, Rodríguez-Moreno Á, Gutiérrez-Granados G, González-Salazar C, Stephens CR, et al. (2015) *Leishmania* (*L.*) *mexicana* infected bats in Mexico: Novel potential reservoirs. PLoSNegl Trop Dis 9: e0003438

Boudrissa et al., 2012 Boudrissa A, Cherif K, Kherrachi, I et al. (2012). Spread of *Leishmania major* to the north of Algeria. Bull. Soc. Pathol. Exot, 105(1): 30-5.

Bachi et al., 2019 Epidemiology of Cutaneous Leishmaniasis in Algeria through Molecular Characterization PMID: 31825568 DOI: 10.3166/bspe-2019-0087

Belkaid et al., 1997 Belkaid M, Harrat Z. La leishmaniose en Algérie. Mise au point. Rev Med Phar 1997:43-6.

Belkaid M, Harrat Z. 1997. La leishmaniose en Algérie. Mise au point. Rev Med Phar:43-6

Bessad A et al. 2012 Bessad, A., Mouloua, K., Kherrachi, I., Benbetka, S., Benikhlef, R., Mezai, G., & Harrat, Z. (2011). *Leishmania infantum* MON-1 isolé d'un chacal doré (*Canis*

aureus) en Grande Kabylie (Algérie). *Bulletin de La Société de Pathologie Exotique*, 105(1), 5–7. doi:10.1007/s13149-011-0182-4

Bonfanti et al., 2004 Bonfanti U, Zini E, Minetti E, et al. A. Free light-chain proteinuria and normal renal histopathology and function in 11 dogs exposed to *Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis*, and *Babesia canis*. *J Vet Intern Med* 2004;18:618–624

Brachelente et al., 2005 Brachelente, C., Müller, N., Doherr, M. G., Sattler, U., & Welle, M. (2005). *Cutaneous Leishmaniasis in Naturally Infected Dogs is Associated with a T Helper-2-biased Immune Response*. *Veterinary Pathology*, 42(2), 166–175. doi:10.1354/vp.42-2-166

Brandonisio O et al., 1992 Brandonisio O, Carelli G, Ceci L, et al. Canine leishmaniasis in the Gargano promontory (Apulia, South Italy). *Eur J Epidemiol* 1992;8:273–276

Bouizeri & Fali 2018 Étude du microbiote intestinal des phlébotomes de la région de Tizi-Ouzou . Fali, Dihya .Bouizeri, Youssra . <https://dl.ummtto.dz/handle/ummtto/9686>

Baneth et al., 2001 BANETH G., HOFFMAN O., JAFFE C.L., STRAUS D., SCHNUR L.F., SANDLER B., SEKELES E., EISENBERGER C.L., JACOBSON R.L., WARBURG A. Allopurinol treatment diminishes the infectivity of dogs with canine leishmaniasis to *Lutzomyia longipalpis* sand flies. *Isr. J. Vet. Med.*, 2001, 56, 28-33.

C

CAMBILLET, 1909 Cambillet,- (1909). Un cas de Bouton d’Orient ?t Flatters (Alger). *Bulletin de la Soci& de Pathologic Exotique*, 2,388-390.

Campino L, Maia C.2013 : The role of reservoirs: canine leishmaniasis. In A. Ponte-Sucre, E. Diaz, & M. Padrón-Nieves (Eds.), *Drug Resistance in Leishmania Parasites*

Ciaramella P, Oliva G, Luna RD, et al. 1997 Ciaramella P, Oliva G, Luna RD, et al. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet Rec* 1997;141:539–543

Chamizo et al., 2005 Chamizo, C., Moreno, J., & Alvar, J. (2005). *Semi-quantitative analysis of cytokine expression in asymptomatic canine leishmaniasis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 103(1-2), 67–75. doi:10.1016/j.vetimm.2004.08.010

Ciaramella et al., 1997 Ciaramella P, Oliva G, Luna RD, et al. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet Rec* 1997;141:539–543

Cortadellas, 2003 Cortadellas O. Initial and long-term efficacy of a lipid emulsion of amphotericin B desoxycholate in the management of canine leishmaniasis. *J Vet Intern Med* 2003;17:808–812

Costa CH, 2011 Costa CH. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44:232–42. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822011005000014>

Chappuis F et al., 2007 Chappuis F, Sundar S, Hailu A, Ghalib H, Rijal S, et al. (2007) Visceral leishmaniasis: What are the needs for diagnosis, treatment and control? *Nat Rev Microbiol* 5: 873-882

D

Dereure et al., 1999 : Réservoirs de leishmanies In: Dedet J. P. Les leishmanioses. Paris. Ed. Ellipses Marketing, 109-130,

Dantas Torres, 2007 : Dantas-Torres, F. (2007). *The role of dogs as reservoirs of Leishmania parasites, with emphasis on Leishmania (Leishmania) infantum and Leishmania (Viannia) braziliensis.* *Veterinary Parasitology*, 149(3-4), 139–146. doi:10.1016/j.vetpar.2007.07.007

Dereure et al., 2000 Dereure J, Boni M, Pratlong F, El Hadi Osman M, Bucheton B, et al. (2000) Visceral leishmaniasis in Sudan: First identifications of *Leishmania* from dogs. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 94:154-155

De Lima et al., 2008 De Lima H, Rodriguez N, Barrios MA, Avila A, Canizales I, et al. (2008) Isolation and molecular identification of *Leishmania chagasi* from a bat (*Carollia perspicillata*) in northeastern Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 412-414

Dedet et al., 1977 Epidemiology of leishmaniasis in Algeria. 7. Visceral leishmaniasis in the Grande Kabylie focus . J P Dedet, K Addadi, B Lannuzel PMID: 580909

Denerolle et Bourdoiseau, 1999 DENEROLLE P., BOURDOISEAU G. Combination allopurinol and antimony treatment versus antimony alone and allopurinol alone in the treatment of canine leishmaniasis. *J. Vet. Int. Med.*, 1999, 13, 413-415.

Dantas-Torres et al., .2019 Dantas-Torres, F., Miró, G., Baneth, G., Bourdeau, P., Breitschwerdt, E., Capelli, G., ... Otranto, D. (2019). *Canine Leishmaniasis Control in Context of One Health.* *Emerging Infectious Diseases*, 25(12). doi:10.3201/eid2512.190164

Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD 2000 Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD (2000) Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Trop* 78: 103-116

E

Eddaikra et al., 2018 Eddaikra, N., Ait-Oudhia, K., Kherrachi, I., Oury, B., Moulti-Mati, F., Benikhlef, R., ... Sereno, D. (2018). *Antimony susceptibility of Leishmania isolates collected over a 30-year period in Algeria*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *12*(3), e0006310. doi:10.1371/journal.pntd.0006310

Engwerda CR, Ato M, Kaye PM. 2008 Engwerda CR, Ato M, Kaye PM. Macrophages, pathology and parasite persistence in experimental visceral leishmaniasis. *Trends Parasitol.* 2004;20(11):524–30

F

Ferreira et al., 2018 Ferreira GR, Castelo Branco Ribeiro JC, Meneses Filho A, de Jesus Cardoso Farias Pereira T, Parente DM, Pereira HF, et al. Human competence to transmit *Leishmania infantum* to *Lutzomyia longipalpis* and the influence of human immunodeficiency virus infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2018;98:126–33. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0883>

Fisa et al., 1999 Fisa R, Gállego M, Castillejo S, et al. Epidemiology of canine leishmaniasis in Catalonia (Spain) the example of the Priorat focus. *Vet Parasitol* 1999;83:87–97

Fraga et al., 2010 Fraga J, Montalvo AM, De Doncker S, Dujardin JC, Van der Auwera G: Phylogeny of *Leishmania* species based on the heat-shock protein 70 gene. *Infect Genet Evol.* 2010, 10 (2): 238-245. 10.1016/j.meegid.2009.11.007

G

Gebre-Michael et al., 2004 Gebre-Michael, T., Balkew, M., Ali, A., Ludovisi, A., & Gramiccia, M. (2004). *The isolation of Leishmania tropica and L. aethiopica from Phlebotomus (Paraphlebotomus) species (Diptera: Psychodidae) in the Awash Valley, northeastern Ethiopia*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *98*(1), 64–70. doi:10.1016/s0035-9203(03)00008-7

Gradoni, 2002 Gradoni L. The diagnosis of canine leishmaniasis, in Proceedings. 2nd Int Canine Leishmaniasis Forum 2002;7–14

Gradoni et al., 2003 Gradoni L, Gramiccia M, Scalone A. Visceral leishmaniasis treatment, Italy. *Emerg Infect Dis* 2003;9:1617–1620

Gradoni L, Maroli M, Gramiccia M, et al.1987 GRADONI, L., MAROLI, M., GRAMICCIA, M., & MANCIANTP, F. (1987). *Leishmania infantum* infection rates in *Phlebotomus perniciosus* fed on naturally infected dogs under antimonial treatment. *Medical and Veterinary Entomology*, *1*(4), 339–342. doi:10.1111/j.1365-2915.1987.tb00364.x

Gálvez et al., 2018 Gálvez R, Montoya A, Fontal F, Martínez De Murguía L, Miró G. Controlling phlebotomine sand flies to prevent canine Leishmania infantum infection: a case of knowing your enemy. Res Vet Sci. 2018;121:94–103.

H

Harrat,1995 Z Harrat 1, B Hamrioui, M Belkaid, O Tabet-Derraz . Current point of leishmaniasis epidemiology in Algeria . PMID: 8640081

Harrat et al., 1996 Harrat, Z., Pratlong, F., Belazzoug, S., Dereure, J., Deniau, M., Rioux, J. A., ... Dedet, J. P. (1996). *Leishmania infantum* and *L. major* in Algeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 90(6), 625–629. doi:10.1016/s0035-9203(96)90410-1

Hotez et al., 2006 : Hotez P.J., Molyneux, D.H., Fenwick A., Ottesen E., Sachs S.E., Sachs J.D., (2006). Incorporating a rapid-impact package for neglected tropical diseases with programs for HIV/AIDS, Tuberculosis and Malaria. Plos Med, 3 (5) : 576–584

Handman, 2001 Handman E. Leishmaniasis: current status of vaccine development. Clin Microbiol Rev 2001; 14:229-43.

I

Ikeda-Garcia et al., 2007 Ikeda-Garcia FA, Lopes RS, Marques FJ, et al. Clinical and parasitological evaluation of dogs naturally infected by Leishmania (Leishmania) chagasi submitted to treatment with meglumine antimoniate. Vet Parasitol 2007;143:254–259

K

Koutinas et al., 2001 Koutinas, A. F., Saridomichelakis, M. N., Mylonakis, M. E., Leontides, L., Polizopoulou, Z., Billinis, C., ... Papadopoulos, O. (2001). *A randomised, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniosis. Veterinary Parasitology*, 98(4), 247–261. doi:10.1016/s0304-4017(01)00399-5

Killick-Kendrick, 1999 Killicki-kendrick R., Killicki-kendrick M. (1999). Biology of sand fly vectors of Mediterranean canine leishmaniasis. Canine leishmaniasis an update. p26-32

Killick-Kendrick et al., 1997 KILLICK-KENDRICK, R., KILLICK-KENDRICK, M., FOCHEUX, C., DEREURE, J., PUECH, M.-P., & CADIERGUES, M. C. (1997). *Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. Medical and Veterinary Entomology*, 11(2), 105–111. doi:10.1111/j.1365-2915.1997.tb00298.x

Koutinas AF, Polizopoulou ZS, Saridomichelakis MN, et al. 1999 Koutinas AF, Polizopoulou ZS, Saridomichelakis MN, et al. Clinical consideration on canine leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989–1996). J Am Anim Hosp Assoc 1999;35:376–383

Killick-Kendrick, 1999 : Killick-Kendrick, R. (1999a). The biology and control of phlebotomine sandflies. *Clinics in Dermatology* 17, 279–289. Killick-Kendrick, R. (1999b). Anti-feeding effects of synthetic pyrethroids against phlebotomine sand flies and mosquitoes and the prospects of controlling canine leishmaniasis with deltamethrin-impregnated ProtectorBands (Scalibor). In: *Canine Leishmaniasis: an update* (R. Killick-Kendrick, ed.), pp. 82–88. Barcelona: Hoechst Roussel Vet.

Kassahun et al., 2015 Kassahun A, Sadlova J, Benda P, Kostalova T, Warburg A, et al. (2015) Natural infection of bats with *Leishmania* in Ethiopia. *Acta Trop* 150: 166-170

L

Lemma et al., 2017 Lemma W, Bizuneh A, Tekie H, Belay H, Wondimu H, et al. (2017) Preliminary study on investigation of zoonotic visceral leishmaniasis in endemic foci of Ethiopia by detecting *Leishmania* infections in rodents. *Asian Pac J Trop Med* 10: 418-422

Leontides et al., 2002 Leontides LS, Saridomichelakis MN, Billinis C, et al. A cross-sectional study of *Leishmania* spp. infection in clinically healthy dogs with polymerase chain reaction and serology in Greece. *Vet Parasitol* 2002;109:19–27

Lamothe, 2001 Lamothe J. Activity of amphotericin B in lipid emulsion in the initial treatment of canine leishmaniasis. *J Small Anim Pract* 2001;42:170–175

Lewis et al. (1977) Lewis D. J., Young D. G., Fairchild G. B. et Minter D. M. (1977). Proposals for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). *Syst. Ent.* 2, 319-332.

Leng, 1987 Leng, Y. J. (1987). A preliminary survey of phlebotomine sandflies in limestone caves of Sichuan and Guizhou provinces, south–west China, and description and discussion of a primitive new genus *Chinius*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 81, 311– 317

M

Maia C et al., 2018 Maia C, Dantas-Torres F, Campino L. Parasite biology: the reservoir hosts. In: Bruschi F, Gradoni L. editors. *The leishmaniases: old neglected tropical diseases*. Cham (Switzerland): Springer International Publishing AG; 2018. p 79–106.

Muller et al., 2003 Müller, N., V. Zimmermann, U. Forster, M. Bienz, B. Gottstein, and M. Welle. 2003. PCR-based detection of canine *Leishmania* infections in formalin-fixed and paraffin-embedded skin biopsies: elaboration of a protocol for quality assessment of the diagnostic amplification reaction. *Vet. Parasitol.* 114:223–229.

Miró et al.2017 Mirò G, Gàlvez R, Mateo M, et al. Evaluation of the efficacy of a topically administered combination of imidacloprid and permethrin against *Phlebotomus perniciosus* in dog. *Vet Parasitol* 2007;143:375–379

Michele Maroli.2010 Maroli, M., Gradoni, L., Oliva, G., Castagnaro, M., Crotti, A., Lubas, G., ... Zatelli, A. (2010). *Guidelines for prevention of leishmaniasis in dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(11), 1200–1206. doi:10.2460/javma.236.11.1200

Martínez-Subiela et al., 2002 Martínez-Subiela S, Tecles F, Eckersall PD, et al. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. *Vet Rec* 2002;150:241–244

N

Nicolle, 1908 Nicolle, C., Comte, C., 1908. Origine canine du kala-azar. *Bull Soc Pathol Exot.* 1, 299-301.

NOAA ;1990 National Oceanic and Atmospheric Administration

Nunes et al., 2010 Nunes CM, Pires MM, da Silva KM, Assis FD, Gonçalves Filho J, Perri SH. Relationship between dog culling and incidence of human visceral leishmaniasis in an endemic area. *Vet Parasitol.* 2010;170:131–3.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.01.044>

O

Oliva et al., 1998 Oliva G, Gradoni L, Cortese L, et al. Comparative efficacy of meglumine antimoniate and aminosidine sulphate, alone or in combination, in canine leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol* 1998;92:165–171

OMS 2010 Rapport de la réunion du comité OMS d'experts de la lutte contre les leishmanioses. Genève. 22-26

P

Pinelli E et al., 1994 Pinelli E, Killick-Kendrick R, Wagenaar J, Bernadina W, del Real G, Ruitenber J 1994. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. *Infect Immun* 62: 229-235

Pennisi et al.2005 Pennisi MG, Reale S, Giudice SL, et al. Real-time PCR in dogs treated for leishmaniasis with allopurinol. *Vet Res Commun* 2005;29(suppl 2):301–303

Plevraki et al., 2006 Plevraki K, Koutinas AF, Kaldrymidou H, et al. Effects of allopurinol treatment on the progression of chronic nephritis in Canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*). *J Vet Intern Med* 2006;20:228–233

Q

Quinnell et al., 2009 QUINNELL, R. J., & COURTENAY, O. (2009). *Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. Parasitology, 136(14), 1915.* doi:10.1017/s0031182009991156

R

Rohousova et al., 2015 Rohousova I, Talmi-Frank D, Kostalova T, Polanska N, Lestinova T, et al. (2015) Exposure to *Leishmania* spp. and sand flies in domestic animals in northwestern Ethiopia. *Parasit Vectors* 8: 360

Reithinger, R., et al. 2007 Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7:581-96.

Rosypal et al., 2005 . Rosypal AC, Gogal RM Jr, Zajac AM, et al. Flow cytometric analysis of cellular immune responses in dogs experimentally infected with a North American isolate of *Leishmania infantum*. *Vet Parasitol* 2005;131:45–51.

Romero et al., 2015 Romero GA, Boelaert M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America—a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4:e584. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000584>

Ready, 2013 Epidemiology of visceral leishmaniasis Paul D Ready *Clin Epidemiol.* 2014; 6: 147–154. Published online 2014 May 3. doi: 10.2147/CLEP.S44267 PMID: PMC4014360

S

Silva et al., 2011 Silva DA, Madeira MF, Teixeira AC, de Souza CM, Figueiredo FB. Laboratory tests performed on *Leishmania* seroreactive dogs euthanized by the leishmaniasis control program. *Vet Parasitol.* 2011;179:257–61. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.01.048>

Saridomichelakis et al., 2005 Saridomichelakis, M. N., Mylonakis, M. E., Leontides, L. S., Billinis, C., Koutinas, A. F., Galatos, A. D., ... Kontos, V. I. (2005). *Periodic administration of allopurinol is not effective for the prevention of canine leishmaniasis (Leishmania infantum) in the endemic areas. Veterinary Parasitology, 130(3-4), 199–205.* doi:10.1016/j.vetpar.2005.04.013

Sanchez-Robert et al., 2005 Sanchez-Robert E, Altet L, Sanchez A, et al. Polymorphism of *Slc11 a1 (Nramp1)* gene and canine leishmaniasis in a case-control study. *J Hered* 2005;96:755–758

Solano-Gallego L, Riera C, Roura X, et al.2001 Solano-Gallego L, Riera C, Roura X, et al. Leishmania infantum-specific IgG, IgG1 and IgG2 antibody responses in healthy and ill dogs from endemic areas. Evolution in the course of infection and after treatment. *Vet Parasitol* 2001;96:265–276

Solano-Gallego (2007) CROSS-SECTIONAL SEROSURVEY OF FELINE LEISHMANIASIS IN ECOREGIONS AROUND THE NORTHWESTERN MEDITERRANEAN. LAIA SOLANO-GALLEGO¹, ALHELÍ RODRÍGUEZ-CORTÉS¹, LAURA INIESTA¹, JOSEFINA QUINTANA¹, JOSEPH PASTOR¹, YVONNE ESPADA¹, MONTSERRAT PORTÚS¹, JORDI ALBEROLA¹,* Source: [The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene](#), Volume 76, Issue 4, 1 Apr 2007, p. 676 – 680
DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2007.76.676>

Solano-Gallego et al., 2009 Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., ... Baneth, G. (2009). *Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. Veterinary Parasitology*, 165(1-2), 1–18. doi:10.1016/j.vetpar.2009.05.022

Shokri et al., 2017 Shokri, A., Fakhar, M., & Teshnizi, S. H. (2017). Canine visceral leishmaniasis in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Acta Tropica*, 165, 76–89. doi:10.1016/j.actatropica.2016.08.020

Schönian et al., 2003 : Schönian G., Nasereddin A., Dinse N., SchwEynoch C., Schallig H., Presher W Julie CL (2003). PCR diagnosis and characterization of Leishmania in local and imported in samples. *Diagnostic Microbiol. Infect. Dis.*, 47349358

Schönian 2008 Schönian, G., Mauricio, I., Gramiccia, M., Cañavate, C., Boelaert, M., & Dujardin, J.-C. (2008). *Leishmaniases in the Mediterranean in the era of molecular epidemiology. Trends in Parasitology*, 24(3), 135–142. doi:10.1016/j.pt.2007.12.006

Solano-Gallego et al.2017 Solano-Gallego L, Koutinas A, Mirò G, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol* 2009;165:1–18

Sasanelli et al., 2007 Sasanelli M, Paradies P, de Caprariis D, et al. Acute-phase proteins in dogs naturally infected with Leishmania infantum during and after long-term therapy with allopurinol. *Vet Res Commun* 2007;31(suppl 1):335–338

Slappendel, 1988 Slappendel RJ. Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in The Netherlands. *Vet Q* 1988;10:1–16

Solano-Gallego et al.2001 Solano-Gallego L, Riera C, Roura X, et al. Leishmania infantum-specific IgG, IgG1 and IgG2 antibody responses in healthy and ill dogs from endemic

areas. Evolution in the course of infection and after treatment. *Vet Parasitol* 2001;96:265–276

Shiddo et al., 1995 Shiddo SA, Aden Mohamed A, Akuffo HO, et al. Visceral leishmaniasis in Somalia: prevalence of markers of infection and disease manifestations in a village in an endemic area. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995;89:361–365

Sanchez-Robert et al., 2005 Sanchez-Robert E, Altet L, Sanchez A, et al. Polymorphism of Slc11 a1 (Nramp1) gene and canine leishmaniasis in a case-control study. *J Hered* 2005;96:755–758

Santos-Gomes et al., 2002 Santos-Gomes, G. M., Rosa, R., Leandro, C., Cortes, S., Romão, P., & Silveira, H. (2002). *Cytokine expression during the outcome of canine experimental infection by Leishmania infantum. Veterinary Immunology and Immunopathology*, 88(1-2), 21–30. doi:10.1016/s0165-2427(02)00134-4

Sacks D, Noben-Trauth N 2002 Sacks, D., & Noben-Trauth, N. (2002). *The immunology of susceptibility and resistance to Leishmania major in mice. Nature Reviews Immunology*, 2(11), 845–858. doi:10.1038/nri933

Sergent et Sergent, 1910 Sergent ED, Sergent ET. Kala azar : existence de la leishmaniose chez les chiens d’Alger, première note. *Bull Soc Pathol Exot* 1910;3:510-1

T

Tomás-Pérez et al., 2014 Tomás-Pérez, M., Khaldi, M., Riera, C., Mozo-León, D., Ribas, A., Hide, M., ... Fisa, R. (2014). *First report of natural infection in hedgehogs with Leishmania major, a possible reservoir of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Algeria. Acta Tropica*, 135, 44–49. doi:10.1016/j.actatropica.2014.03.018

Tassi et al., 1994 Tassi P, Ormas P, Madonna M, et al. Pharmacokinetics of N-methylglucamine antimoniate after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration in the dog. *Res Vet Sci* 1994;56:144–150

Travi et al., 2018 Travi BL, Cordeiro-da-Silva A, Dantas-Torres F, Miró G. Canine visceral leishmaniasis: diagnosis and management of the reservoir living among us. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12:e0006082. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006082>

V

Valladares et al., 1996 Valladares JE, Alberola J, Esteban M, et al. Disposition of antimony after the administration of N-methylglucamine antimoniate to dogs. *Vet Rec* 1996;138:181–183

Vercammen et al., 2002 Vercammen F, Fernandez-Perez FJ, del Amo C, et al. Follow-up of *Leishmania infantum* naturally infected dogs treated with allopurinol: immunofluorescence antibody test, ELISA and Western blot. *Acta Trop* 2002;84:175–181

W

Wells et al., 1986 ; Zaim et al., 2000 Wells D, Grayson BT, Langer E. Vapour pressure of permethrin. *Pestic Sci* 1986;17:473–477.