

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE IBN KHALDOUN –TIARET-
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES



THESE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT
EN SCIENCES VETERINAIRES

ETUDE DE LA LEISHMANIOSE CANINE

Présentée par : Bia Taha

Le 03/12/2022

Devant le jury :

Président du jury	SMAIL Fadhéla	MCA	U- Tiaret
Directeur de thèse	KOUIDRI Mokhtaria	Professeur	U- Tiaret
Examineur	MAHOUZ Fatima	MCA	U- Tiaret
Examineur	AIT-LOUDHIA Khatima	Professeur	ENVS d'El Harrach
Examineur	BENFODIL Karima	MCA	Université de Bouira
Co-Directeur de thèse	ZAIT Houria	MCA	Université Alger 1

Année universitaire

2022-2023

Dédicaces

Je dédie cet événement marquant de ma vie à la mémoire de mon père disparu trop tôt. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'un fils qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !

Je dédie ce travail à l'âme de ma mère, cette femme courageuse et forte qui m'a protégé de toutes ses forces et qui m'a aimé de tout son cœur, à cette femme qui a été toujours disponible et attentive et qui m'a donnée les plus précieux conseils de ma vie, à cette femme bienveillante et généreuse qui m'a élevé dans l'amour et le respect de tout le monde, à ma mère qui m'a tout donné, je t'aimerais toujours. Merci pour votre soutien moral et financier.

A mes chers frères, Mansour et Marwane, pour votre soutien moral et pour l'amour fraternel qui nous unit.

A mes chères sœurs, Mansoura et Kawter, que j'aime beaucoup. Je leurs souhaite toute la joie et le bonheur dans leurs vies.

Remerciements

Nous remercions d'abord Le bon Dieu pour nous avoir donné la force et la patience afin de réaliser ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements et ma vive reconnaissance au Pr. KOUIDRI MOKHTARIA, qui m'a fait l'honneur d'encadrer ce travail avec disponibilité et bienveillance.

Je tiens à remercier aussi Dr.ZAIT HOURIA, Copromotrice de cette étude, qui m'a guidée et conseillée tout au long de la réalisation de ce travail, pour le support technique et même l'accès au laboratoire.

Je remercie infiniment l'ensemble des membres de jury qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir examiner ce travail :

- Mme SMAIL FADHELIA,*
- Mme AIT OUDHIA KHATIMA,*
- Mme BENFODIL KARIMA et*
- Mme MAHOUZ FATIMA*

Mes sincères remerciements s'adressent au Pr. BOUSSAD HAMRIOUI, pour le choix du thème et pour ses conseils pertinents.

Mes remerciements s'adressent également au DR JAVIER MORENO NUNCIO et toute l'équipe de l'unité de leishmaniose et de maladie de Chagas de Madrid, Espagne): CARMEN SANCHEZ, JAVIER NIETO, LORENA BERNARDO, JOSE CARLOS SOLANA

pour leurs aides, leurs supports techniques et le bon accueil.

Je tiens ensuite à exprimer toute ma gratitude à mes chers professeurs : Dr. SLIMANI KHALED MABROUK pour son aide précieux et pour leur disponibilité au cours de la réalisation de ce travail, je remercie aussi Dr. SELLES SIDI MOHAMMED AMMAR qu'il était toujours disponible avec ses remarques pertinentes et ses conseils précieux, Dr. LAFRI ISMAIL, qui m'a accompagné durant la réalisation de la partie entomologique avec son matériel et sa disponibilité.

Je ne vais jamais oublier mes très chers collègues : DJIRA HAMID, ISMAIL BOULBAIR, MEKHOLOUFI OMAR AMINE, BENAYADA AHMED, HAMZA MANSOUR, HADI, KADA HADIDI, SOFIANE BENFLIOU, MOUKHTARI YUCEF, HAMZA ACHOUR, MAHMOUDI SIDALI, KOUACHI ABDELBASSET, RACHIDE MEJDOUB.

À mes très chères étudiantes : BENMOUHOU B NOUARA AHLEM, KHALDIA MAAMAR, FADHILA BOUAICHA.

À tous les enseignants et les personnels de l'institut des sciences vétérinaires sans exception.

SOMMAIRE

Liste des abréviations	
Liste des illustrations	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Introduction	01

Partie Bibliographique

Chapitre I: Généralités sur les leishmanioses

1. Historique	06
2. Epidémiologie	09
2.1. Etude du parasite	09
2.1.1. Classification	09
2.1.2. Morphologie	11
2.1.3. Reproduction	15
2.2. Etude du vecteur	15
2.2.1. Taxonomie	16
2.2.2 Morphologie	18
2.2.3. Biologie	24
2.2.4. Reproduction	24
2.3. Etude des réservoirs des leishmanioses	28
2.4. Relation hôte-parasite	28
2.4.1. Transmission	29
2.4.2. Interaction vecteur-parasite	29
2.4.3. Interaction hôte-parasite	30
2.5. Epidémiologie de la leishmaniose humaine	31
2.6. Epidémiologie de la leishmaniose canine	32
2.6.1. Epidémiologie de la leishmaniose canine dans le monde	32
2.6.2. Epidémiologie de la leishmaniose canine en Algérie	33

Chapitre II: Biologie et clinique de la leishmaniose canine

1. Pathogénèse	37
1.1. Pouvoir pathogène de la salive du vecteur	37
1.2. Avant l'internalisation	37
1.3. Après l'internalisation	38

2. Signes cliniques et lésions de la leishmaniose canine	39
2.1. Profil d'un chien leishmanien	39
2.2. Lésions cutané-muqueuses	41
2.3. Lésions qui touchent le système des phagocytes mononuclées	42
2.3.1. Atteinte des ganglions lymphatiques	42
2.3.2. Atteinte de la moelle osseuse	42
2.3.3. Atteinte de la rate	42
2.4. Lésions oculaire	43
2.5. Atteinte de l'appareil urinaire (atteinte rénale)	43
2.6. Signes digestifs (entero-hépatique)	43
2.7. Atteinte ostéo-articulaire	43
3. Modification et signes hématologiques	44
4. Diagnostic de la leishmaniose canine.	44
4.1. Diagnostic clinique et différentiel	44
4.1.1. Diagnostic clinique	44
4.1.2. Diagnostic différentiel	44
4.2. Diagnostic biologique spécifique	45
4.2.1. Techniques directes	45
4.2.1.1. Microscopie	45
4.2.1.2. Mise en culture	46
4.2.1.3. Examen moléculaire	46
4.2.2. Techniques indirectes	46
4.2.2.1. Immunofluorescence indirecte (IFI)	46
4.2.2.2. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	47
4.2.2.3. Test au Latex	47
4.2.2.4. Agglutination directe (DAT)	47
4.2.2.5. Examens rapides	48
4.3. Diagnostic biologique non-spécifique	48
4.3.1. Examens hématologiques	48
4.3.2. Examens biochimiques	49
5. Pronostic	49
6. Traitement de la leishmaniose canine	50
6.1. Traitement symptomatologique	50
6.1.1. Traitement de soutien rénal	50
6.1.2. Traitement oculaire	50

6.1.3. Traitement de l'anémie	50
6.1.4. Vitaminothérapie	50
6.1.5. Traitement d'entretien	50
6.2. Traitement spécifique	50
6.2.1. Allopurinol	50
6.2.2. Antimoniote (antimoniote de méglumine et stibogluconate de sodium)	51
6.2.3. Miltéfosine	51
6.2.4. Paromomycine (aminosidine)	51
6.2.5. Amphotéricine	52
6.2.6. Dompéridone	52
6.2.7. Autres	52
7. Prévention	52
7.1. Prévention sanitaire	52
7.2. Prévention médicale	52

Partie Expérimentale

Matériel & Méthodes

1. Période et zone d'étude	56
2. Etude du réservoir	57
2.1. Identification	57
2.2. Examen clinique général et dermatologique	57
2.3. Examens complémentaires	57
a) Raclage cutané	57
b) Scotch test	57
c) Calque cutané	57
d) Cytologie ganglionnaire	58
e) Coloration MGG	58
f) Cytologie splénique	58
g) Examen échographique	59
2.4. Prélèvements sanguins	59
2.5. Techniques de diagnostic utilisées	59
2.5.1. Polymérase Chain Réaction (PCR)	59
2.5.2. Immunofluorescence indirecte (IFI)	60
2.5.3. Technique ELISA	60
2.5.4. Test immunochromatographique (IT- leish)	60
3. Tests statistiques utilisés	60

3.1. Coefficient de Kappa	60
3.2. Sensibilité et la spécificité des tests de diagnostic	61
3.3. Test de Khi2 d'Independence	61
4. Etude de vecteur	61
5. Etude rétrospective de la leishmaniose cutanée dans la région de Tiaret	62

Résultats

1. Etude du réservoir	65
1.1. Techniques de diagnostic utilisées	65
1.1.1. Cytologie ganglionnaire	65
1.1.2. Sérologie par IFI et ELISA	67
1.1.3. Examen moléculaire (la PCR nichée)	68
1.1.4. Test immunochromatographique (test IT-LEISH)	70
1.2. Fréquence des chiens positifs par au moins une technique de diagnostic selon leur origine géographique	73
1.3. Fréquence de la leishmaniose canine par tranches d'âge	74
1.4. Fréquence de la leishmaniose canine par sexe	74
1.5. Signes cliniques	75
1.6. Résultats des autopsies	80
1.7. Résultats da la cytologie splénique	80
2. Etude du vecteur	82
2.1. Résultats des captures et d'identification des phlébotomes	82
3. Etude rétrospective de la leishmaniose cutanée dans la région de Tiaret	84
3.1. Répartition annuelle de nombre des cas de la leishmaniose cutanée de 2010 à 2020	84
3.2. Distribution mensuelle de nombre des cas de la leishmaniose cutanée de 2016 à 2020	85
3.3. Distribution de nombre des cas de la leishmaniose cutanée par tranches d'âge de 2016 à 2020	85
3.4. Distribution des nombres de cas par sexe (2016 à 2020).	86
3.5. Distribution des cas de LC de (2016-2020) selon leurs origines géographiques	

Discussion

1. Réservoir	89
1.1. Techniques de diagnostic utilisées	90
1.1.1. Cytologie ganglionnaire	90
1.1.2. Sérologie par IFI et ELISA	91

1.1.3. Examen moléculaire (la PCR nichée)	93
1.1.4. Test immunochromatographique rapide (Test IT-leish)	93
1.2. Fréquence des chiens positifs par au moins une technique de diagnostic selon leur origine géographique	94
1.3. Fréquence de la leishmaniose canine par tranches d'âge	95
1.4. Fréquence de la leishmaniose canine par sexe	96
1.5. Les signes cliniques	96
1.6. Résultats des autopsies	97
2. Discussion à propos du vecteur	98
3. Etude rétrospective de la leishmaniose cutanée dans la région de Tiaret	99
3.1. Répartition annuelle de nombre des cas de la leishmaniose cutanée(LC) de 2010 à 2020	99
3.2. Distribution mensuelle de nombre des cas de la leishmaniose cutanée (LC) de 2016 à 2020	99
3.3. Distribution de nombre des cas de la leishmaniose cutanée(LC) par tranches d'âge de 2016 à 2020	100
3.4. Distribution des nombres de cas de la leishmaniose cutanée (LC) par sexe (2016 à 2020).	100
3.5. Distribution des cas de la leishmaniose cutanée (LC) de (2016-2020) selon leurs origines géographiques	101
4. Relation entre la leishmaniose humaine et canine et la distribution de vecteur dans la wilaya de Tiaret	101
Conclusion	103
Perspectives	105
Références Bibliographiques	107
Annexes	129

ADN: Acide désoxyribonucléique

ADNk: ADN kinétoplastique

APTT: Temps de céphaline activée

ARN: Acide ribonucléique

ARNg: ARN guide

ARNm: ARN messenger

CIC: Complexes immuns circulants

IM: Intra-musculaire

Kb: Kilobase

L.: *Leishmania*

LC: Leishmaniose cutanée

LCD: Leishmaniose cutanée diffuse

LCL: Leishmaniose cutanée localisée

LCM: Leishmaniose cutanéomuqueuse

LCN: Leishmaniose cutanée du Nord

LCZ: Leishmaniose cutanée zoonotique

LV: Leishmaniose viscérale

NL: Nœud lymphatique

OIE: Office International des Epizooties

OMS: Organisation mondiale de la santé

PCR: Polymerase chain reaction

PO: Per os

PT: Temps de prothrombine

PU/CU: Rapport protéine/créatinine

SC: Sous-cutanée

***Spp.*:** Plusieurs espèces

VP: Vacuole parasitophore

Liste des tableaux

Partie Bibliographique

1.1	Classification des leishmanies.	09
1.2	Taxonomie des espèces de leishmanies.	11
1.3	Espèce de <i>Leishmania</i> selon les pays.	32-33
1.4	Prévalence de la leishmaniose canine en Algérie de 1910 à 2020	34-35

Partie Expérimentale

2.1	Interpretation de Cohen's kappa (McHugh, 2012).	60
2.2	Résultats de la cytologie ganglionnaire.	65
2.3	Comparaison entre les résultats de la cytologie ganglionnaire et la PCR.	67
2.4	Comparaison entre les résultats de la cytologie ganglionnaire et l'examen sérologique par (IFI et ELISA).	67
2.5	Comparaison entre les résultats de l'ELISA et de l'IFI.	68
2.6	Comparaison entre les résultats de la PCR et la sérologie par (IFI, ELISA).	69
2.7	Résultats des trois techniques de diagnostic chez les deux groupes des chiens (symptomatiques et asymptomatiques).	70
2.8	Comparaison des résultats de l'IT-leish avec la PCR.	70
2.9	Comparaison des résultats de l'IT-leish avec la cytologie ganglionnaire.	71
2.10	Comparaison des résultats de l'IT-leish avec la sérologie par (IFI et ELISA).	71
2.11	Comparaison entre les résultats de l'IT-LEISH, de la sérologie par (IFI, ELISA) avec la PCR considérée comme l'étalon-or pour le diagnostic de la leishmaniose canine.	72
2.12	Comparaison entre les résultats d'IT-LEISH, SEROLOGIE par (IFI-ELISA) avec la PCR considérée comme l'étalon-or pour le diagnostic de la leishmaniose canine, chez les chiens symptomatiques.	72
2.13	Comparaison entre les résultats de l'IT-LEISH, SEROLOGIE par (IFI-ELISA) avec la PCR considérée comme l'étalon-or pour le diagnostic de la leishmaniose canine, chez les chiens asymptomatiques.	73
2.14	Répartition des prélèvements et les chiens positifs par région.	74

2.15	Fréquence de la leishmaniose canine par tranche d'âge.	74
2.16	Fréquence de la leishmaniose canine par sexe.	75
2.17	Les signes cliniques et leurs fréquences retrouvés chez les chiens positifs.	75
2.18	Résultat de l'identification morphologique des phlébotomes capturés.	82
2.19	Distribution de nombre des cas de LC par région.	87

Liste des figures

Partie Bibliographique

1.1	"Huacomuchica" présentant une mutilation du nez et de la lèvre supérieure suggérant une leishmaniose des muqueuses.	08
1.2	Classification des espèces de <i>Leishmania</i> .	10
1.3	Schéma des morphologies (promastigote et amastigote) alignées le long de l'axe postéro-antérieur, les structures clés des cellules étant indiquées.	12
1.4	Forme amastigote de <i>Leishmania</i> après coloration au Giemsa (G×1000).	14
1.5	Forme promastigote de <i>Leishmania</i> après coloration au Giemsa (G×1000).	15
1.6	Classification des phlébotomes Phlebotominae, selon Theodor, Quate et Fairchild, Theodor et Mesghali, Lewis, Leng et Young et Duncan.	17
1.7	Répartition des principaux genres de phlébotomes dans le monde .	18
1.8	Phlébotome femelle nourri au sang (<i>Phlebotomuspapatasi</i>) (Notez les poils denses et la forme en V caractéristique dans laquelle l'aile est tenue).	19
1.9	Morphologie générale d'un phlébotome adulte .	20
1.10	Anatomie céphalique.	21
1.11	Aile du phlébotome.	22
1.12	Pattes du phlébotome.	22
1.13	Vue sous microscope optique de l'abdomen du phlébotome femelle.	23
1.14	Extrémité postérieure de l'abdomen d'une femelle (A) et anatomie des spermathèques (B).	24
1.15	Vue sous microscope optique de l'abdomen du phlébotome mâle.	25
1.16	Anatomie du génitalia mâle.	25
1.17	Clé simplifiée des sous-genres.	26
1.18	<i>Phlebotomus perniciosus</i> s'accouplant avant un repas de sang pris par la femelle en laboratoire.	28
1.19	Schéma des morphologies promastigotes et amastigotes et du cycle de vie de <i>Leishmania</i> avec les différents types de cellules mis en évidence.	30
1.20	Cycle de vie de <i>Leishmania</i> à l'intérieur de l'hôte mammifère.	31

1.21	Les premières étapes de l'invasion.	39
1.22	Onychogryphose.	41
1.23	Signe de lunette.	41
Partie Expérimentale		
2.1	Carte géographique de la wilaya de Tiaret.	56
2.2	Une ponction de la rate échoguidée.	58
2.3	Ponction du ganglion pré-scapulaire droit d'un chien.	58
2.4	Prélèvement sanguin au niveau de la veine radiale (photo originale).	59
2.5	Montage d'un piège CDC au niveau d'une étable.	62
2.6	Un piège lumineux CDC.	62
2.7	Vue d'un frottis d'une ponction ganglionnaire au grossissement 100 après une coloration MGG qui montre une adénite granulomateuse avec présence des petits lymphocytes matures(LM), des macrophages(Mc) avec présences des formes amastigotes de <i>Leishmania</i> (L).	66
2.8	Vue d'un frottis d'une ponction ganglionnaire au grossissement 100 après une coloration MGG qui montre une adénite granulomateuse avec présence des petits lymphocytes matures(LM), des polynucléaires neutrophiles toxiques poly lobulés(PNNT), des macrophages(Mc) avec présences des formes amastigotes de <i>leishmania</i> (L).	66
2.9	Formes promastigotes fluorescentes à la technique IFI.	68
2.10	Exemples des résultats de test PCR nichée appliqué pour le diagnostic de la leishmaniose canine.	69
2.11	Examen à distance d'un pointer de 3 ans (mauvais état général avec amaigrissement).	76
2.12	Un ulcère au niveau de la patte arrière.	76
2.13	Examen à distance d'une chienne berger allemand de 9ans (mauvais état général avec amaigrissement).	77
2.14	Ulcère au niveau auriculaire.	77
2.15	Onychogryphose chez un berger allemand.	77
2.16	Hyperkératose de peau.	78
2.17	Onychogryphose.	78
2.18	Examen à distance d'un chien berger d'atlas de 8ans (mauvais état	

	général avec amaigrissement).	78
2.19	Onychogryphose chez un berger d'atlas.	79
2.20	hyperkératose de truffe.	79
2.21	Ulcère au niveau de la pointe (hanche droite).	79
2.22	A : Hépatomégalie, B : Splénomégalie, C : Glomérulonéphrite chez un chien leishmanien.	80
2.23	Rate très hypertrophiée, friable et congestionnée.	80
2.24	Présence massive des formes amastigotes de <i>Leishmania</i> extracellulaire (L) au niveau splénique.	81
2.25	Phlébotome mâle.	82
2.26	Phlébotome femelle gorgée du sang.	82
2.27	Appareil génital mâle (<i>Phlebotomus perniciosus</i>).	83
2.28	Appareil génital Femelle (<i>Phlebotomus perniciosus</i>).	83
2.29	Distribution annuelle de nombre des cas de LC (2010-2020).	84
2.30	Evolutions mensuelles de nombre des cas de LC (2016- 2020).	85
2.31	Distribution des nombres de cas de la LC par tranches d'âge (2016-2020).	86
2.32	Répartition des cas de LC en fonction de sexe.	86

La leishmaniose canine est une zoonose à transmission vectorielle, due à un protozoaire du genre *leishmania*, c'est une maladie grave et souvent mortelle.

L'objectif de cette étude était de déterminer la prévalence de la leishmaniose canine chez les chiens berger de l'Atlas dans la wilaya de Tiaret. 359 chiens ont été inclus dans cette étude et quatre techniques de diagnostic ont été utilisées, à savoir la cytologie des ganglions lymphatiques, la PCR, l'IFI et l'ELISA. 128 chiens se sont avérés positifs par au moins une technique de diagnostic qui représente un pourcentage de 35.7%.

47 chiens ont présenté une hypertrophie des ganglions poplités dont on a réalisé la cytologie ganglionnaire pour ces derniers, 26 cas se sont avérés positifs avec la présence des formes amastigotes de parasite dans leurs frottis.

La sérologie par IFI et ELISA était pratiquée chez 350 chiens, cela nous a permis de détecter 30 chiens positifs par IFI et 35 chiens positifs par ELISA, ce qui représente un pourcentage de 8.57% et 10% respectivement.

Le deuxième volet de notre étude porte sur la comparaison des techniques de diagnostic de la leishmaniose canine dont on a conclu que l'utilisation de la PCR est plus sensible dans le diagnostic et même le dépistage de la maladie, la sensibilité des techniques sérologiques (IFI et ELISA) est plus élevée chez les chiens symptomatiques comparé à ceux asymptomatiques.

L'usage de l'IT-LEISH qui est un test humain chez l'espèce canine s'est avéré efficace et utile dans le diagnostic de la maladie.

Pour la partie entomologique, le plus grand nombre des phlébotomes capturés sont issus du nord de la wilaya de Tiaret et l'espèce dominante était *phlebotomus perniciosus*.

L'étude rétrospective de la leishmaniose cutanée humaine nous a permis de conclure que la leishmaniose cutanée est répandue dans la wilaya de Tiaret surtout dans le sud avec des variations annuelles et les saisons (automne et hiver) sont les plus favorables à leur apparition, la tranche d'âge inférieure ou égale à 10 ans et le sexe masculin est le plus touché.

Mots clés : leishmaniose canine, chien berger d'atlas, prévalence, signes cliniques, sérologie, IT-LEISH, PCR, cytologie ganglionnaire, enquête entomologique, leishmaniose cutanée.

داء الليشمانيا لدى الكلاب هو مرض حيواني المنشأ ينتقل عن طريق الناقل ، وينتج عن طفيليات من جنس الليشمانيا ، وهو مرض خطير وغالبًا ما يكون مميتًا.

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد مدى انتشار داء الليشمانيا لدى كلاب الراعي الأطلسي في ولاية تيارت. تمت الدراسة على 359 كلب، و قمنا باستعمال اربع تقنيات لتشخيص داء الليشمانيا لدى هاته الكلاب (علم الخلايا الليمفاوية تفاعل البلمرة الفلورة المناعية الغير مباشرة تقنية الاليزا). تم اختبار 128 كلبًا إيجابيًا بتقنية تشخيص واحدة على الأقل و الذي تمثل نسبة 35.7% من العدد الإجمالي للكلاب المدرجة في الدراسة.

أظهر 47 كلبًا تضخمًا في الغدد الليمفاوية المأبضية التي تم إجراء فحص خلايا العقدة الليمفاوية لها ، وتم العثور على 26 حالة إيجابية مع وجود أشكال من الطفيلي في مسحاتهم.

تم تحليل الأمصال بواسطة الفلورة المناعية الغير مباشرة و تقنية الاليزا مما سمح لنا بتشخيص 30 كلبًا إيجابيًا بواسطة الفلورة المناعية الغير مباشرة و 35 كلبًا بواسطة تقنية الاليزا والتي تمثل نسبة 8.57% و 10% على التوالي.

يتعلق الجزء الثاني من دراستنا بمقارنة تقنيات تشخيص داء الليشمانيا لدى الكلاب ، والتي قمنا باستخدامها حيث استنتجنا ان تفاعل البلمره يمثل تقنية أكثر حساسية مقارنة بالتقنيات المصلية (الفلورة المناعية الغير مباشرة تقنية الاليزا) لتشخيص والكشف المبكر عن المرض هاته الاخيرة اظهرت حساسية اكبر لدى الكلاب الحاملة لأعراض مرضية مقارنة بالغير حاملة لها.

استخدام اختبار الفحص المناعي بالتدفق الأفقي و الذي يمثل اختبار يستعمل لتشخيص داء الليشمانيا أحشوي لدى الإنسان اظهر نتائج جيدة لدى استخدامه عند الكلاب.

بالنسبة للجزء الخاص بالحشرات ، جاء أكبر عدد من ذبابة الرمل التي تم اصطيادها من شمال ولاية تيارت وكان النوع السائد هو الفاصدة البرنيسوسية.

مكنتنا الدراسة بأثر رجعي من داء الليشمانيا الجلدي البشري من استنتاج أن داء الليشمانيا الجلدي منتشر في ولاية تيارت ، خاصة في الجنوب ، مع الاختلافات السنوية والفصول (الخريف والشتاء) هي الأكثر ملاءمة لظهورها ، الفئة العمرية أقل من أو يساوي 10 سنوات والجنس الذكري هو الأكثر تضررا.

الكلمات المفتاحية: داء الليشمانيا لدى كلاب، كلب الراعي الأطلسي، نسبة انتشار، علامات طبية، التقنيات المصلية، اختبار الفحص المناعي بالتدفق الأفقي ، تفاعل البلمره، علم الخلايا الليمفاوية، علم الحشرات، داء الليشمانيا الجلدي البشري.

Canine leishmaniasis is a vector-borne zoonosis, caused by a protozoan of the genus *leishmania*, it is a serious and often fatal disease.

The aim of this study was to determine the prevalence of canine leishmaniasis in the Atlas shepherd dogs in the province of Tiaret. 359 dogs were included in this study and four diagnostic techniques were used, namely lymph node cytology, PCR, IFI and ELISA. 128 dogs were positive by at least one diagnostic technique, representing a percentage of 35.7%.

47 dogs had enlarged popliteal lymph nodes for which lymph node cytology was performed, 26 cases were positive with the presence of amastigote forms of the parasite in their smears.

Serology by IFI and ELISA was performed in 350 dogs, which allowed us to detect 30 IFI positive dogs and 35 ELISA positive dogs, representing a percentage of 8.57% and 10% respectively.

The second part of our study is the comparison of diagnostic techniques for canine leishmaniasis. It was concluded that the use of PCR is more sensitive in the diagnosis and even the screening of the disease; the sensitivity of serological techniques (IFI and ELISA) is higher in symptomatic dogs compared to asymptomatic ones.

The use of IT-LEISH, which is a human test in dogs, has proven to be effective and useful in the diagnosis of the disease.

For the entomological part, most of the sandflies captured were from the north of the province of Tiaret and the dominant species was *phlebotomus perniciosus*.

The retrospective study of human cutaneous leishmaniasis allowed us to conclude that cutaneous leishmaniasis is widespread in the province of Tiaret, especially in the south, with annual variations, and that the seasons (autumn and winter) are the most favourable for its occurrence, the age group less than or equal to 10 years old, and the male sex is the most affected.

Keywords: canine leishmaniasis, Atlas Shepherd dog, Prevalence, clinical signs, serology, IT-LEISH, PCR, lymph node cytology, entomological survey, cutaneous leishmaniasis.

Introduction

La leishmaniose canine est une zoonose à transmission vectorielle due à l'infection de l'hôte par un protozoaire flagellé (Dedet *et al.*, 1977; Moualek *et al.*, 2017) appartenant au genre *Leishmania* plus précisément *Leishmania infantum* (Bachi, 2006; Akhoundi *et al.*, 2016), qui est transmis par la piqure infectante d'un insecte vecteur, le phlébotome femelle (Moualek *et al.*, 2017; Tonelliet *et al.*, 2021), et dont le chien constitue le principal réservoir de la maladie (Selim *et al.*, 2021).

C'est une maladie systémique, qui lorsqu'elle est déclarée, elle présente un tableau clinique très variable dépendant de la complexité des mécanismes physio-pathogéniques, immunologiques ainsi qu'à la souche du protozoaire et à la possibilité de porter atteinte à divers organes ou tissus (Gharbi *et al.*, 2015).

Cette maladie constitue un sérieux problème de santé publique (Elikaee *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2021) dans différentes régions du monde: les Amériques, l'Asie de l'Ouest et du Sud-Est, l'Afrique de l'Est et l'Afrique du Nord (OMS, 2021). Elle est aussi endémique dans tout le bassin méditerranéen (Velez, 2019) et l'Algérie compte parmi les pays les plus touchés (Harrat et Belkaid, 2003; Bachi, 2006).

Le diagnostic de la leishmaniose canine peut s'attester complexe et difficile en raison du polymorphisme important des signes cliniques et la non spécificité de ces derniers ainsi qu'à la longue période d'incubation, il ne faut donc pas se baser seulement sur une liste réduite de symptômes ou sur l'examen clinique uniquement, c'est pourquoi différents examens supplémentaires paracliniques doivent être réalisés à fin de confirmer le diagnostic (Gharbi *et al.*, 2015; Gharbi *et al.*, 2018) et dont on peut distinguer: la PCR, la cytologie ganglionnaire, l'IFI et l'ELISA (Saridomichelakis *et al.*, 2005; Elmahallawy *et al.*, 2014).

Plusieurs études ont été menées depuis 1910 jusqu'à l'heure actuelle afin de désigner et de déterminer la prévalence de la leishmaniose canine en Algérie et dont les résultats démontrent que cette maladie se focalise le plus au centre Nord et le Nord Est du pays (Dedet *et al.*, 1977; Harrat et Belkaid, 2003; Djerbouh *et al.*, 2005; Ait-Oudhia *et al.*, 2009; Adel *et al.*, 2010; Toudeft *et al.*, 2011; Mansouri *et al.*, 2013; Adel *et al.*, 2015; Mouloua *et al.*, 2017; Medkour *et al.*, 2019^(a); Medkouret *et al.*, 2019^(b)).

Dans ce contexte et vue le manque d'études sur la leishmaniose canine au niveau de l'Ouest Algérien et même l'absence d'études sur la race Berger d'Atlas qui figure comme étant la race autochtone des montagnes et des plateaux de l'Afrique du Nord. Plus précisément, il demeure en grand nombre dans les Atlas du Maroc (FCI, 2003) et dans le Tell, là où les éleveurs l'utilisent pour la garde des habitations et des campements (Espérandieu *et al.*, 1994), notre étude vise à:

- Déterminer la prévalence de la leishmaniose canine au niveau de la wilaya de Tiaret (Nord-Ouest de l'Algérie) surtout chez le Berger d'Atlas,
- Comparer les différentes techniques de diagnostic de la leishmaniose canine,
- Evaluer l'efficacité de test immunochromatographique humain (It-Leish) pour le diagnostic de la leishmaniose canine,
- Réaliser une enquête entomologique dans les différentes régions de la wilaya de Tiaret,
- Réaliser une étude rétrospective de la leishmaniose cutanée humaine dans la wilaya de Tiaret.

Partie
Bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur
les leishmanioses

1. Historique

Les leishmanioses constituent un ensemble hétérogène de maladies parasitaires toutes dues à l'infection de l'hôte par un protozoaire flagellé (Dedet *et al.*, 1977; Moualek *et al.*, 2017; OMS, 2017) appartenant au genre *Leishmania* (Bachi, 2006; Akhouni *et al.*, 2016). La transmission du parasite s'effectue par la piqûre infectante d'un insecte vecteur: le phlébotome femelle (Moualek *et al.*, 2017; OMS, 2017; Tonelli *et al.*, 2021).

Elles comprennent des affections viscérales (LV), cutanées (LC), cutanées diffuses (LCD) ou localisées (LCL) et cutané-muqueuses (LCM) (Dedet, 2009).

Ces entités sont très anciennes, des plaies et affections faciales ont été décrites au 5^{ème} et 7^{ème} siècle sur des tablettes et des céramiques précolombiennes.

En 930, le polymathe perse Rhazes (al-Rāzī) a expliqué l'apparition des plaies cutanées dans la région de Bagdad.

Le médecin persan Avicenne (ibn Sīnā) a décrit des plaies dermiques connues sous le nom de Balkh dans le nord de l'Afghanistan (Kumar, 2013).

En 1571, Pedro Pizarro, a cité la LCM en décrivant des destructions du nez et des lèvres dont souffraient des cultivateurs de coca travaillant sur les pentes orientales des Andes péruviennes (Fig. 1.1).

Les médecins indiens dans l'Ancien Monde désignaient la leishmaniose viscérale par le terme sanskrit "kala-azar" qui signifiait "fièvre noire" (Kumar, 2013).

En 1756, Alexander Russell, médecin et naturaliste écossais, a décrit dans son compte rendu clinique des formes sèches et humides du mal oriental relatif à la LC zoonotique humide causée par *L. major* et à la LC anthroponotique sèche causée par *L. tropica* et leurs développements, tout en signalant que ces dernières guérissent en 8 mois et 1 an et que l'approche thérapeutique n'étaient pas nécessaire hormis l'utilisation d'un emplâtre mercuriel.

En 1827, William Twining, un chirurgien militaire, a également évoqué le kala-azar dans son article analysant des patients du Bengale en Inde, qui présentaient des symptômes du genre: état fébrile répété et séparé par des périodes d'environ plusieurs jours sans fièvre, amaigrissement, hypertrophie de la rate et anémie aiguë. En 1832, Twining a décrit plus en détail les symptômes du kala-azar.

Le kala-azar s'est propagé à Burdwan au Bengale occidental engendrant une sérieuse épidémie en 1860.

Et c'est en 1885 que David Douglas Cunningham, médecin écossais a détecté des leishmanies dans un furoncle de Delhi, mais sans savoir de quoi s'agit-il. Puis c'est Piotr Fokich Borovsky un médecin militaire russe qui a pu identifier les corps présents dans les lésions de l'herpès oriental et a déclaré que c'étaient des protozoaires.

En 1900, William Boog Leishman un pathologiste écossais, a effectué des prélèvements à partir de la rate d'un patient mort d'une cachexie et d'une splénomégalie afin de réaliser des frottis permettant ainsi l'identification de parasites qu'il considère au début comme des trypanosomes et nomma la maladie "fièvre de Dum-dum" en 1903. Cependant, Charles Donovan, médecin irlandais, avait trouvé chez des sujets indiens morts d'une maladie présentant les mêmes symptômes que ceux remarqués par William Leishman et il ne pensait pas que c'était des trypanosomes, alors il les envoya à Félix Étienne Pierre Mesnil qui les montra à Charles Louis Alphonse Laveran qui lui à son tour croyait que c'était un nouveau parasite appartenant au genre des piroplasmés. Par la suite, c'est le médecin britannique Ronald Ross en 1903, qui a tiré la conclusion que les symptômes présentés rappelaient et ressemblaient énormément à ceux du kala-azar et que ces organismes n'étaient ni des trypanosomes ni des piroplasmés, mais il les a décrits comme étant de nouveaux protozoaires qu'il suggéra d'appeler *Leishmania donovani* et c'est donc à la fin de l'année 1904 que cette dénomination fut approuvée.

En 1908, Charles Jules Henry Nicolle a décrit pour la première fois *Leishmania infantum* retrouvée chez des enfants tunisiens souffrant d'une anémie splénique. De plus, lui et son partenaire Charles Comte l'ont aussi retrouvée chez des chiens à Tunis, ce qui fait que ces derniers seront considérés comme des hôtes réservoirs de la LV.

En 1909, Adolpho Carlos Lindenberg (médecin brésilien) et Antonio Carini (médecin italien) avec son partenaire brésilien Ulysses de Freitas Paranho ont décrit pour la première fois les leishmanies du Nouveau Monde issues de lésions cutanées chez des sujets atteints "d'ulcères de Baurú" au Brésil.

En 1921, Edouard et Etienne Sergent, ont prouvé expérimentalement qu'ils pouvaient transmettre le «bouton d'Orient» par application de broyats de phlébotomes sur des entailles cutanées, cette application ou cette petite expérience leur a permis d'établir le rôle de vecteurs qui sont bien les phlébotomes dans la transmission du mal d'Orient (kumar, 2013).

En 1922, Henrique de Beaurepaire Rohan Aragão a affirmé que les phlébotomes étaient responsables de la transmission de la leishmaniose en Amérique du Sud.

En 1930, la LV a été retrouvée pour la première fois en Amérique latine par Aristides Marques da Cunha et Evandro Serafim Lobo Chagas qui croyaient avoir trouvé une nouvelle espèce responsable de la LV dans le Nouveau Monde qui fut par la suite, en 1937 désignée par le nom *Leishmania chagasi*.

En 1941, Saul Adler a pu également prouver que la transmission des protozoaires se fait par piqure du vecteur (mouche des sables) et que cette dernière est aussi le vecteur du kala-azar en 1942.

De plus, des années plus tard, des chercheurs ont déclaré que les phlébotomes qui transmettent la leishmaniose dans le Nouveau Monde appartenaient au genre *Lutzomyia*. Outre, 42 espèces du genre *Phlebotomus* et 56 espèces du genre *Lutzomyia* ont été impliquées dans la transmission de la leishmaniose dans l'Ancien et le Nouveau Monde respectivement et les différentes autres espèces de *Leishmania* du Nouveau Monde causant la LCL et la LCM, ont été découvertes ultérieurement de 1953 jusqu'à 2015 (Steverding, 2017).



Figure 1.1: "Huacomuchica" présentant une mutilation du nez et de la lèvre supérieure suggérant une leishmaniose des muqueuses (Tuonet *al.*, 2008).

2. Epidémiologie

D'après les données de l'institut Pasteur, la leishmaniose cutanée est endémique dans 83 pays et la leishmaniose viscérale à son tour dans 92 pays du monde. De plus, près d'un milliard de personnes vivent dans ces zones endémiques ce qui engendre l'existence d'une forte possibilité de contacter le vecteur et donc le parasite et de développer la maladie (Ryter, 2020).

2.1. Etude du parasite

Les leishmanies sont ubiquitaires, présentes dans l'Afrique, le Moyen-Orient, le sous-continent Indien, l'Asie centrale et l'Asie du Sud-Est, l'Amérique, centrale et du Sud, y compris l'Australie (Akhoundi *et al.*, 2016). Ce sont des protozoaires flagellés de la famille des *Trypanosomatidae* (Bachi, 2006; Moualek *et al.*, 2017; OMS, 2017).

2.1.1. Classification

Les méthodes de classification ont beaucoup évolué. Depuis la première description du genre *Leishmania* par Ross en 1903. En effet, les leishmanies avaient suivi un système de classification basé sur des caractéristiques différentes, telles que les manifestations cliniques, la répartition géographique, les cycles épidémiologiques ou encore le comportement des phlébotomes (Chaarat *et al.*, 2015).

La famille des *Trypanosomatidae* regroupe plusieurs genres. Parmi eux, trois genres dixènes existent: *Leishmania*, *Trypanosoma* et *Phytomonas*.

La place du genre *Leishmania* dans la classification est la suivante (Tableau 1.1) (Akhoundi *et al.*, 2016):

Tableau 1.1: Classification des leishmanies (Akhoundi *et al.*, 2016).

Règne	Protista (Haeckel, 1866)
Classe	Kinetoplastea (Honigberg, 1963 emend. Vickerman, 1976)
Sous-classe	Metakinetoplastina (Vickerman, 2004)
Ordre	Trypanosomatida (Kent, 1880)
Famille	Trypanosomatidae (Döflein, 1901)
Sous-famille	Leishmaniinae (Maslov et Lukeš 2012)
Genre	<i>Leishmania</i> (Ross, 1903)

Étant impossible de distinguer morphologiquement les leishmanies, plusieurs techniques moléculaires sont utilisées pour les reconnaître. Cependant, la classification biochimique basée sur l'étude des modèles isoenzymatiques du parasite par électrophorèse reste la technique d'identification de référence, qui permet de déterminer les zymodèmes (Fig. 1.2) (Chaara *et al.*, 2015).

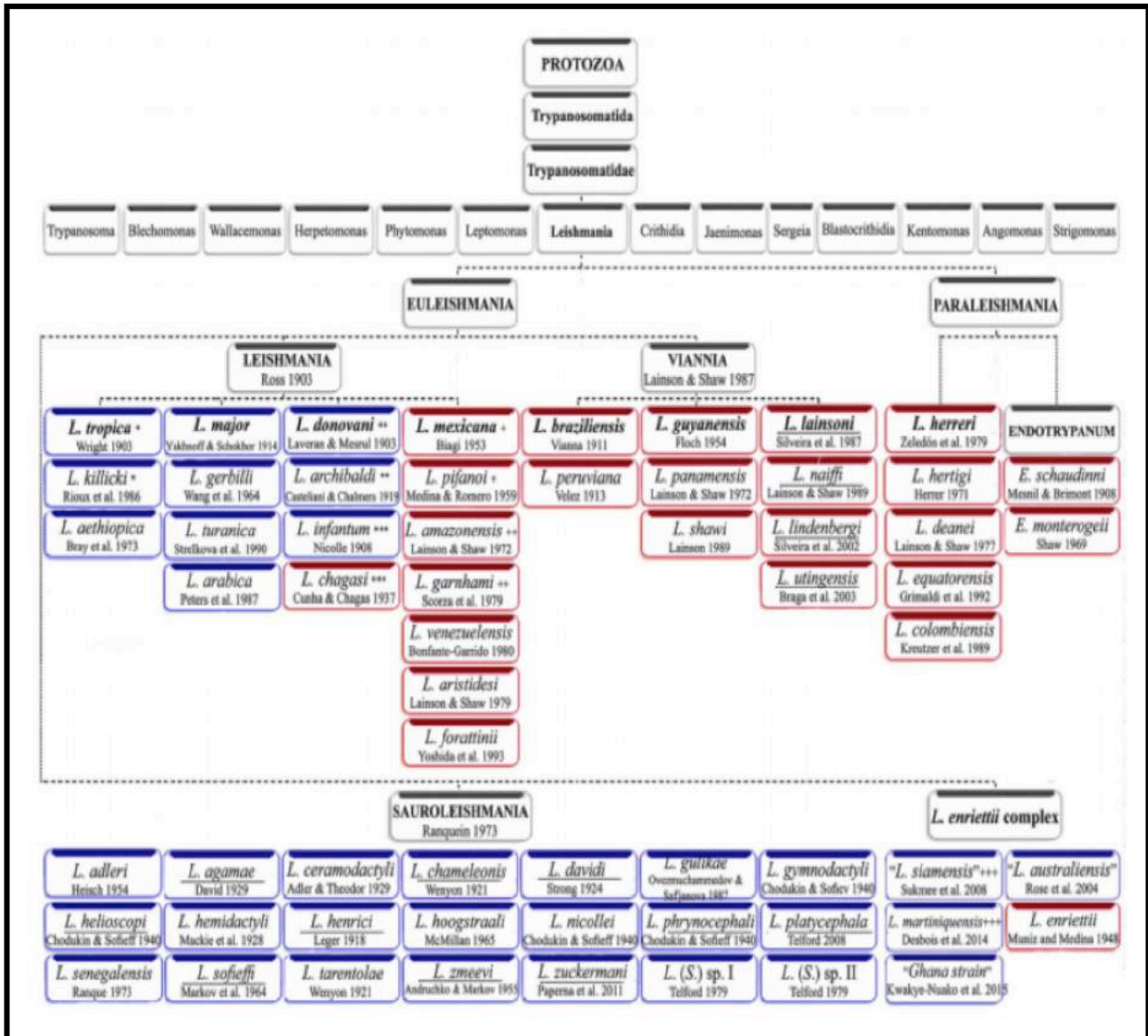


Figure 1.2:Classification des espèces de *Leishmania*. *, +: Synonyme; les différents nombres de signes étoile (*) et plus (+) indiquent quel nom d'espèce est le synonyme de quelle espèce originale, Souligné: Pas de classification définitive. *L. siamensis* et *L. martiniquensis* ont été trouvés aussi dans le Nouveau Monde. Les noms de *Leishmania* entre guillemets sont des noms non officiels sans descriptions formelles (Akhoundiet *al.*, 2016).

Parmi une trentaine d'espèces de *Leishmania*, regroupées en complexes, une vingtaine seulement a été considérée pathogène pour l'Homme (OMS, 2011) (Tableau 1.2).

Tableau 1.2: Taxonomie des espèces de leishmanies (OMS, 2011).

Sous genre	Complexes	Espèces	
<i>Leishmania</i>	<i>L. donovani</i>	<i>L. chagasi</i>	
		<i>L. donovani</i>	
	<i>L. tropica</i>	<i>L. infantum</i>	
		<i>L. archibadli</i>	
		<i>L. tropica</i>	
		<i>L. killicki</i>	
	<i>L. major</i>	<i>L. major</i>	
	<i>L. aethiopica</i>	<i>L. aethiopica</i>	
	<i>Non pathogène pour l'Homme</i>	<i>L. mexicana</i>	<i>L. mexicana</i>
			<i>L. venezuelensis</i>
<i>L. pifano</i>			
<i>L. garghami</i>			
<i>L. amazonensis</i>			
<i>L. arabica</i>			
<i>Viannia</i>	<i>L. brasiliensis</i>	<i>L. gerbilli</i>	
		<i>L. aristidesi</i>	
		<i>L. enriettii</i>	
		<i>L. deanel</i>	
<i>Viannia</i>	<i>L. guyanensis</i>	<i>L. hertigi</i>	
		<i>L. brasiliensis</i>	
		<i>L. peruviana</i>	
<i>Viannia</i>	<i>L. guyanensis</i>	<i>L. guyanensis</i>	
		<i>L. panamensis</i>	
<i>Viannia</i>	<i>L. lainsoni</i>	<i>L. lainsoni</i>	

2.1.2. Morphologie

Les leishmanies sont des parasites dixènes, nécessitant deux hôtes successifs au cours de leur vie pour compléter leur cycle évolutif: un insecte vecteur et un hôte mammifère, induisant ainsi la présence d'une variété de morphologies cellulaires différentes prolifératives et latentes pré-adaptées à la transmission à l'hôte suivant, ainsi les leishmanies se présentent sous deux

aspects morphologiques différents: la forme amastigote et la forme promastigote (Sunter et Gull, 2017).

La morphologie cellulaire de ces parasites est définie par la forme de la cellule, la longueur du flagelle, la position du kinétoplast/noyau et des unités modulaires les unes par rapport aux autres ainsi que les caractéristiques ultra-structurales (Sunter et Gull, 2017).

Ce sont des cellules comprenant un noyau et plusieurs unités modulaires à copie unique comme l'appareil de Golgi, la mitochondrie ainsi que le kinétoplast qui représente une masse d'ADN mitochondrial qui se localise avant le noyau et est directement reliée au corps basal d'où s'étend le flagelle. À la base de ce dernier se trouve une invagination de la membrane cellulaire formant une structure en forme de vase appelée poche flagellaire, qui est importante chez ces parasites car c'est le seul site d'endocytose et d'exocytose et constitue donc une interface critique entre le parasite et son environnement hôte (Fig. 1.3) (Sunter et Gull, 2017).

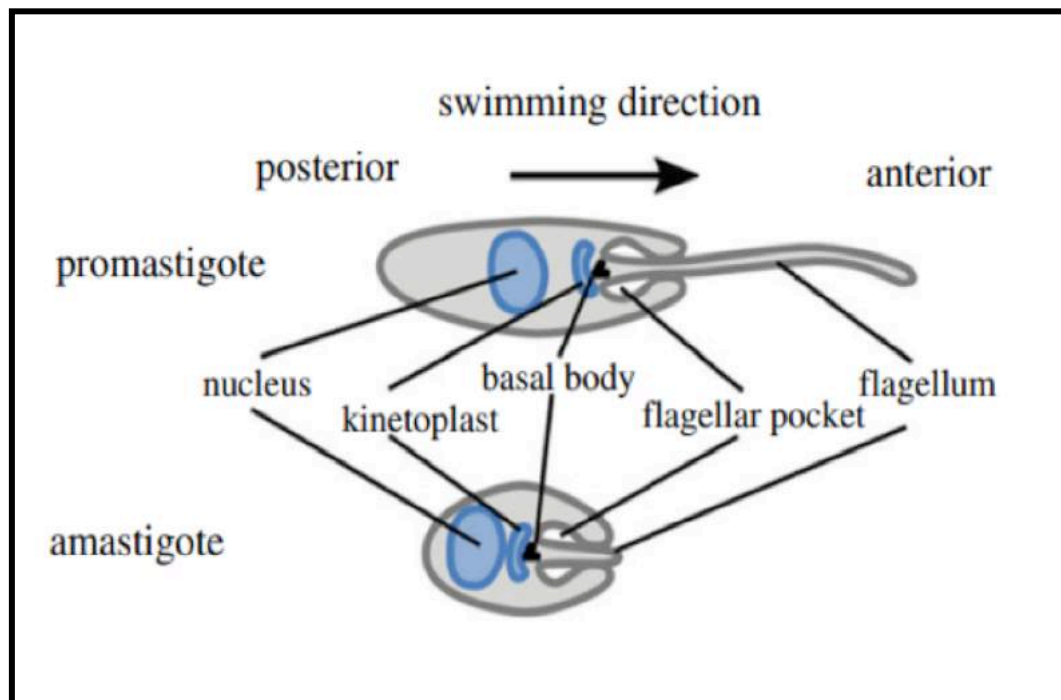


Figure 1.3:Schéma des morphologies (promastigote et amastigote) alignées le long de l'axe postéro-antérieur, les structures clés des cellules étant indiquées (Sunter et Gull, 2017).

De plus, il faut noter que les leishmanies ont deux génomes: un génome nucléaire et un génome kinétoplastique, qui représentent tous les deux des caractéristiques inhabituelles et jouent un rôle important dans les mécanismes de transcription (Dedet, 2009).

➤ **Génome nucléaire des leishmanies**

La taille du génome haploïde est de 33 à 36 millions de paires de base, relativement constante selon les espèces. Le nombre de chromosomes est de 34 et 35 pour les leishmanies du Nouveau Monde et 36 pour les espèces de l'ancien Monde (Bañuls *et al.*, 2007; Dedet, 2009).

30% du génome est constitué d'éléments répétés, voire presque la moitié sont des répétitions télomériques/subtélomériques, quant au reste se sont des gènes ou d'autres séquences simples répétés et des transposons dispersés (Bañuls *et al.*, 2007).

Les chromosomes sont linéaires et possèdent des télomères aux extrémités. Leur longueur varie entre 200 et 4000 kb et leur taille peut être propre à certaines espèces de leishmanies. Ils sont principalement considérés diploïdes même si au paravent ils pensaient que c'étaient des organismes aneuploïdes (Bañuls *et al.*, 2007).

Les gènes sont arrangés en réseau soit en deux ou plusieurs copies réparties dans le génome et leur ordre est extrêmement conservé chez les espèces de *Leishmania*, cependant, un grand niveau de polymorphisme dans les séquences d'acides nucléiques règne (Bañuls *et al.*, 2007).

L'amplification des gènes est très fréquemment utilisée chez les leishmanies afin de résister à l'action des pressions cytotoxiques ou environnementales par contre ces phénomènes peuvent les transformer en aneuploïdes facultatifs ou transitoires (Bañuls *et al.*, 2007).

De plus, chez ces parasites la plupart des transcriptions de gènes sont polycistroniques suivies de réactions de transformation comprenant un couplage de transépissage et de polyadénylation (Bañuls *et al.*, 2007).

Au début les gènes sont transcrits en grands ARN précurseurs polycistroniques dont la longueur est de 60 kb ou plus, puis clivés en ARNm monocistroniques par le trans-épissage d'un leader épissé de 39 nucléotides qui permet de générer les extrémités 5' de tous les ARNm, et le clivage/polyadénylation 3' qui donnera naissance aux extrémités 3' (Bañuls *et al.*, 2007).

Par ailleurs, différents processus vont se produire par la suite chez les leishmanies tels que: la phosphorylation, la glycosylation et la lipidation, ces derniers vont ainsi permettre la modification, la stabilisation et/ou l'activation des protéines (Bañuls *et al.*, 2007).

➤ ADNkinétoplastique des leishmanies

L'ADNk est l'ADN mitochondrial des Kinetoplastida, il constitue 10-20% de l'ADN total. C'est un réseau d'ADN circulaire concaténé, divisé en deux classes:

- Les maxicercles homogènes (25-50 molécules de 20 kb) qui sont les contreparties fonctionnelles de l'ADN mitochondrial et qui jouent même un rôle dans l'édition des résidus d'uracile dans les nucléotides de l'ARNm.
- Les minicercles hétérogènes (0,8 kb) qui ont de nombreuses copies (104) et qui codent des ARN guides (ARNg) pour l'édition de l'ARNm de la sous-unité III de la cytochrome oxydase (Bañuls *et al.*, 2007).

En ce qui concerne la morphologie, les leishmanies se présentent sous deux formes :

a) Forme amastigote

C'est une petite cellule ovoïde ou arrondi de 2 à 6 μm de diamètre, renfermant un noyau, un kinétoplaste, une ébauche de flagelle et un flagelle interne rudimentaire appelé rhizoplaste, rendant le parasite immobile. Elle représente la forme intracellulaire rencontrée chez les mammifères, où il est localisé à l'intérieur des cellules du système des phagocytes mononucléés (Fig 1.4) (Bañuls *et al.*, 2007; Dedet, 2009; Sunter et Gull, 2017).

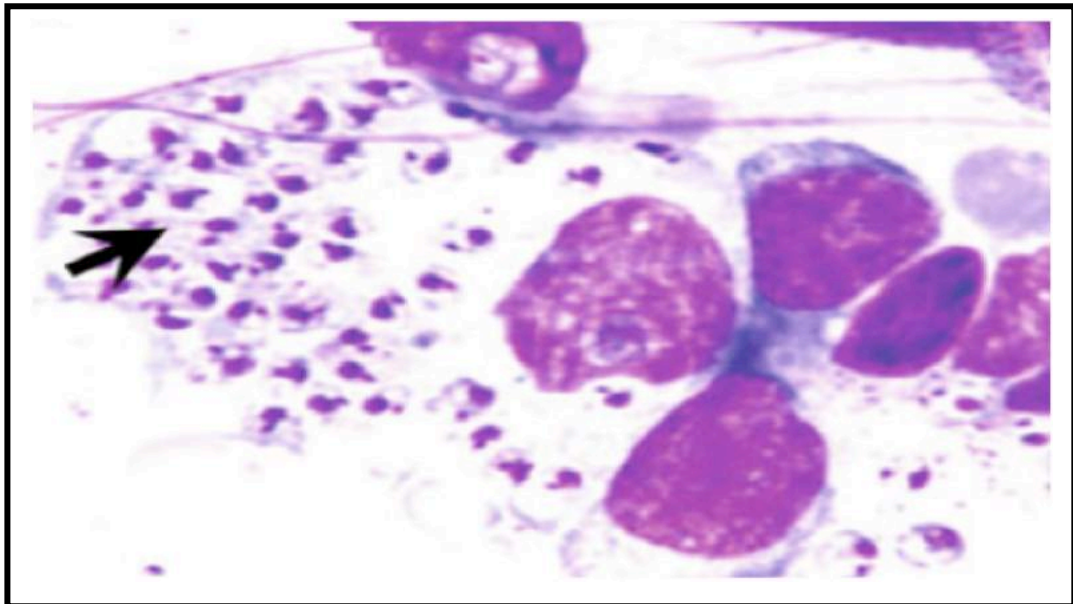


Figure 1.4: Forme amastigote de *Leishmania* après coloration au Giemsa (G \times 1000) (Kumar, 2013).

b) Forme promastigote

C'est une cellule allongée et fusiforme mesurant environ 10 à 25 μm de longueur. Le noyau est approximativement central, le kinétoplaste situé en position antérieure et le flagelle libre s'échappe à l'extrémité antérieure rendant le parasite mobile. Le promastigote libre se présente dans le tube digestif du phlébotome et en culture (Fig. 1.5) (Bañuls *et al.*, 2007; Dedet, 2009; Sunter et Gull, 2017).

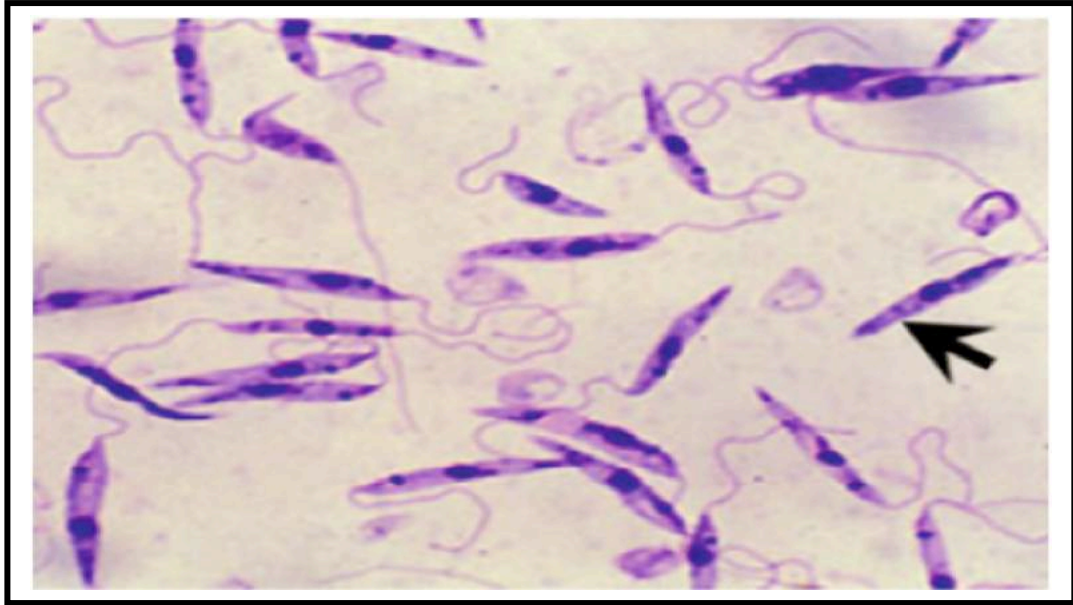


Figure 1.5:Forme promastigote de *Leishmania* après coloration au Giemsa (G \times 1000) (Kumar, 2013).

2.1.3. Reproduction

Les leishmanies se reproduisent selon deux modes différents qui leur permet de s'adapter à des environnements extrêmement variables: un mode de reproduction principale clonale, qui s'effectue par division binaire simple et qui se produit à la fois chez les hôtes vertébrés et invertébrés ainsi qu'un mode de reproduction sexuelle non obligatoire (recombinaison génétique) qui se passe au sein de l'insecte vecteur (Dedet, 2009; Rougeron *et al.*, 2016; Shaik *et al.*, 2021).

2.2. Etude du vecteur

Les leishmanioses sont transmises par les phlébotomes femelles infectées par les leishmanies aux hôtes, qui peuvent être des animaux tels que: les canidés, les rongeurs, les marsupiaux et les hyrax ou bien des êtres humains (Akhoundi *et al.*, 2016).

2.2.1. Taxonomie

Les phlébotomes appartiennent à l'ordre des diptères, au sous-ordre des nématocères, à la famille des psychodidés et à la sous-famille des phlébotominae (Akhoundiet *al.*, 2016; Ramdane *et al.*, 2018; Elhadi *et al.*, 2022).

Au début, les études sur la taxonomie des phlébotomes étaient basées uniquement sur les aspects morphologiques des spécimens morts. Puis, les taxons ont été distingués en fonction de l'analyse de certaines structures externes comme la structure des organes génitaux mâles, les indices de nervation des ailes et d'autres mesures connues sous le nom de phlébotométrie, en plus, des descriptions de structures internes telles que les spermathèques, le cibarium et le pharynx ont été utilisées (Akhoundi *et al.*, 2016).

Après l'évolution et la découverte de nouvelles méthodes d'identification, plusieurs d'entre elles ont été adoptées et utilisées, ce qui a permis de faire des progrès remarquables dans l'identification et la classification des spécimens de phlébotomes, d'améliorer les connaissances sur leurs systématiques et de distinguer les variations intra-spécifiques et interspécifiques au sein des sous-genres. Parmi ces méthodes on trouve: l'analyse chromosomique, iso-enzymatique, moléculaire et phylogénétique, la morphométrie multivariée, l'élevage et la colonisation en laboratoire, ainsi qu'à la spectrométrie de masse et l'estimation ou l'évaluation de la distance de vol des phlébotomes (environ 1,5 km par jour) (Akhoundi *et al.*, 2016).

Différents et multiples systèmes de classification des phlébotomes ont été proposés depuis celui de Newstead 1911, d'Abonnenc, de Davidson, Fairchild, Leng, Lewis, Quate et Theodor (Akhoundi *et al.*, 2016).

Actuellement, une approche conservatrice basée sur des critères pratiques a conduit à la subdivision des Phlebotominae en six genres:

- Trois genres de l'Ancien Monde: (*Phlebotomus*, 13 sous-genres, *Sergentomyia*, 104 sous-genres et *Chinius* 4 espèces);
- Trois du Nouveau Monde (*Lutzomyia*, 26 sous-genres, *Brumptomyia*, 24 espèces et *Warileya*, 6 espèces)(Fig.1.6)(Akhoundiet *al.*, 2016).

Cette classification est actuellement largement utilisée (Akhoundiet *al.*, 2016).

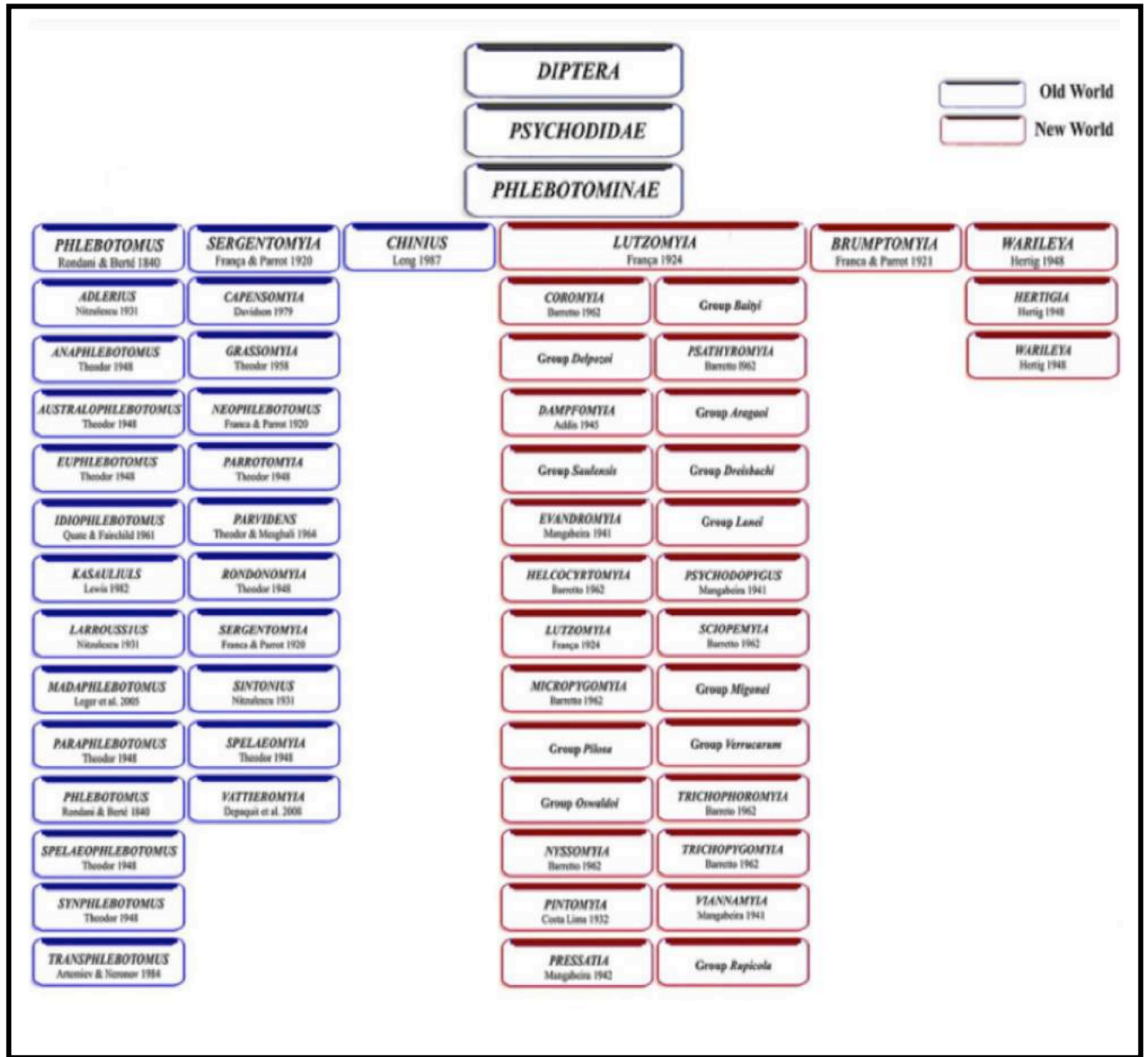


Figure 1.6: Classification des phlébotomes Phlebotominae, selon Theodor, Quate et Fairchild, Theodor et Mesghali, Lewis, Leng et Young et Duncan (Akhoundi *et al.*, 2016).

23 espèces de phlébotomes sont connues en Algérie, dont 2 fameux genres: *Phlebotomus* et *Sergentomyia*. Le genre *Phlebotomus* comprend les espèces suivantes: *Phlebotomus perniciosus*, *Phlebotomus longicuspis*, *Phlebotomus perfiliewi*, *Phlebotomus papatasi* et le genre *Sergentomyia* compte une seule espèce: *Sergentomyia minuta* (Ramdane *et al.*, 2018).

Phlebotomus papatasi est le vecteur connu de la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) en Algérie due à *Leishmania major* (Hanafiet *al.*, 2007; Ramdane *et al.*, 2018), *Phlebotomus perniciosus* représente le vecteur connu de la leishmaniose viscérale due à *Leishmania infantum* dont le principal réservoir est le chien (Izriet *al.*, 1990; Ramdane *et al.*, 2018) et *Phlebotomus sperfiliewi*, le vecteur connu de la leishmaniose cutanée du Nord (LCN) due au parasite *Leishmania infantum* (Fig. 1.7)(Izri et Belazzoug, 1993; Ramdane *et al.*, 2018).

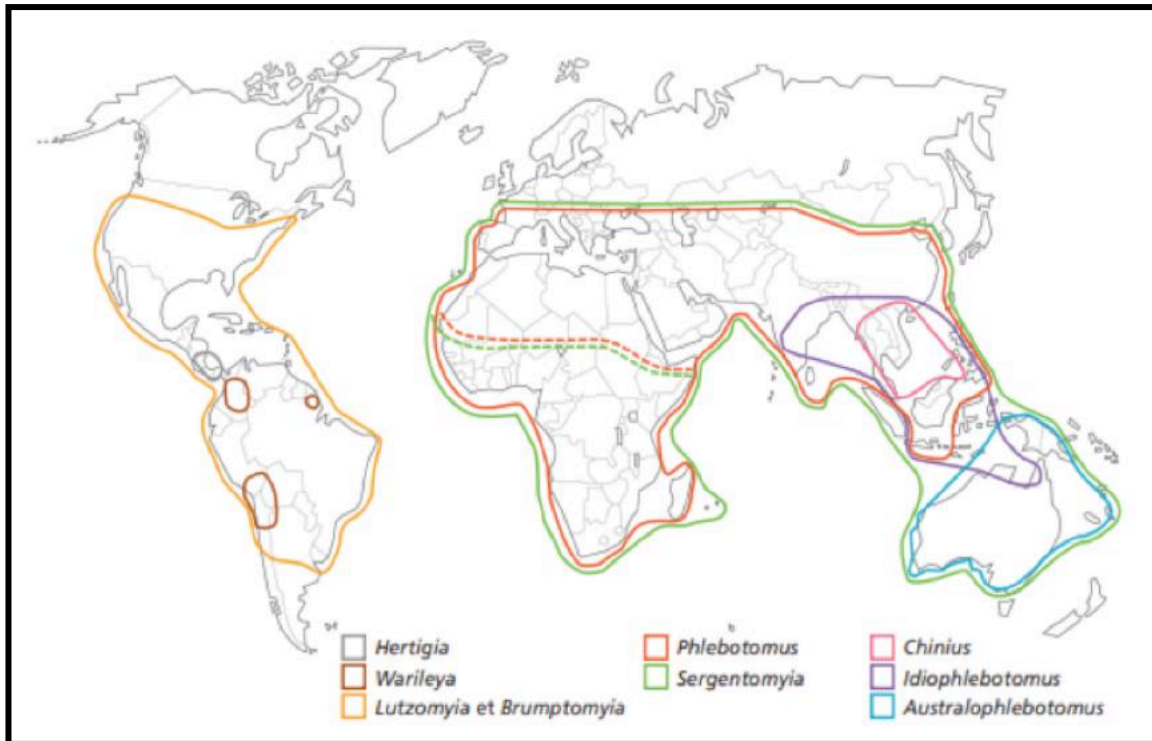


Figure 1.7:Répartition des principaux genres de phlébotomes dans le monde (Léger et Depaquit, 2001).

2.2.2. Morphologie

Le phlébotome est un petit moucheron présentant un corps grêle et allongé, de petite taille environ de 2 à 5 mm de long, il est de couleur claire en général jaune paille et possède deux ailes et un corps velus ou couverts de vestitures ou fins poils lui permettant un vol silencieux (Fig. 1.8)(Léger et Depaquit, 2001).



Figure 1.8: Phlébotome femelle nourri au sang (*Phlebotomus papatasi*) (Notez les poils denses et la forme en V caractéristique dans laquelle l'aile est tenue) (Maroli *et al.*, 2013).

La morphologie d'un phlébotome adulte comprend les parties suivantes (Fig. 1.9):

- Tête,
- Thorax,
- Ailes,
- Abdomen,
- Génitalia (partie génitale),
- Pattes (Léger et Depaquit, 2001).

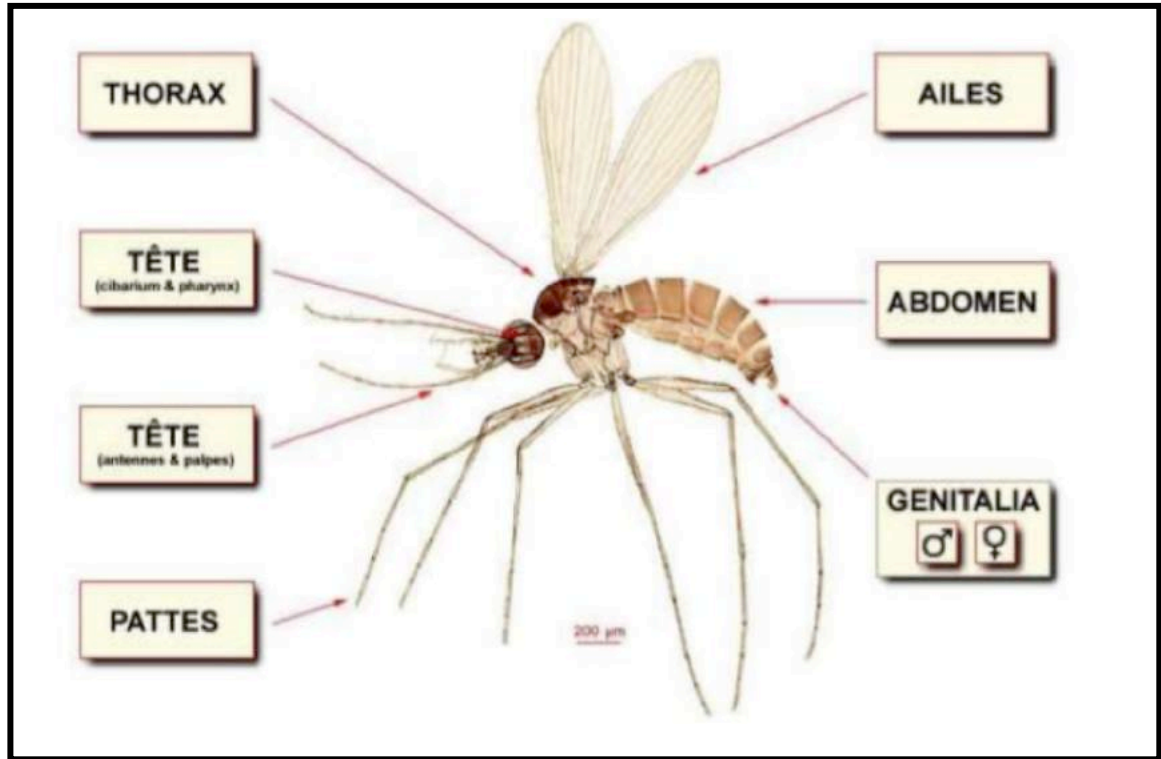


Figure 1.9: Morphologie générale d'un phlébotome adulte (Niang *et al*, 2000).

- **Tête**

La partie buccale du phlébotome est constituée de: palpes, antennes, cibarium, pharynx (Léger et Depaquit, 2001).

Le pharynx comporte: des dents disposées en palissade, une plage pigmentée, un pharynx postérieur, une pompe pharyngiale, un pharynx extérieur, et un cibarium (Léger et Depaquit, 2001).

Le cibarium comprend les parties suivantes: occiput, vertex, front, structure interoculaire, scape, pédicelle, clypeus, flagellum, mandibule, maxille, ascoïde (épine géniculée), epipharynx (labre-épipharynx), labium, aire sensorielle, labelle, palpes (divisés en 5 articles) (Léger et Depaquit, 2001).

Le phlébotome femelle qui est hématoophage, repère l'endroit favorable pour piquer à l'aide de ces labelles, puis la peau et les capillaires sont divisés ou sectionnés à l'aide de mandibules, formant une petite mare de sang ou l'hypopharynx envoie une salive anticoagulante qui est contenu dans les glandes salivaires retrouvées au niveau du cibarium, ce sang est aspiré dans le canal situé entre l'épipharynx et l'hypopharynx (Léger et Depaquit, 2001).

Derrière le cibarium on trouve le pharynx ou la pompe œsophagienne formé de deux plaques dorso-ventrales et d'une plaque dorsale lui donnant la forme de bouteille allongée a section triangulaire (Léger et Depaquit, 2001).

La tête porte aussi deux gros yeux latéraux et deux antennes formées de 16 articles (Fig. 1.10) (Léger et Depaquit, 2001).

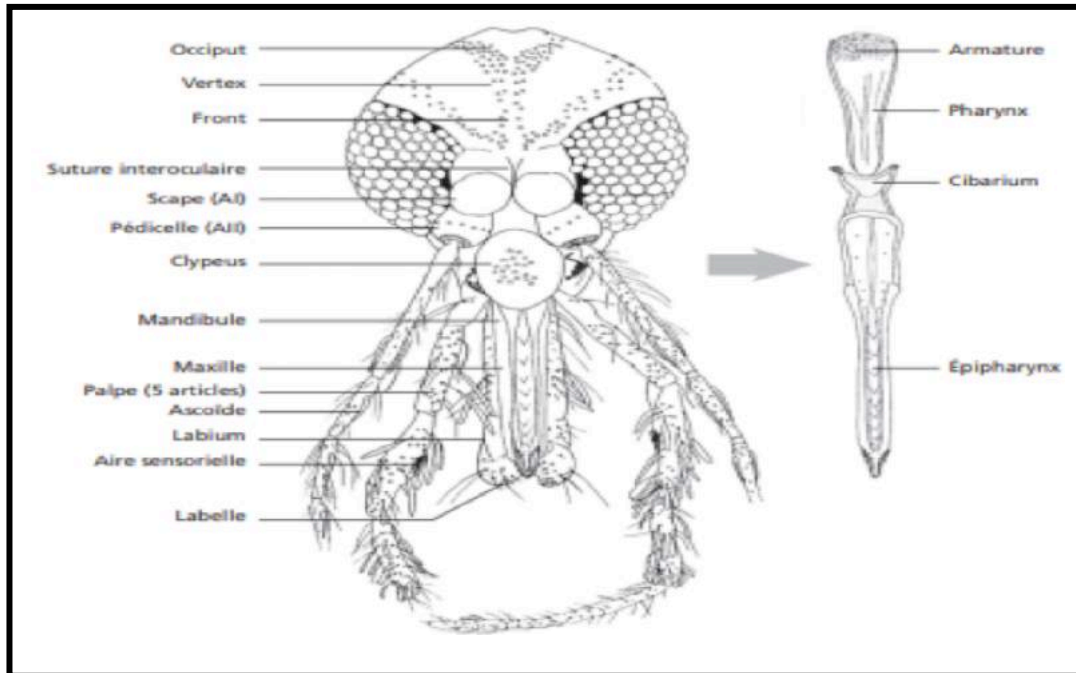


Figure 1.10 : Anatomie céphalique (Léger et Depaquit, 2001).

• Thorax

Il est constitué de: prothorax, mésothorax, métathorax, ailes, pattes (Niang *et al.*, 2000).

-**Prothorax**: réduit et partiellement recouvert par le segment suivant.

-**Mésothorax**: très développé, couvert de soies ou de poils durs et épais, comprenant aussi une partie où les ailes sont insérées.

- **Métathorax**: plus réduit, comprenant une petite partie où s'insère une seconde paire d'ailes transformées en haltères.

- **Ailes**: lancéolées et soutenues par des nervures transverses et des nervures longitudinales aux nombres de sept, au repos les ailes sont dressées, formant entre elles un angle de 45° (Fig. 1.11).

- **Pattes**: longues et grêles, bondées de soies et d'écailles, divisées en cinq articles (Fig. 1.12) (Niang *et al.*, 2000).

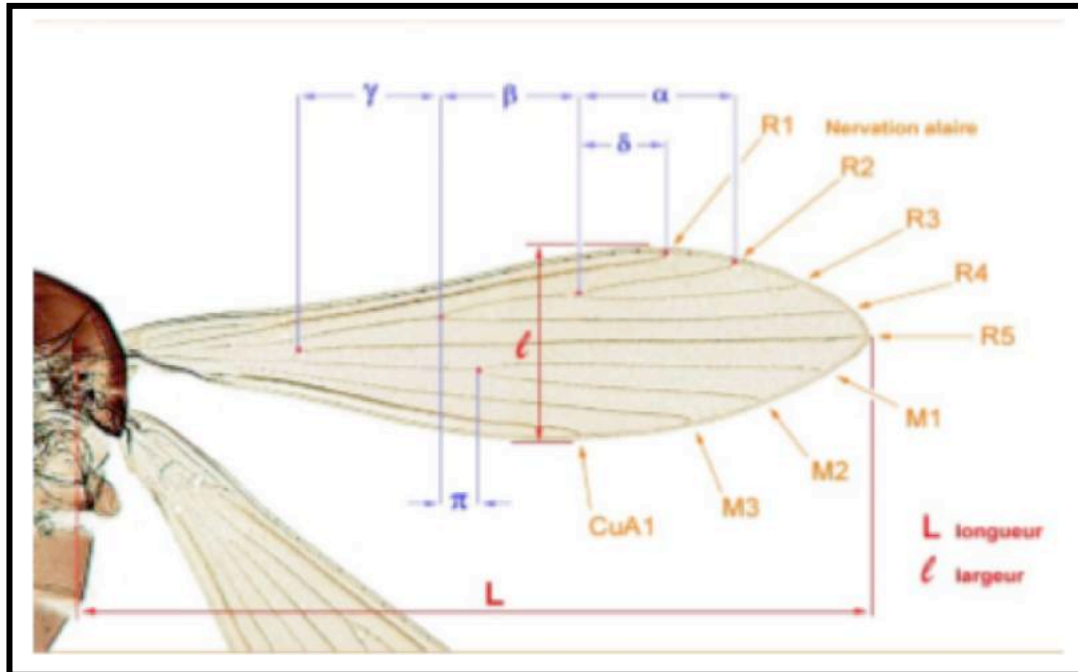


Figure 1.11 : Aile de phlébotome (Nianget *et al.*, 2000).

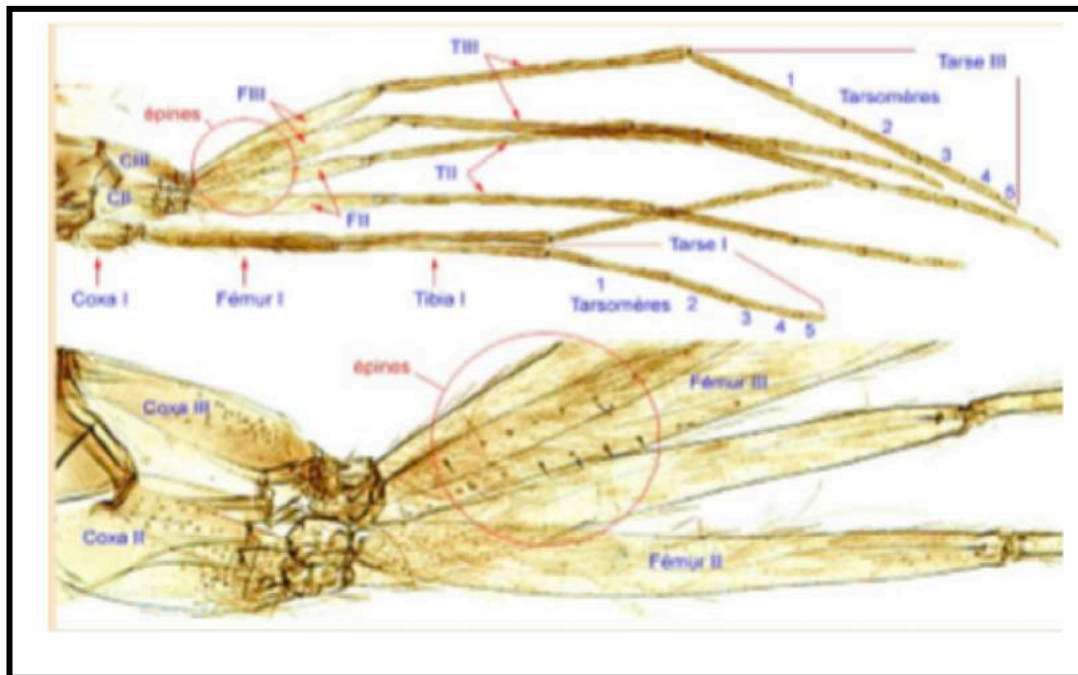


Figure 1.12 : Pattes de phlébotome (Brunhes *et al.*, 2000).

- **Abdomen**

Il comprend des sternites et tergites qui sont séparés par des pleures membraneuses susceptibles de se dilater au moment des repas.

L'abdomen comporte aussi dix segments: sept non modifiés et trois transformés en segments génitaux (Nianget *al.*, 2000):

- **Chez les femelles:**

Le huitième segment est plus petit que les autres et replié sous le septième, ne laissant dépasser sur la face ventrale que les valves hypogyniales ou gonapophyses ventrales.

Le dixième segment porte l'anus et de part et d'autre les cerques, ou gonapophyses dorsales, bien développés (Fig. 1.13) (Nianget *al.*, 2000).

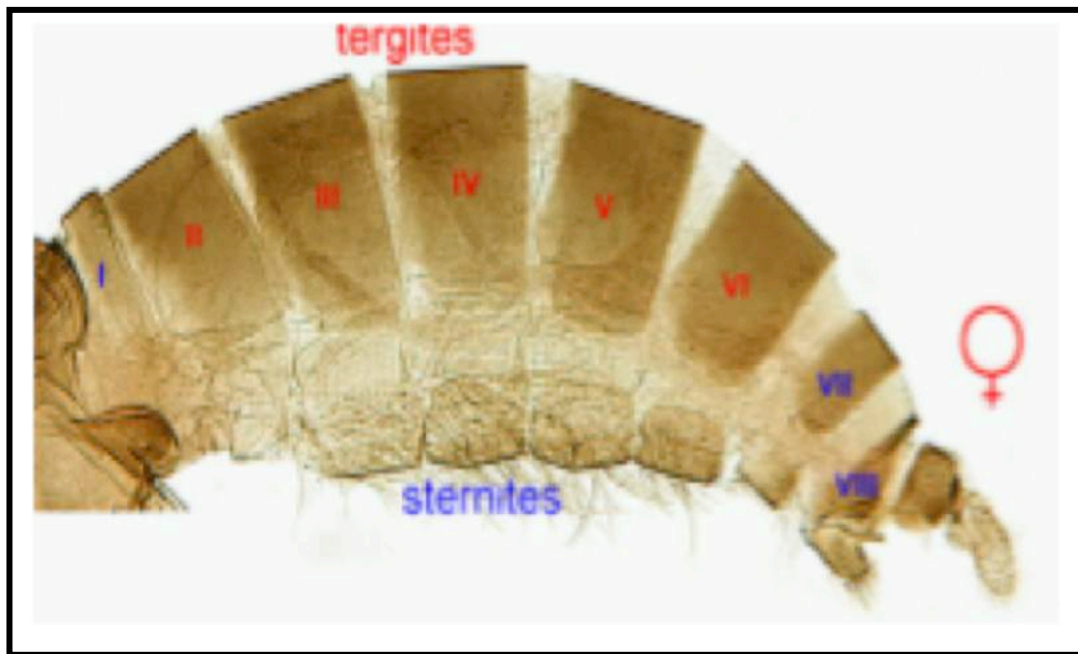


Figure 1.13 : Vue sous microscope optique de l'abdomen du phlébotome femelle (Niang *et al.*, 2000).

L'appareil génital comprend: deux ovaires constitués d'ovarioles, deux spermathèques. Les deux types s'ouvrent sur le vagin (Fig. 1.14) (Léger et Depaquit, 2001).

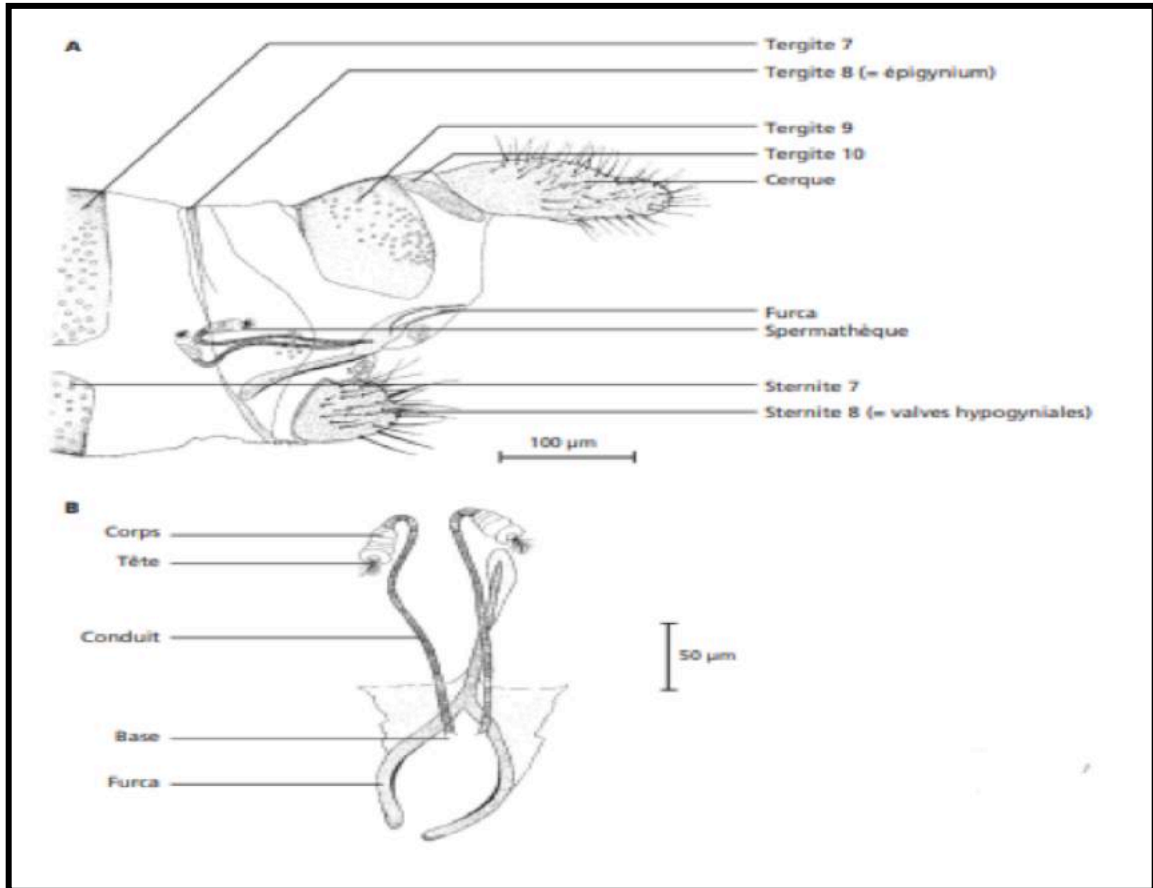


Figure 1.14 : Extrémité postérieure de l'abdomen d'une femelle (A) et anatomie des spermathèques (B) (Léger et Depaquit, 2001).

- **Chez les mâles:**

Les septième et huitième segments sont réduits et les neuvième et dixième sont totalement modifiés pour former l'appareil copulateur ou genitalia (Fig. 1.15, Fig. 1.16) (Niang *et al.*, 2000; Léger et Depaquit, 2001).

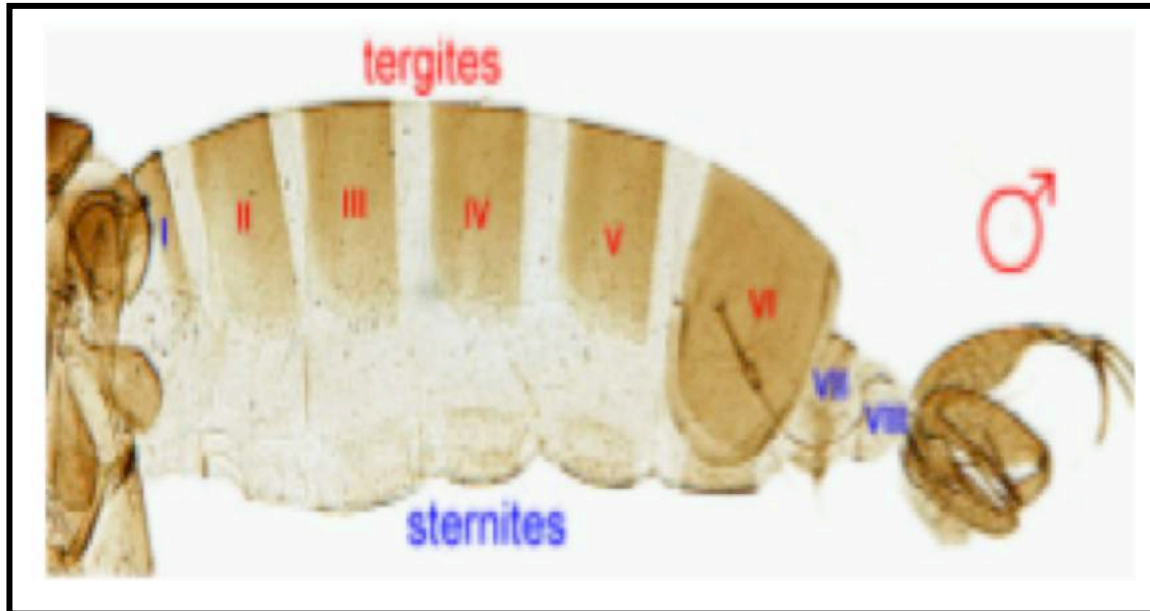


Figure 1.15 : Vue sous microscope optique de l'abdomen du phlébotome mâle (Niang *et al.*, 2000).

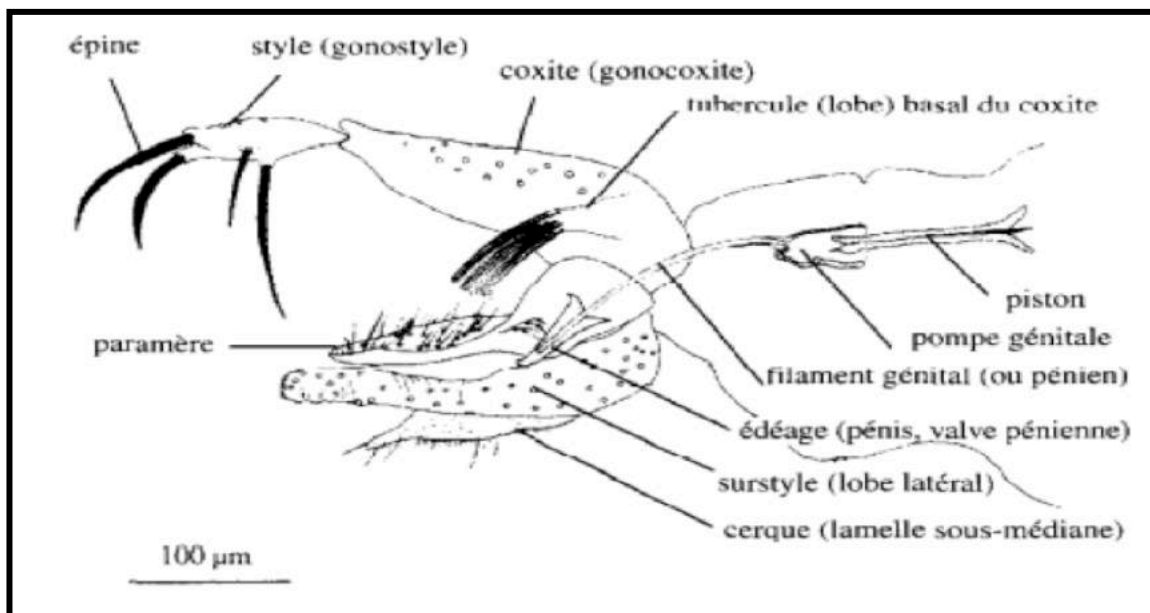


Figure 1.16 : Anatomie du génitalia mâle (Léger et Depaquit, 2001).

Il faut noter qu'afin d'identifier les phlébotomes plusieurs critères ont été pris en considération tels que: les longueurs des divers segments des palpes, la longueur des segments antennaires, ainsi que l'aspect et le nombre sur chaque segment des ascoides, l'implantation des

soies portés sur le thorax et l'abdomen. Cependant l'identification spécifique utilise surtout l'aspect de l'armature génitale externe chez les mâles et l'aspect des spermathèques, de l'armature cibariale (ou son absence) et de l'armature pharyngienne chez les femelles (Fig. 1.17) (Léger et Depaquit, 2001).














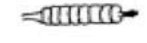






Clé des mâles			
1	Style à 4 épines		2
	Style à 3 épines		0
2	Coxite avec un tubercule basal garni de soies		s/g <i>Paraphlebotomus</i>
	Coxite sans tubercule basal		s/g <i>Anaphlebotomus</i>
3	Coxite avec un tubercule basal		4
	Coxite sans tubercule basal		5
4	Petit tubercule - Style avec 3 courtes épines terminales - Paramère trifurqué		s/g <i>Phlebotomus</i>
	Gros tubercule - Style avec deux longues épines terminales - Paramère simple, en raquette		s/g <i>Synphlebotomus</i>
5	Paramère complexe avec 2 ou 3 lobes		s/g <i>Euphlebotomus</i>
	Édage portant souvent une longue épine		6
	Paramère simple		
6	Extrémité des valves péniennes avec un tubercule sub-apical		s/g <i>Adlerius</i>
	Extrémité des valves péniennes arrondie, bifide, pointue ou spatulée		s/g <i>Larrousius</i> s/g <i>Transphlebotomus</i>
Clé des femelles			
1	Spermathèque annelée		2
	Spermathèque non annelée		3
2	Tête portée sur un long cou		s/g <i>Larrousius</i>
	Tête sessile		s/g <i>Phlebotomus</i> s/g <i>Paraphlebotomus</i> s/g <i>Synphlebotomus</i> s/g <i>Euphlebotomus</i> pro parte s/g <i>Anaphlebotomus</i> pro parte
3	Spermathèque fripée, base des conduits renflée et épaissie		s/g <i>Adlerius</i>
	Spermathèque fripée sans dilatation de la base des conduits		s/g <i>Transphlebotomus</i>
	Spermathèque lisse et étroite sur toute sa longueur		s/g <i>Anaphlebotomus</i> pro parte

Figure 1.17 : Clé simplifiée des sous genre (Léger et Depaquit, 2001).

2.2.3. Biologie

Les phlébotomes se métamorphosent complètement pendant leur vie, ils débutent par un œuf et finissent leur développement par le stade adulte toute en passant par les deux stades larvaire (comprenant quatre stades) et nymphe respectivement (Maroli *et al.*, 2013).

Au commencement, les œufs mesure 0,3 à 0,5 mm de long, ils sont de couleur blanche ou gris clair mais deviennent souvent brun foncé ou noir quelques heures après la ponte. Ces derniers sont pondus par les femelles adultes après un repas sanguin, dans un habitat approprié riche en contenu organique, comme les excréments d'animaux et la terre, qui fournit aux larves nouvellement émergées un abri, de la nourriture et de l'humidité (Maroli *et al.*, 2013; Benallal *et al.*, 2022). Les œufs éclosent en dépendant de la température et du développement larvaire ultérieur est généralement lent pouvant atteindre une période d'un an. Les larves du premier stade émergent au bout de 12-19 jours, les pupes en 25-59 jours, et les adultes en 35-69 jours. Elles sont en forme de chenille avec des capsules de tête et de petites antennes en forme de feuilles. Elles ont de longues soies caudales qui peuvent aider à les identifier comme des larves de phlébotomes. Les nymphes se ressemblent à de petites chrysalides dans lesquelles les exuvies larvaires du quatrième stade sont attachées à une extrémité à un substrat solide (Maroli *et al.*, 2013).

Les adultes sont petits et dépassent rarement 3,5 mm de longueur corporelle. Ils sont couverts de poils denses et tiennent leurs ailes en forme de "V" caractéristique sur leur dos lorsqu'ils sont au repos, leurs pattes sont très longues et délicates.

Les mâles et les femelles se nourrissent des sécrétions sucrées des plantes ou du miellat produit par les pucerons homoptères. De plus, il faut mentionner que les femelles ont besoin d'au moins un repas de sang afin de compléter le développement des lots d'œufs.

Les phlébotomes adultes sont principalement actifs le soir, la nuit et tôt le matin, et ils ont un vol considérablement lent et est inférieur à 1 m/s ainsi que leur distance de vol qui est généralement très courte environ 300 m (Maroliet *et al.*, 2013).

2.2.1. Reproduction

Les mâles se rassemblent en unités sur ou à près de l'hôte et produisent des phéromones sexuels. De plus, la vibration des ailes par les mâles peut être importante pour encourager les femelles à s'accoupler. L'activité saisonnière des phlébotomes adultes est principalement affectée par la température et les précipitations, et les sites de reproduction sont souvent proches des sites

de repos et qui représentent des micro-habitats frais, humides et sombres (Fig. 1.18) (Maroli *et al.*, 2013).



Figure 1.18 : *Phlebotomus perniciosus* s'accouplant avant un repas de sang pris par la femelle en laboratoire (Maroli *et al.*, 2013)

2.3. Etude des réservoirs des leishmanioses

Les réservoirs naturels des leishmanioses sont différents mammifères selon les espèces de *Leishmania* tels que les carnivores, les rodents ainsi qu'aux primates, les édentés, les hyracoïdes, les périssodactyles et les marsupiaux, chez les quels le parasite colonise les cellules du système des phagocytes mononucléés (Dantas-Torres, 2007; Dedet, 2009).

Les chiens constituent les principaux réservoirs de la leishmaniose canine, cependant il faut noter que certains canidés sauvages le sont aussi tels que le renard Européen (*Vulpes*), le chacal (*Canis aureus*), le loup (*Canis lupus*), les chiens ratons laveurs (*Nyctereutes procynoides*), le renard (*Lycalopex vetulus*, *Cerdocyonthous*) (Fisa *et al.*, 1997; Farrel, 2002; Vaselek, 2021).

2.4. Relation hôte-parasite

Les leishmanies sont des parasites hétéroxéniques et infectent deux types d'hôtes: les vertébrés et les invertébrés, et que l'on retrouve sous forme de promastigotes procycliques et méta-cycliques chez le vecteur dans son tractus intestinal et amastigotes (forme intracellulaire) à

l'intérieur de l'hôte vertébré dans les phagocytes du système réticulo-endothélial (Morais *et al.*, 2015; Akhoundiet *al.*, 2016).

2.4.1. Transmission

Habituellement, la transmission des leishmanies se fait par la piqûre infectante de l'insecte vecteur. Cependant, vu que la leishmaniose se caractérise par une large dissémination du parasite non seulement dans les endroits accessibles aux vecteurs quand il pique comme dans le sang périphérique et la peau, mais également dans les organes internes, la salive, le sperme, la conjonctive et les voies génitales. Ainsi, d'autres voies de transmission exceptionnelles et rares ont été mises en évidence en fonction du transfert de différents fluides corporels infectés dont on peut citer (Dey et Singh, 2006; Quinnell et Courtenay, 2009; Turchetti *et al.*, 2014).

- La transmission sexuelle;
- La transmission verticale et congénitale;
- La transmission par morsure;
- La transmission par transfusion sanguine ou vaccination ou par échange de seringues (chez les toxicomanes par exemple);
- La transmission par transplantation d'organes (Dey et Singh, 2006; Quinnell et Courtenay, 2009; Silva *et al.*, 2009; Turchetti *et al.*, 2014).

2.4.1. Interaction vecteur-parasite

Lorsque le phlébotome femelle prend un repas sanguin d'un hôte mammifère infecté, il ingère un macrophage contenant des amastigotes de *Leishmania*. Une fois dans l'intestin moyen du vecteur, ces derniers se différencient en promastigotes procycliques. Ensuite, les promastigotes procycliques se transforment en nectomonades promastigotes, qui s'échappent de la matrice péritrophique et se fixent ensuite aux microvillosités de l'intestin moyen avant de se déplacer vers l'intestin moyen thoracique et la valve stomodéale où ils se différencient en promastigotes leptomonades qui se transforment après en promastigotes haptomonades qui s'attachent à la valve stomodéale ou en promastigotes métacycliques qui sont la forme infectieuse des mammifères, qui sont transmis lorsque la mouche des sables prend en suite un repas de sang (Fig. 1.19) (Sunter et Gull, 2017).

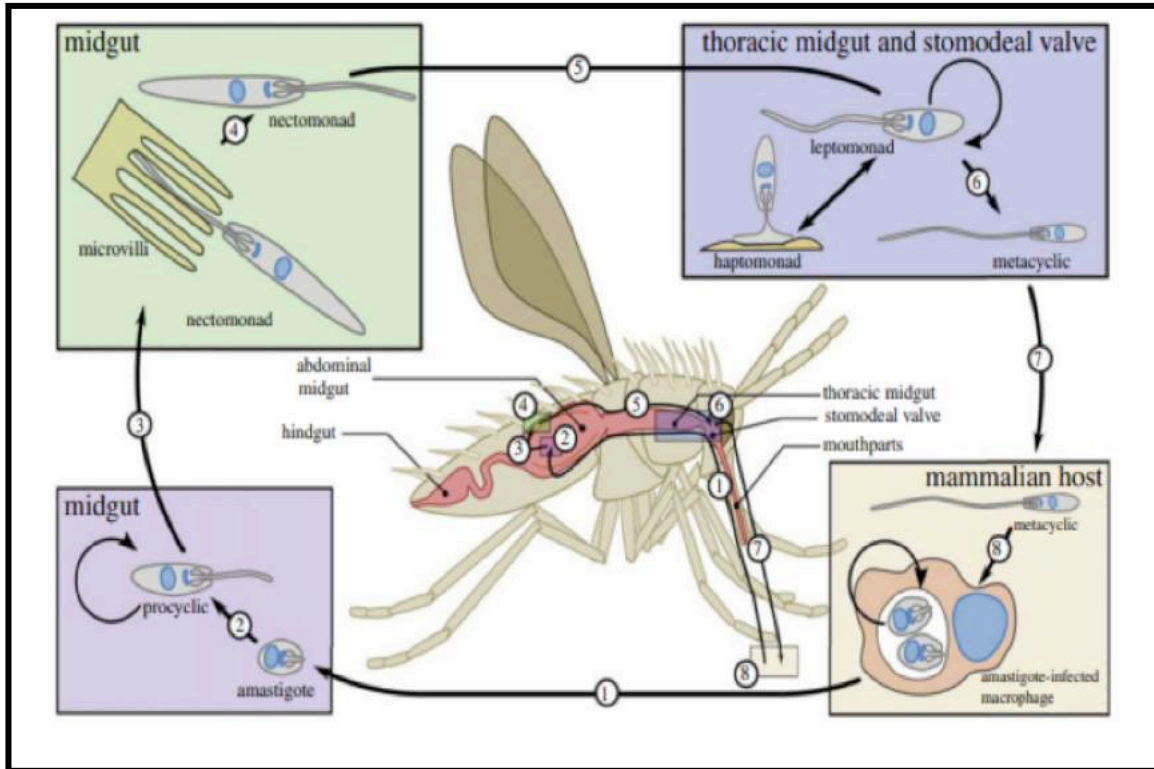


Figure 1.19: Schéma des morphologies promastigotes et amastigotes et du cycle de vie de *Leishmania* avec les différents types de cellules mis en évidence

(Sunter et Gull, 2017).

2.4.3. Interaction hôte-parasite

Lors d'un repas sanguin les phlébotomes injectent des leishmanies sous la forme promastigote qui vont être phagocytés par des histiocytes. Dans les histiocytes, ils perdent leur flagelle, se divisent et deviennent des amastigotes qui vont se multiplier par division binaire entraînant l'éclatement des cellules et puis ils infectent d'autres cellules phagocytaires mononuclées. Ces parasites ou ces macrophages infectés vont être à leur tour ingérés par les mouches de sable pendant leur alimentation (Fig. 1.20) (Gardiner *et al.*, 1988).

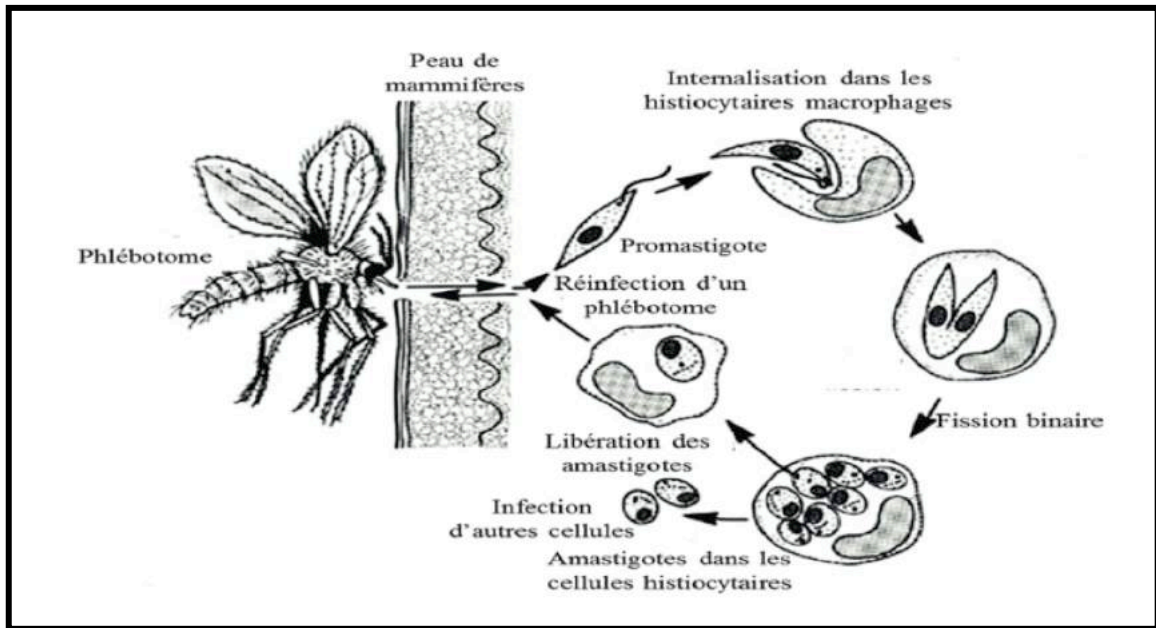


Figure 1.20: Cycle de vie de *Leishmania* à l'intérieur de l'hôte mammifère (Gardiner *et al.*, 1988).

2.5. Épidémiologie de la leishmaniose humaine

La leishmaniose humaine existe sous trois formes principales:

- La leishmaniose viscérale (LV) qui est aussi connue anciennement par le nom kala-azar. Elle domine au Brésil, en Afrique de l'Est et en Inde. Il est estimé que 50 000 à 90 000 nouveaux cas de LV surviennent chaque année dans le monde et que seuls 25 à 45 % de ces cas sont notifiés à l'OMS. De plus, cette maladie est mortelle dans plus de 95 % des cas si elle n'est pas traitée. En 2020, plus de 90 % de nouveaux cas étaient apparues et signalaient à l'OMS. Ces derniers provenaient du Brésil, de l'Inde, du Soudan, Soudan du Sud, de la Chine, de la Somalie, du Kenya, du Yémen, de l'Éthiopie et de l'Érythrée.
- La leishmaniose cutanée (LC) qui se focalise le plus dans le bassin méditerranéen, l'Asie centrale, le Moyen-Orient et les Amériques, de plus il est présumé qu'il y a entre 600 000 et 1 million de nouveaux cas chaque année dans le monde. En 2020, plus de 85 % de nouveaux cas étaient apparus. Ces derniers provenaient du Brésil, de la Colombie, du Pérou, du Pakistan, de la République arabe syrienne, de l'Afghanistan, de l'Iraq, de la Libye, de l'Algérie et la Tunisie.
- La leishmaniose cutanéomuqueuse qui est la plus retrouvée au Brésil, au Pérou, en Éthiopie et dans l'État plurinational de Bolivie avec un pourcentage de 90% (OMS, 2022).

2.6. Epidémiologie de la leishmaniose canine

2.6.1. Epidémiologie de la leishmaniose canine dans le monde

Il s'agit d'une parasitose des zones intertropicales (hormis l'Océanie) et tempérées chaudes. Elle est signalée dans plusieurs pays, soit 50 pays de 88 pays constituant des foyers de la leishmaniose comme les pays méditerranéens, Africain et américains.

L'Europe du Sud fait partie du foyer méditerranéen dans la partie occidentale et septentrionale et certaines grandes villes européennes comme Lisbonne, Madrid, Marseille et Athènes. On n'y rencontre que *Leishmania infantum*, dont le réservoir principal est le chien. Ainsi que certains pays de l'Amérique tropicale comme le Brésil.

La leishmaniose canine n'est pas uniforme et la distribution des chiens positifs dans les zones endémiques suit principalement la distribution des vecteurs qui n'est pas non plus uniforme à cause de l'urbanisation ou à la domestication de foyers zoonotiques naturels, la migration des populations rurales vers les banlieues des grandes villes et la prolifération de maisons unifamiliales avec des jardins où les chiens sont souvent gardés (Tableau 1.3) (Campino, 2002; Morales-Yuste *et al.*, 2012; Bourée *et al.*, 2014).

Tableau 1.3: Espèce de *Leishmania* selon les pays (Campino, 2002).

	Pays	<i>Leishmania</i>
Europe	Albanie	<i>L. infantum</i> MON-1
	B-Herzégovine	<i>Leishmania spp.</i>
	Chypre	<i>L. infantum</i> MON-1
	France	<i>L. infantum</i> MON-1
	Grèce	<i>L. infantum</i> MON-1
	Italie	<i>L. infantum</i> MON-1, MON-72
	Malte	<i>L. infantum</i> MON-1
	Portugal	<i>L. infantum</i> MON-1
	Espagne	<i>L. infantum</i> MON-1, MON-105
		<i>L. infantum</i> MON-199
	<i>L. infantum</i> MON-77	
	Turquie	<i>L. infantum</i> MON-1
	Ex-Yougoslavie	<i>L. donovani</i>
Afrique	Algérie	<i>L. infantum</i> MON-1, MON-77, MON-34

	Egypte	<i>L. infantum</i> MON-98
	Maroc	<i>L. infantum</i> MON-1
	Sénégal	<i>L. infantum</i>
	Soudan	<i>L. infantum</i> MON-267, <i>L. archibaldi</i> MON-82, MON-257
	Tunisie	<i>L. infantum</i> MON-1
Asie	Chine	<i>L. infantum</i>
	Israël	<i>L. infantum</i>
	Liban	<i>L. infantum</i>
	Pakistan	<i>L. infantum</i> MON-1
	Arabie Saoudite	<i>L. infantum</i> MON-1
	Syrie	<i>L. infantum</i> MON-1
	Yémen	<i>L. infantum</i> MON-1
Amérique	Brésil	<i>L. braziliensis</i> , <i>L. chagasi</i> (<i>L. infantum</i>)
	Bolivie	<i>L. chagasi</i> (<i>L. infantum</i>)
	Colombie	<i>L. chagasi</i> (<i>L. infantum</i>), <i>L. braziliensis</i>
	Pérou	<i>L. braziliensis</i> , <i>L. peruviana</i>
	USA	<i>L. chagasi</i> (<i>L. infantum</i>)
	Venezuela	<i>L. chagasi</i> (<i>L. infantum</i>), <i>L. braziliensis</i>

2.6.2. Epidémiologie de la leishmaniose canine en Algérie

Plusieurs études ont été menées depuis 1910 jusqu'à 2020 afin de désigner et déterminer la prévalence de la leishmaniose canine en Algérie. Cette dernière a connu plusieurs fluctuations et dissemblance au fil des années, allant de 2.52% jusqu'à atteindre 49%. Les résultats des différentes études démontrent aussi que cette maladie se focalise le plus au centre Nord et le Nord Est du pays et que la Kabylie constitue le foyer le plus actif de la leishmaniose canine (Tableau 1.4) (Poul, 1950; Dedet *et al.*, 1972; Harrat et Belkaid, 2003; Djerbouh *et al.*, 2005; Bachi, 2006; Ait Oudhia *et al.*, 2009; Adel *et al.*, 2010; Toudeftet *et al.*, 2011; Adel *et al.*, 2015; Mouloua *et al.*, 2017; Medkour *et al.*, 2019^(a); Medkour *et al.*, 2019^(b); Medkour *et al.*, 2020):

Tableau 1.4:Prévalence de la leishmaniose canine en Algérie de 1910 à 2020:

Période ou année de l'étude	Région de l'étude	Prévalence de la maladie	Auteurs	Références
1910	Alger	7.2%	Sergent E.D. et Sergent E.T.	(Harrat et Belkaid, 2003;Bachi, 2006)
1950	Alger	10.5%	Poul	(Poul, 1950)
1965-1974	Tizi-Ouzou	50%	Addadi <i>et al.</i>	(Moulouaet <i>al.</i> , 2017)
1972	Alger	2.52%	Dedet <i>et al.</i>	(Dedet <i>etal.</i> , 1972)
1975-1984	Tizi-Ouzou	26.4%	Belazzoug <i>et al.</i>	(Moulouaet <i>al.</i> , 2017)
1977	Tizi-Ouzou	11.4%	Dedet <i>et al.</i>	(Toudeftet <i>al.</i> , 2011)
1985	Tizi-Ouzou	37%	Belazzouget <i>al.</i>	(Toudeftet <i>al.</i> , 2011)
1990	Alger	37%	Harrat et Belkaid	(Harrat et Belkaid, 2003)
1985-1990	Tizi-Ouzou	25.4%	Harrat <i>et al.</i>	(Moulouaet <i>al.</i> , 2017)
1995	Alger	36.5%	Harrat <i>et al.</i>	(Djerbouhet <i>al.</i> , 2005)
1999-2002	Tizi-Ouzou	23.5%	Mouloua	(Toudeftet <i>al.</i> , 2011)
2002	Tizi-Ouzou	21%	Toudeft <i>et al.</i>	(Toudeftet <i>al.</i> , 2011)
2004-2005	Alger	27.3%	Adelet <i>al.</i>	(Adelet <i>al.</i> 2010)
2005	Tizi-Ouzou	30%	Toudeft <i>et al.</i>	(Toudeftet <i>al.</i> , 2011)
2005-2008	Alger	25.1%	Ait-Oudhia <i>et al.</i>	(Ait-Oudhiaet <i>al.</i> , 2009)
2007-2008	Tizi-Ouzou	9.17%	Toudeft <i>et al.</i>	(Toudeftet <i>al.</i> , 2011)
2008-2009	Tlemcen, Mostaganem, Tipaza, Boumerdes, Bejaia, Jijel	11-38%	Adel <i>et al.</i>	(Adelet <i>al.</i> , 2015)

2019	Régions Kabyles (Bouira, Tizi- Ouzou, Setif)	34.5%	Medkour <i>et al.</i>	(Medkour <i>et al.</i> , 2019 ^(a))
2020	Kabylie	36%	Medkour <i>et al.</i>	(Medkour <i>et al.</i> , 2020)

Chapitre II :
Biologie et
clinique de la
leishmaniose
canine.

La leishmaniose canine a été décrite pour la première fois en 1908 par Nicolle et Comte, en Tunisie (Fisa *et al.*, 1997). En Algérie, la première observation du premier cas de leishmaniose canine fut par les frères Sergent à Alger en 1910 (Harrat et Belkaid, 2003).

La leishmaniose canine est endémique dans tout le bassin méditerranéen, elle est causée par le même parasite qui cause la leishmaniose humaine, c'est bien *Leishmania infantum* et le chien constitue le principal réservoir de cette maladie. Ce dernier peut être atteint par la maladie et peut aussi présenter différents symptômes dont les principaux signes ou les plus courants sont: l'onychogryphose, la dépilation et l'amaigrissement. Il faut noter que la leishmaniose canine se caractérise par un tableau clinique très varié et très polymorphe et le chien peut être asymptomatique ou oligosymptomatique (Fisa *et al.*, 1997).

1. Pathogénèse

1.1. Pouvoir pathogène de la salive du vecteur

La salive des phlébotomes joue un rôle très important dans l'infection par les leishmanies, car elle contient un certain nombre de molécules ayant des propriétés vasodilatatrices, anticoagulantes et anti-inflammatoires qui ont un effet sur l'alimentation en sang, la transmission des parasites et la modulation de la réponse immunitaire d'un hôte naïf.

Cependant, il existe une différence en ce qui concerne les protéines/peptides salivaires et leurs propriétés pharmacologiques et antigéniques et cette dernière peut avoir un impact sur les manifestations cliniques de l'infection par *Leishmania* (Volf *et al.*, 2008).

1.2. Avant l'internalisation

Le processus d'infection commence par la piqûre du phlébotome infecté lors de son alimentation, ce qui entraîne l'inoculation de promastigotes dans le derme d'un hôte vertébré (Farrell, 2002). Une fois injectés, ils sont confrontés aux protéines du complément dont leur activation par la voie classique entraîne la fixation de C3 sur la membrane plasmique des parasites et son clivage en C3b. C3b peut alors se fixer au lipophosphoglycane (LPG) ou à la protéine gp63 qui constituent deux principales structures de surface des promastigotes et induire par la suite sa destruction en déclenchant la formation du complexe lytique C5b-9. Cependant, les promastigotes utilisent différents stratagèmes pour résister à la lyse par le complément comme la protéine parasitaire gp63 qui favorise la protéolyse de C3b et sa conversion en molécule inactive C3bi et les protéines kinases situées sur la face externe de leur membrane plasmique qui sont capables de phosphoryler le C3 et le C3b induisant ainsi leur inactivation. Néanmoins, ces protéines et ces mécanismes ne sont pas complètement efficaces pour empêcher la formation du

complexe lytique C5b9 et la vient le rôle du LPG qui bloque l'accès des complexes C5b-9 à la membrane plasmique des promastigotes et qui les protège partiellement de la lyse.

Ensuite les parasites sont confrontés aux macrophages qui vont les phagocyter après l'engagement des récepteurs CR1 et CR3 avec les protéines C3b et C3bi fixées à la surface des promastigotes et dont leur élimination entrainera une aggravation des lésions et une augmentation transitoire de la charge parasitaire.

1.3. Après l'internalisation

Une fois à l'intérieur des macrophages, les promastigotes induisent la formation de vacuoles parasitophores (VP) caractérisées par un pH acide inférieur à 5 et contiennent des quantités importantes de protéines lysosomales et leur membrane est associée à plusieurs protéines impliquées dans les processus de dégradation et d'apprêtement des antigènes. Ces dernières constituent le site où les promastigotes se transforment en amastigotes car se sont des organismes acidophiles dont le métabolisme est optimal entre pH 4 et 5,5 et qui pourront résister au pH acide des vacuoles parasitophores, ils sont aussi résistants aux hydrolases et notamment aux protéases lysosomiales, parce que les protéines qu'ils expriment à leur surface sont masquées par des glyco-inositol-phospholipides.

L'infection des macrophages par les leishmanies induit la production rapide de facteurs chimiotactiques (MIP-1 α , MCP-1) et de cytokines (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12) qui provoquent et amplifient la réaction inflammatoire en activant d'autres cellules du système immunitaire et aussi d'autres molécules toxiques telles que les dérivés actifs de l'oxygène et le monoxyde d'azote (NO).

Les leishmanies utilisent des molécules parasitaires comme le LPG et gp63 qui inhibent la production de dérivés actifs de l'oxygène en agissant sur la protéine kinase C ou en dégradant l'un de ses substrats: la protéine MRP et les glyco-inositol-phospholipides, qui sont présents en abondance dans leur membrane plasmique et qui inhibent la production de NO. De plus, la production de l'IL-12 sera aussi inhibée ou arrêtée ce qui va empêcher ou moduler le développement d'une immunité protectrice.

Après la survie et la multiplication des amastigotes, le macrophage infecté finit soit par détruire les parasites aboutissant à une résistance (grâce à la réponse immunitaire), ou bien par libérer de nouveaux amastigotes (par lyse du macrophage et donc la dissémination des parasites) qui sont rapidement absorbés par les macrophages voisins. La prolifération des leishmanies dans les autres macrophages provoque la destruction de ceux-ci ainsi qu'une réaction du système des

phagocytes mononucléés aboutissant à une prolifération intense dans la rate, le foie, les nœuds lymphatiques et entraînant une hypertrophie de ces organes (Fig.1.21) (Farrell, 2002; Saridomichelakis, 2009).

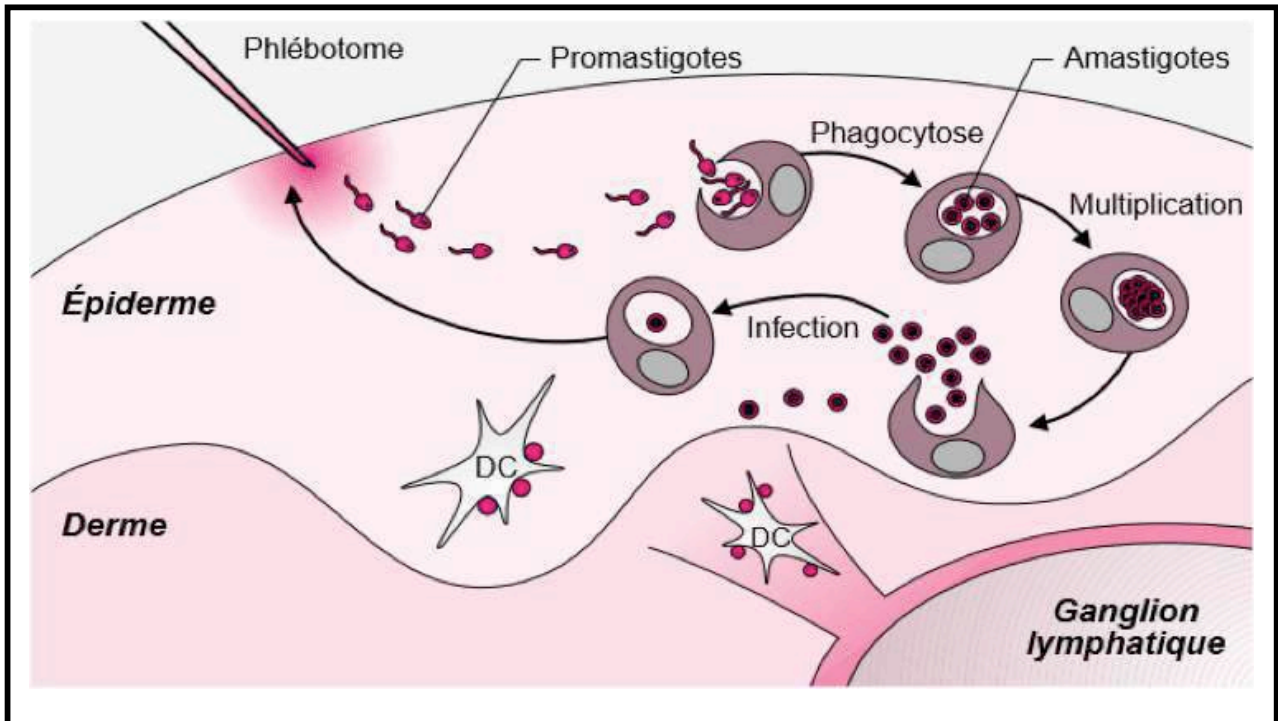


Figure 1.21: Les premières étapes de l'invasion (Filippi *et al.*, 2001).

Le schéma représente l'invasion des macrophages par les promastigotes, leur métamorphose en amastigotes, et la capture des leishmanies ou de leurs antigènes par les cellules dendritiques (DC). La capture des leishmanies par les cellules dendritiques induit leur maturation et leur migration vers le ganglion lymphatique drainant le site de l'infection.

2. Signes cliniques et lésions de la leishmaniose canine

2.1. Profil d'un chien leishmanien

La majorité des chiens qui déclarent la maladie peuvent présenter un large et hétérogène ensemble de signes cliniques et de lésions comme:

- Fièvre,
- Mauvais état général,
- Lymphadénomégalie,
- Léthargie,

- Atrophie musculaire,
- Muqueuses pâles et anémie,
- Perte de poids,
- Hépatosplénomégalie,
- Dermatite exfoliative,
- Onychogryphose (Fig. 1.22),
- Lésions oculaires,
- Epistaxis et troubles hémorragiques,
- Altérations neurologiques,
- Alopécie,
- Lésions ulcérées,
- Insuffisance pondérale,
- Cachexie,
- Vomissements,
- Troubles rénaux,
- Diarrhée,
- Signe de lunette (Fig. 1. 23).

(Baneth *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2010; Montargil *et al.*, 2018; Smyrli *et al.*, 2020).



Figure 1.22: Onychogryphose (Baneth, 2010).



Figure 1.23: Signe de lunette (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

Ces signes et lésions peuvent être classés selon le système touché en :

2.2. Lésions cutanéomuqueuses

Les symptômes cutanéomuqueux sont importants car ils sont très fréquents et caractéristiques de la leishmaniose canine. Ils concernent la peau et les différents phanères, pouvant apparaître seuls, ou associés à d'autres types de lésions, cependant ils peuvent parfois être inexistantes et dont on peut distinguer :

- Dermatite exfoliante non prurigineuse avec ou sans alopecie générale ou localisée,
- Dermatite ulcérateuse dont l'aspect et la répartition varient (jonctions cutanéomuqueuses et podales),
- Dermatite papuleuse ou nodulaire,
- Onychogryphose,
- Lésions ulcérées,
- Hyperkératose nasodigitale (Smyrli *et al.*, 2020).

2.3. Lésions qui touchent le système des phagocytes mononucléés

2.3.1. Atteinte des ganglions lymphatiques

Les principales observations lors de l'atteinte des ganglions lymphatiques sont: l'hypertrophie et l'hyperplasie des zones corticales et médullaires du nœud lymphatique chez les chiens asymptomatiques et l'atrophie de la zone corticale de ce dernier chez les chiens symptomatiques.

La densité parasitaire du NL est fortement liée avec le parasitisme cutané.

Du plus, il y a une fréquence accrue de lymphocytes T en particulier les lymphocytes T CD8+, une augmentation de l'expression du CMH-II par les lymphocytes et une diminution des niveaux de lymphocytes B CD21+, des changements dans la catégorie des lymphocytes B du NL présentant ainsi une corrélation négative avec la charge parasitaire de la peau.

Cependant, une association entre le parasitisme cutané et l'immunité médiée par les lymphocytes T du NL existe, ce qui suggère que les lymphocytes T, en particulier les lymphocytes CD8+, peuvent avoir un profil immunologique de type 2 dans ce tissu lymphoïde en réponse à la leishmaniose canine (Giunchetti *et al.*, 2008).

2.3.2. Atteinte de la moelle osseuse

Lors de l'atteinte de la moelle osseuse une inflammation granulomateuse est observée et peut être accompagnée par une augmentation du nombre de lymphocytes et de plasmocytes, une hypoplasie ou une dysplasie des lignées érythrocytaire et/ou mégacaryocytaire, une augmentation du ratio lignée myéloïde/lignée érythrocytaire et une érythrophagocytose. La majorité de ces changements sont positivement reliés avec la charge parasitaire locale et peuvent expliquer en partie l'anémie et la thrombocytopénie (Saridomichelakis, 2009).

2.3.3. Atteinte de la rate

La splénomégalie est très fréquente lors de la leishmaniose canine, elle résulte de l'infiltration de la rate par des monocytes et macrophages ainsi que de l'hyperplasie de la pulpe rouge et blanche et des changements de la structure micro-vasculaire de l'organe, avec une abondance de veines et de veinules au sein de la pulpe et une augmentation des fibres réticulaires.

En outre, la charge parasitaire est étroitement associée avec le nombre de macrophages qui expriment les récepteurs du complément (Saridomichelakis, 2009).

2.4. Lésions oculaires

- Lésions palpébrales (blépharite exfoliative, ulcérate ou nodulaire),
- Lésions orbitaires granulomateuses,
- Myosite musculaire extrinsèque,
- Lésions conjonctivales diffuses ou nodulaires,
- Lésions de la cornée associées ou non à une conjonctivite et a une kératoconjonctivite,

- Sclérite et episclérite nodulaires ou diffuses,
- Sclérite et episclérite diffuses ou granuleuses,
- Episclérite,
- Uvéite diffuse ou granulomateuse,
- Chorioretinite,
- Décollement de la rétine,
- Glaucome,
- Panophtalmie (Smyrli *et al.*, 2020).

2.5. Atteinte de l'appareil urinaire (atteinte rénale)

- Prostatite,
- Cystite,
- Syndrome polyurie-polydipsie,
- Insuffisance rénale due à une glomérulonéphrite (Prianti *et al.*, 2007; Smyrli *et al.*, 2020).

2.6. Signes digestifs (entéro-hépatique)

- Vomissements,
- Diarrhée,
- Colite,
- Pancréatite (Adamama-Moraitou *et al.*, 2007; Smyrli *et al.*, 2020).

2.7. Atteinte osteo-articulaire

- Boiterie secondaire à une polyarthrite,
- Ostéolyse,
- Synovite et gonflement ou œdème des articulations (McConkey *et al.*, 2002; Smyrli *et al.*, 2020).

3. Modifications et signes hématologiques

La leishmaniose canine peut entraîner des modifications de l'hémogramme représentées par:

- Anémie peu ou non régénérative,
- Anémie possible régénérative (par procédés à médiation immunitaire),
- Leucocytose des neutrophiles et des monocytes avec lymphopénie et diminution des éosinophiles,
- Leucopénie,
- Thrombocytopénie (Castagnaro *et al.*, 2008).

4. Diagnostic de la leishmaniose canine

Les manifestations cliniques de la leishmaniose canine sont nombreuses et peu caractéristiques de la maladie, plusieurs autres maladies peuvent avoir des signes et des lésions similaires à celle de la leishmaniose chez le chien, le recours aux examens complémentaires est indispensable pour poser un diagnostic de certitude, plusieurs techniques de diagnostic paracliniques sont utilisées, le problème qui se pose c'est la disponibilité de ces dernières surtout dans nos cabinets vétérinaires, ce qui rend le diagnostic de certitude de la maladie difficile.

4.1. Diagnostic clinique et différentiel

4.1.1. Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique de la leishmaniose canine comprend deux étapes qui sont:

- L'anamnèse qui permet de tracer l'histoire de la maladie en interrogeant le propriétaire pour savoir si le chien a déjà voyagé dans une zone endémique ou y a vécu et donc il était exposé au vecteur, si des traitements interférant avec l'efficacité du système immunitaire ont été administrés, sans oublier que la prévalence de la maladie est hétérogène et dépend de la race, en effet les races de chiens peuvent être atteintes par la maladie sauf que certaines races semblent être plus disposées à déclarer la maladie clinique que d'autres, soit les bergers allemands, les boxers; l'âge étant donné que les chiens peuvent être infectés à n'importe quel âge mais l'expression de l'infection possède deux modes présentant ainsi une distribution bimodale dont le premier pic s'énonce chez les chiens de moins de trois ans et un second chez les chiens âgés de huit à dix ans; par ailleurs une prédisposition de sexe vis-à-vis de l'infection n'existe pas chez les chiens (comme indiqué dans les parties précédentes).

En addition le propriétaire sera sollicité aussi sur l'existence de certains signes remarquables et convenables à la leishmaniose tels que l'anorexie, la polyurie, la polydipsie ou l'épistaxis existe.

- L'examen physique qui consiste à observer, ausculter et palper le chien afin d'apercevoir la présence de signes cliniques, évaluer leur état général et leur paramètres vitaux aussi (Castagnaro *et al.*, 2008; Paltrinieri *et al.*, 2010).

4.1.2. Diagnostic différentiel

Vu le tableau clinique très varié de la leishmaniose canine, le diagnostic différentiel est très important mais il peut s'avérer compliqué et difficile. Ce dernier permet de distinguer la leishmaniose par rapport à d'autres affections qui lui ressemble ou dont certains symptômes peuvent être les mêmes telles que: les dermatophytoses, la démodécie, le pemphigus foliacé, le lupus érythémateux, l'ehrlichiose, les lymphomes, la glomérulonéphrite et la polyarthrite. Le diagnostic différentiel est compliqué aussi à cause des infections concomitantes qui peuvent survenir dans les zones endémiques comme la démodécie, les dermatophytoses, l'ehrlichiose, l'hépatozoonose, la gale sarcoptique et la filariose (Roze, 2003).

4.2. Diagnostic biologique spécifique

4.2.1. Techniques directes

Les techniques directes de diagnostic permettent de déterminer la présence du parasite soit en le visualisant directement ou en détectant son matériel génétique dans plusieurs types de prélèvements (Paltrinieri *et al.*, 2010).

4.2.1.1. Microscopie

Il s'agit de l'observation microscopique de la forme amastigote du parasite soit en intra ou en extracellulaire sur des frottis colorés au May-Grünwald-Giemsa (MGG) de différents prélèvements de ponctions de moelle osseuse, de ganglions lymphatiques, de lésions cutanées papuleuses, nodulaires et ulcéreuses, de fluides biologiques tels que le liquide synovial, le liquide céphalo-rachidien ainsi que d'autres fluides biologiques (Castagnaro *et al.*, 2008; Paltrinieri *et al.*, 2010; Morales-Yuste *et al.*, 2022).

4.2.1.2. Mise en culture

La culture des leishmanies est le test le plus spécifique en raison du développement de promastigotes viables en ensemençant les prélèvements sur des milieux sang-agar biphasiques, comme le NNN (Novy-McNeal-Nicolle).

Elle n'est pas simple car la première lecture se fait après une semaine, si la lecture est négative, il faudra repiquer sur un milieu NNN neuf et incuber une autre fois. Cette technique prend du temps et nécessite cinq repiquages, à une semaine d'intervalle, avant de conclure à un résultat négatif. Elle présente ainsi l'inconvénient de nécessiter une longue période d'à peu près 30 jours) avant d'obtenir des résultats (Paltrinieri *et al.*, 2010; Morales-Yuste *et al.*, 2022).

4.2.1.3. Examen moléculaire

L'examen moléculaire est représenté par la PCR qui est très sensible et très spécifique, même si le risque de contamination existe, elle a amélioré la sensibilité du diagnostic parasitaire et est considérée comme l'étalon or dans le diagnostic de la leishmaniose canine. Cette dernière permet la mise en évidence du parasite en détectant son ADN même présent en faible quantité dans différents prélèvements biologiques (ganglion lymphatique, moelle osseuse, sang périphérique, liquide conjonctival...) (Castagnaro *et al.*, 2008; Paltrinieri *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2014; Morales-Yuste *et al.*, 2022).

La PCR est basée sur une réaction d'amplification de séquences spécifiques du génome de leishmanies et les plus utilisées sont: la PCR conventionnelle ou traditionnelle, la PCR nichée et la PCR quantitative en temps réel (Castagnaro *et al.*, 2008; Reis *et al.*, 2013; Morales-Yuste *et al.*, 2022).

4.2.2. Techniques indirectes

4.2.2.1. Immunofluorescence indirecte (IFI)

La technique d'immunofluorescence indirecte est une technique très spécifique et très sensible, c'est pour cela qu'elle est recommandée par l'office international des épizooties (OIE) comme méthode sérologique de référence et utilisée dans les études endémiques et en raison aussi des titres d'anticorps qui ne sont pas toujours associés à la sévérité des signes cliniques, ils sont utiles pour distinguer les chiens infectés de manière subclinique, qui présentent généralement des titres faibles d'anticorps, de ceux qui présentent des signes cliniques et une dissémination de la maladie (Paltrinieri *et al.*, 2010).

L'IFI est réalisée en plaçant des dilutions sérielles de sérum sur des lames recouvertes de promastigotes de *Leishmania*. La positivité et la liaison spécifique des anticorps et la

concentration de ces derniers (titre d'anticorps) sont révélées par l'utilisation d'anticorps fluorescents, l'intensité de la fluorescence est évaluée par microscopie et interprétée, cependant cette dernière peut constituer une limite du test ainsi qu'aux réactions croisées avec les anticorps dirigés contre *Trypanosoma cruzi* (Paltrinieri *et al.*, 2010).

4.2.2.2. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Il s'agit d'une technique facile, le sérum est placé dans des microplaques recouvertes par des antigènes de *Leishmania* et la positivité est révélée par une réaction colorimétrique lue et quantifiée par spectrophotomètre (Castagnaro *et al.*, 2008).

L'ELISA permet de quantifier les anticorps, c'est une technique sensible et spécifiques, cependant cette variabilité de performance de cette technique est reliée au type d'antigène utilisé ainsi l'emploi des tests basés sur l'association de nombreux antigènes de promastigote augmente le nombre d'épitopes pouvant fixer d'éventuels anticorps présents (Mettler *et al.*, 2005; Castagnaro *et al.*, 2008; Solano-Gallego *et al.*, 2014; Morales-Yuste *et al.*, 2022).

4.2.2.3. Test au Latex

Le test au Latex est un test rapide et simple à réaliser et dont la sensibilité peut être supérieure à celle de l'IFI.

Afin de réaliser le test, 10 µl de latex sensibilisé et 10 µl de sérum, dilué au 1/5 dans le tampon glycocolle, sont déposés sur une plaque de verre à fond noir et mélangés. La réaction positive se traduit, après rotation lente de la lame, par une agglutination visible à l'œil nu des particules de latex, dans à peu près cinq minutes. Un témoin positif et un témoin négatif sont utilisés dans chacune des séries de réactions.

Cette méthode peut être utilisée sur terrain pour le dépistage de la leishmaniose canine (cabinets vétérinaires, enquêtes épidémiologiques) (Dereure *et al.*, 1998).

4.2.2.4. Agglutination direct (DAT)

Le test d'agglutination direct ou le DAT est dans sa forme actuelle, une suspension lyophilisée de cultures de promastigotes de *L. donovani* fixés, colorés et traités à la trypsine. Il existe aussi des formulations liquides de DAT et qui sont fabriqués localement.

Le principe de ce test est de détecter les anticorps de *Leishmania* présents soit dans le sang ou le sérum grâce à une épreuve de dépistage qui est bien l'agglutination directe (Adams *et al.*, 2012).

En l'absence d'anticorps dirigés contre *Leishmania* dans le sang ou le sérum, l'antigène contenu dans le test DAT s'accumule au fond de la plaque pour former une tache bleu foncé

donnant ainsi un résultat négatif. Cependant si ces anticorps sont présents, l'antigène forme un film bleu pâle sur le puits, constituant ainsi un résultat positif (Adams *et al.*, 2012).

Cette technique représente une technique dont la spécificité et la sensibilité sont très élevées, même si une divergence inter-observateurs dans la lecture des résultats peut exister et peut être fréquente (El Harith *et al.*, 1989; Adams *et al.*, 2012).

4.2.2.5. Examens rapides

- Les examens rapides sont des tests immunologiques sur carte ou sur bandelette, pour mettre en évidence des antigènes ou des anticorps spécifiques. Ils sont réalisés sous forme de tests rapides, simples à mettre en œuvre qui ne nécessitent pas de matériels lourds, qui se conservent à température ambiante et dont le nombre de réactifs utilisés est réduit au strict minimum et l'interprétation des résultats est facile, pas compliquée et fiable (Chakour *et al.*, 2003).

Ces tests sont conçus dans le but d'être utilisé sur terrain, en cas d'urgence avec des moyens réduits. Parmi ces derniers on peut distinguer:

- Les tests de détection rapide d'antigènes bactériens, parasitaires, fongiques ou viraux comme: l'agglutination directe, l'agglutination de particules de latex sensibilisées par des anticorps spécifiques, l'immunocapture (ou immunochromatographie) sur membrane (Paek *et al.*, 2000; Chakour *et al.*, 2003).

- Les tests de détection rapide d'anticorps tels que: l'agglutination passive, l'inhibition de l'agglutination de particules sensibilisées par des anticorps conjugués à des billes colorées, l'immunodot sur membrane, l'immunochromatographie sur membrane (Paek *et al.*, 2000; Chakour *et al.*, 2003).

4.3. Diagnostic biologique non spécifique

4.3.1. Examens hématologiques

Il est nécessaire de réaliser un hémogramme dont les modifications insinuant une leishmaniose sont:

- Anémie peu ou non régénérative
- Anémie possible régénérative (par procédés à médiation immunitaire)
- Leucocytose des neutrophiles et des monocytes avec lymphopénie et diminution des éosinophiles (leucogramme de stress/inflammation)
- Leucopénie
- Thrombocytopénie (Castagnaro *et al.*, 2008; Montargil *et al.*, 2018).

De plus, un profil de coagulation peut être rajouter et montrant:

- Hyperfibrinogénémie,
- Temps de prothrombine (PT) et le temps de céphalineactivée (aPTT)

éventuellement prolongés (Castagnaro *et al.*, 2008).

4.3.2. Examens biochimiques

Les modification biochimiques annonçant une leishmaniose sont:

- Hyperprotéinémie,
- Hypoalbuminémie,
- Hyperglobulinémie, rapport albumine/ créatinine altéré,
- Azotémie (valeurs élevées de l'urée et de la créatinine du sérum),
- Augmentation des enzymes hépatiques (Castagnaro *et al.*, 2008; Montargil *et al.*,

2018).

D'autres examens peuvent être additionner comme: l'électrophorèse des protéines du sérum (Hypoalbuminémie, augmentation des α_2 globulines et gammopathie poly-oligoclonal) et l'analyse des urines (Urines isosthénuriques ou peu concentrées, protéinurie (évaluée avec bandes réactives et rapport protéine/créatinine (PU/CU)) (Castagnaro *et al.*, 2008).

5. Pronostic

Le pronostic s'appuiera sur les bases suivantes:

- L'âge de l'animal,
- L'état clinique de l'animal,
- La situation et l'ancienneté de la contamination et de la multiplication des parasites,
- La précocité diagnostique et thérapeutique,
- Le fonctionnement rénal,
- Les données biologiques,
- Les données sérologiques (Bourdoiseau et Denerolle, 2000).

6. Traitement de la leishmaniose canine

En principe le traitement de la leishmaniose canine vise à contrôler les signes cliniques et les différentes atteintes, améliorer l'immunité cellulaire du chien, réduire la charge parasitaire, éviter les rechutes et diminuer la transmission du parasite au vecteur. Néanmoins la guérison totale du chien est extrêmement difficile et le schéma de la thérapie dépend du stade de la maladie (Solano-Gallego *et al.*, 2011; Morales-Yuste *et al.*, 2022).

6.1. Traitement symptomatologique

6.1.1. Traitement de soutien rénal

Lorsqu'une insuffisance rénale prononcée est diagnostiquée chez un cas il est souvent essentiel de privilégier l'entretien de la fonction rénale en utilisant des anti-inflammatoires stéroïdiens (corticoïdes) afin de limiter la formation de complexes immuns circulants (CIC) et des lésions induites (prednisone à 1 mg/kg, PO durant 4-5 jours) (Bourdoiseau et Denerolle, 2000).

6.1.2. Traitement oculaire

Lors de signes cliniques oculaires comme l'uvéite leishmanienne, des injections sous-conjonctivales de corticoïdes retardés sont indiquées, ou encore lors de la leishmaniose nodulaire, l'exérèse chirurgicale est indispensable (Bourdoiseau et Denerolle, 2000).

6.1.3. Traitement de l'anémie

Administration de corticoïdes (cortisone, de 0.5 à 4mg/kg/j en IM, pendant 2 semaines, dexaméthasone 0,25 à 1mg en IM) afin de freiner la formation des complexes immuns (Schaer, 2006).

6.1.4. Vitaminothérapie

Solutés polyvitaminiques injectables, reconstituants antianémiques (fércobsang® 1mg pour 10 kg/jour en SC) (Schaer, 2006).

6.1.5. Traitement d'entretien

Perfusion d'entretien à base de sérum salé et glucosé, de solutés macromoléculaires (protéiques et lipidiques) à raison de 10 à 20 ml/kg en IV lente /24 heures; transfusion sanguine dans les cas graves (Schaer, 2006).

6.2. Traitement spécifique

6.2.1. Allopurinol

L'allopurinol est un analogue de l'hypoxanthine qui bloque la xanthine oxydase, perturbant ainsi le métabolisme des purines. Il a un potentiel leishmaniostatique et sa faible

toxicité le rendent très efficace chez les chiens présentant des lésions rénales. De plus, il est généralement bien toléré et son seul effet secondaire est l'urolithiase, en addition il n'y a pas de résistance à ce médicament (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

L'allopurinol est souvent associé à d'autres médicaments (en particulier les antimoniate), mais il peut être utilisé en monothérapie chez les chiens asymptomatiques ou en tant que traitement de suivi, ou même traitement préventif (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

6.2.2. Antimoniate (antimoniate de méglumine et stibogluconate de sodium)

Cette molécule a un principe leishmanicide, les antimoniate pentavalents sont des promédicaments qui sont métabolisés en antimoniate trivalents qui représentent la molécule active dont le mécanisme d'action semble être lié aux lésions de l'ADN et à l'oxydation des acides gras. Malgré la propagation de souches résistantes aux antimoniate et leur toxicité élevée ce médicament est largement utilisé en association avec l'allopurinol ou l'amphotéricine B (Bourdoiseau et Chermette, 2015; Morales-Yuste *et al.*, 2022).

6.2.3. Miltéfosine

La miltéfosine est un anticancéreux mais qui s'est avérée aussi être un médicament antileishmanien car il était efficace dans le traitement de la leishmaniose viscérale. Son mécanisme d'action est associé à la fixation des lipides et au déclenchement de l'apoptose.

La miltéfosine peut être utilisée en monothérapie et en association avec l'allopurinol (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

Le traitement à la miltéfosine engendre la réduction de l'état clinique et l'ineffectivité des phlébotomes, l'amélioration de la réponse immunitaire dans certains cas et la diminution de la protéinurie chez les chiens présentant des lésions rénales. Il faut aussi noter que la résistance à ce médicament existe et a déjà été signalée chez les chiens et il a un effet tératogène (Bourdoiseau et Chermette, 2015; Morales-Yuste *et al.*, 2022).

6.2.4. Paromomycine(aminosidine)

La paromomycine ou aminosidine est un antibiotique aminoglycosidique à activité antibactérienne et antileishmanienne. Son mécanisme d'action semble cibler les mitochondries et avoir aussi une interaction avec les sous-unités ribosomales 30S et 50S, bloquant ainsi la synthèse des protéines. C'est un traitement évalué comme efficace chez les chiens lorsqu'il est associé à l'allopurinol, montrant des résultats similaires ou inférieurs à ceux de l'association de l'antimoniate et l'allopurinol (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

6.2.5. Amphotéricine B

L'amphotéricine B est un macrolide largement utilisé dans les infections fongiques systémiques. Elle présente une grande affinité pour l'ergostérol, le stérol dominant de la membrane cellulaire de *Leishmania*, L'amphotéricine B forme des pores au niveau de cette dernière entraînant un déséquilibre ionique dans le parasite. Cette molécule est efficace contre les leishmanies humaines, cependant elle n'est pas largement utilisée dans la leishmaniose canine en raison de la surveillance étroite des reins requise et de la nécessité d'une administration intraveineuse, en plus des résistances ont été prouvées (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

6.2.6. Dompéridone

La dompéridone est un agoniste de la dopamine D2 qui peut améliorer la réponse immunitaire par l'augmentation de la prolactine qui renforce la réponse Th1, essentielle chez les chiens atteints par la leishmaniose. Ce médicament peut être utilisé dans le traitement ou la prévention de la leishmaniose (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

6.2.7. Autres

Parmi les autres médicaments, on trouve: l'iséthionate de pentamidine, la marbofloxacine, le kétoconazole, et les combinaisons comprenant le métronidazole, la spiramycine ou l'enrofloxacin (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

7. Prévention

7.1. Prévention sanitaire

La réduction de la densité des phlébotomes et leur fonction vectorielle constituent les meilleures méthodes pour prévenir l'infection et ceci peut être réalisé en:

- Utilisant des répulsifs sous diverses formes galéniques que ce soit collier, spot-on ou spray et diverses présentations associées ou non à d'autres molécules;
- Utilisant des insecticides;
- Réduisant les micro-habitats d'alimentation des vecteurs (Bourdoiseau et Chermette, 2015; Morales-Yuste *et al.*, 2022).

7.2. Prévention médicale

Plusieurs essais de vaccination ont été menés contre la leishmaniose canine. A ce jour, 4 vaccins ont été commercialisés : Leishmune®, Leish-Tec®, CaniLeish® et Letifend®. Seuls deux de ces produits ont été homologués en Europe, CaniLeish® et LetiFend®.

Leishmune® était un vaccin de deuxième génération qui a été retiré par le gouvernement brésilien en 2014 en raison de sa faible efficacité lors des essais cliniques (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

En France, une préparation vaccinale constituée de protéines excrétées-sécrétées de *L. infantum* associées à un adjuvant (CaniLeish®) est disponible depuis 2011. Cette vaccination se fait en 3 injections à 3 semaines d'intervalle et nécessite des conditions pour sa réalisation comme:

- Le chien doit être en bonne santé et ne doit pas être malade,
- Il doit être âgé d'au moins 6 mois,
- Il doit être indemne de toute infection leishmanienne (détection sérologique préalable effectuée par un test rapide différenciant les anticorps anti-kinésines issus d'une infection active de ceux induits par une vaccination).

L'immunité s'installe à partir de la 4^{ème} semaine qui suit la 3^e injection de la primo-vaccination et persiste un an. Cette vaccination ne dispense pas de l'utilisation de pyréthrinoïdes en protection contre les piqûres de phlébotomes et diminue de façon significative le risque d'infection et de maladie (Bourdoiseau et Chermette, 2015).

De plus, vu que la salive des phlébotomes a été signalée comme un puissant immunomodulateur, dont les composants peuvent faciliter l'établissement de l'infection par *Leishmania* au site d'inoculation, des anticorps anti-salive ont été suggérés comme adjuvants vaccinaux afin de les utiliser comme mesures de contrôle vectoriel (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

Partie
expérimentale

*Matériels
& Méthodes*

1. Période et zone d'étude

L'étude a été réalisée du mois de Février 2017 au mois de Décembre 2021. Dans des différentes régions de la wilaya de Tiaret.

La wilaya de Tiaret, située à l'ouest de l'Algérie avec une latitude de 35°22'15" Nord et une longitude de 1°19'01" Est. Elle couvre une superficie de 20 673 km² et s'étend sur une partie de l'Atlas tellien au nord et sur les hauts plateaux au centre et au sud. Elle est délimitée au nord par les wilayas de Tissemsilt et de Relizane, au sud, par Laghouat et El Bayadh, à l'ouest par Mascara et Saïda et à l'est par la wilaya de Djelfa.

Tiaret se trouve entre 950 et 1150 m d'altitude au-dessus du niveau de la mer, son climat est caractérisé par deux périodes : un hiver froid et rigoureux avec une température comprise entre [0,7-12,7°C] et un été chaud et sec avec une température comprise entre [13,5-36,2°C], la température annuelle moyenne est de 15,9°C. En période normale la wilaya de Tiaret reçoit 300 à 400 mm de pluies par an, avec une fluctuation saisonnière de la pluviométrie allant de 157 mm en hiver à 31 mm en été (Achir et Hellal, 2016).

La wilaya de Tiaret est composée de 14 daïras, chacune est composée de plusieurs communes (42 communes au total).

La présente étude s'est étalée sur l'ensemble du territoire de la wilaya et les sites de l'enquête sont mentionnés sur la carte ci-dessous (Fig. 2.1).

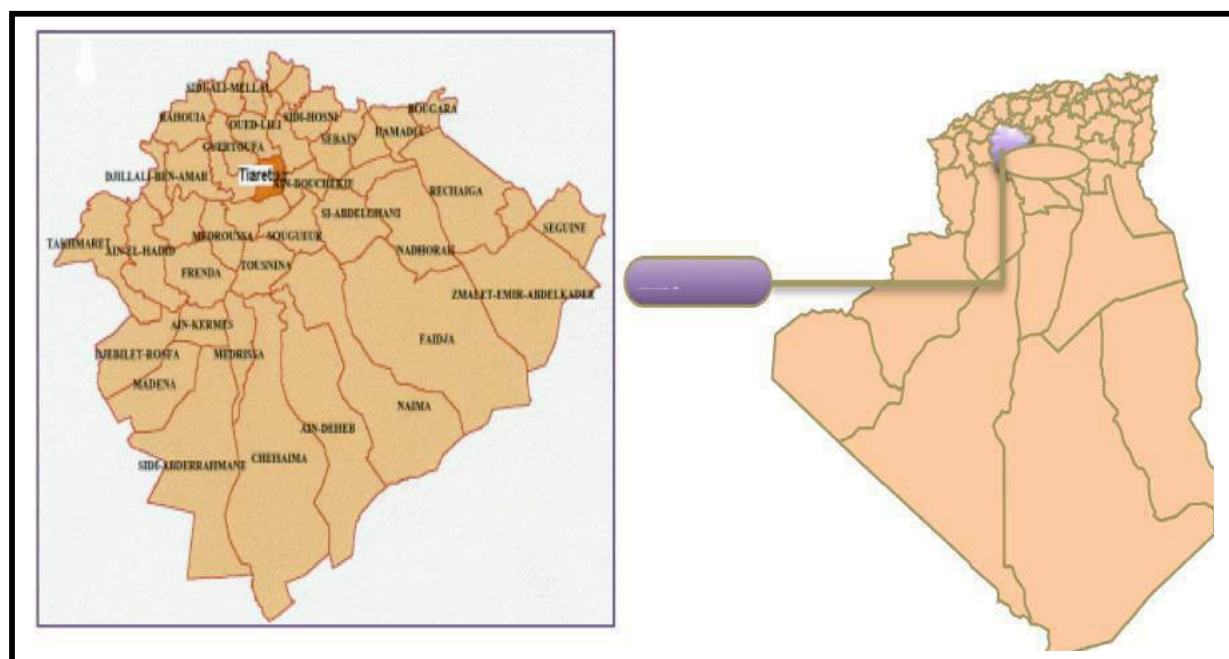


Figure 2. 1 : Carte géographique de la wilaya de Tiaret

2. Etude du réservoir

Au total, 359 chiens de différents sexes, d'un âge compris entre 4 mois et 14 ans et pesant entre 3Kg-20Kg, ont fait l'objet de notre étude. La race dominante dans notre étude était la race locale nommée berger de l'atlas. Seulement, 5 chiens dont 2 bergers allemands, deux pointers et un galgo espagnol représentent les autres races incluses aussi dans notre étude.

2.1. Identification

Des fiches cliniques ont été établies pour tous les chiens concernés par notre étude. Ces fiches contiennent : un numéro d'identification, le nom du chien, son âge, sa race, son sexe et son origine. Ainsi que les résultats de son examen clinique, son poids, sa fréquence respiratoire et sa température (annexe 1).

Les coordonnées des propriétaires du chien sont mentionnés pour un suivi des cas suspects d'avoir la leishmaniose canine.

2.2. Examen clinique général et dermatologique

Tous les chiens ont subi un examen clinique minutieux afin de détecter d'éventuelle symptomatologie pouvant avoir une relation avec la leishmaniose canine. Les résultats de cet examen sont organisés par appareil.

Un examen dermatologique minutieux a été effectué pour les cas qui présentaient des lésions cutanées où on a mentionné ; la date d'apparition des signes cutanés, l'apparence initiale de la lésion, la localisation initiale et la localisation actuelle, présence ou absence de prurit, mode de vie de chien, phase du cycle sexuel chez la chienne et les traitements antérieurs (surtout l'utilisation des corticoïdes).

2.3. Examens complémentaires

a) Raclage cutané

Un raclage cutané jusqu'à la rosée sanguine a été pratiqué chez les chiens qui présentaient des lésions cutanées dans le but de diagnostiquer une éventuelle atteinte parasitaire ou fongique (dermatophytoses, démodécie, gale).

b) Scotch test

Une application d'un ruban adhésif transparent sur la lésion cutanée a été réalisée dans le but de diagnostiquer une malasseziose cutanée et/ou une cheyletiellose.

c) Calque cutané

Il consiste à l'application d'une lame en verre sur la peau ou une lésion cutanée, afin de prélever des éléments cellulaires, microorganismes et autres débris présents. En ce qui

concerne la leishmaniose, on peut trouver des formes amastigotes de *Leishmania* dans des lésions cutanées (ulcères cutanés).

d) Cytologie ganglionnaire

Chez les chiens qui présentaient une hypertrophie ganglionnaire (dont le nombre était 47), on a réalisé la ponction ganglionnaire à l'aide d'une aiguille fine. On a préféré de ponctionner les ganglions pré-scapulaires et poplités vu la facilité et l'accessibilité de ces derniers. Exceptionnellement, une sédation a été utilisée chez les chiens agressifs avec de l'acépromazine, à la dose de 0.5mg/Kg pour les tranquilliser.

e) Coloration MGG

Les lames contenant les différents prélèvements sont colorées par la coloration MayGrünwald-Giemsa (kit RAL 555) ((Réf. 361550) RAL DIAGNOSTICS - Site Montesquieu - 33651 Martillac France) et Les lames colorées ont été examinés au microscope optique de la marque (BENTLEY LABSCOP 200) aux grossissements : $\times 10$ et $\times 40$ puis $\times 100$ pour la recherche des formes amastigotes du parasite à l'intérieur ou à la périphérie des macrophages.

f) Cytologie splénique

Pour les cas positifs, morts ou euthanasiés et après la réalisation de l'autopsie, on a procédé à la ponction de la rate, afin de préparer des lames pour la recherche d'éventuelle présence des leishmanies au niveau splénique.



Figure 2.2: Une ponction de la rate echo-guidée



Figure 2.3 : Ponction du ganglion pré-scapulaire droit d'un chien

g) Examen échographique

L'examen échographique est réalisé afin de détecter une atteinte viscérale chez les chiens suspects d'être leishmaniens. On a examiné la rate, le foie et les reins pour déceler d'éventuelles anomalies et évaluer le degré de l'atteinte viscérale.

2.4. Prélèvements sanguins

La prise de sang a été réalisée au niveau de la veine radiale ; le sang est recueilli dans des tubes secs (350 prélèvements) et a été destiné à l'examen sérologique tandis que le sang de 137 chiens a été recueilli dans des tubes à EDTA (pour l'examen moléculaire par PCR).



Figure 2.4 : Prélèvement sanguin au niveau de la veine radiale (photo originale)

2.5. Techniques de diagnostic utilisées

Les prélèvements de sang ont été acheminés au laboratoire de référence en parasitologie, centre collaborateur de l'OMS pour la leishmaniose, institut de salud carlos III à Madrid pour réaliser les examens sérologiques et moléculaires des prélèvements. 176 sérums choisis au hasard ont été envoyés au laboratoire de parasito-mycologie de CHU Mustapha Bacha à Alger pour réaliser le test d'immunchromatographie (IT-LEISH).

On a utilisé les techniques suivantes pour la détection de la leishmaniose canine :

2.5.1. Polymérase Chain Réaction (PCR)

La PCR est une technique très sensible, elle constitue la technique de choix pour l'établissement de la parasitémie (Tulasne, 2009), en d'autres termes, la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est un outil précieux qui permet de détecter des leishmanies chez des chiens symptomatiques ou asymptomatiques (Martinetti, 2013). Elle met en

évidence l'ADN de *Leishmania*, même présent en faible quantité, dans les ponctions ganglionnaires ou de moelle osseuse (Tulasne, 2009).

C'est une technique qui permet l'amplification d'une séquence d'ADN ou d'ARN connue à partir d'une faible quantité d'acides nucléiques.

On a réalisé la PCR nichée qui est une modification de la PCR classique dans le but de réduire la quantité de produits non spécifiques consécutifs à la liaison des amorces à des sites inattendus (annexe 2).

-Extraction de l'ADN : on a réalisé une extraction phénolique de sang total inséré dans des tubes à EDTA (annexe2).

2.5.2. Immunofluorescence indirecte (IFI)

L'immunofluorescence indirecte, ou IFI, est la méthode quantitative de référence agréée par l'Office International des Épizooties. Elle est effectuée en utilisant des formes promastigotes de la culture comme antigène. Le seuil de positivité est fixé à 1/80. C'est une méthode considérée comme sensible et spécifique (annexe 3).

2.5.3. Technique ELISA

La technique ELISA a été performée comme il est décrit par Alvar et al.(2004). C'est une ELISA fait maison, la lecture de la plaque était faite à 493nm-620nm. Le seuil de positivité de cette technique était 0.200 (annexe 4).

2.5.4. Test immunochromatographique (IT-leish)

On a testé la sensibilité d'un test humain pour le diagnostic de la leishmaniose canine, IT LEISH est un test immunochromatographique, utilisant l'antigène recombinant rK39, pour détecter la présence d'anticorps dirigé contre *Leishmania spp.*

La technique a été réalisée pour 176 chiens choisis au hasard (annexe 5).

3. Tests statistiques utilisés

3.1. Coefficient de Kappa

Il a été calculé pour déterminer le degré de concordance entre les différentes techniques de diagnostic utilisées dans cette étude.

Les valeurs de Kappa ont été interprétées comme suit (Tableau 2.1) (McHugh, 2012):

Tableau 2.1 : Interpretation de Cohen's kappa (McHugh, 2012).

Valeur de kappa	Niveau d'accord
0-0.20	Aucun
0.21-0.39	Minimal
0.40-0.59	Faible
0.60-0.79	Modéré
0.80-0.90	Fort
>0.90	Presque parfait

3.2. La sensibilité et la spécificité des tests de diagnostic

Ils ont été calculées en utilisant les formules suivantes (Thrusfield *et al.*, 2018)

$$\text{Sensibilité} = \frac{\text{Nombre des Vrais positifs}}{\text{Nombre des vrais positifs} + \text{nombre des faux négatifs}}$$

$$\text{Spécificité} = \frac{\text{Nombre des vrais négatifs}}{\text{Nombre des vrais négatifs} + \text{nombre des faux positifs}}$$

3.3. Le test de Khi2 d'indépendance

Il a été utilisé pour comparer le taux de positivité en fonction de la région, l'âge et le sexe. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de logiciel statistique R version 4.0.4.

4. Etude de vecteur

L'étude de vecteur a été réalisée pendant la période s'étalant de la fin du mois d'août au début de septembre 2020. Durant cette période, on a effectué 8 nuits de piégeage, réparties sur 6 localités différentes de la wilaya de Tiaret, qui représentent les différents étages bioclimatiques de la wilaya et appartiennent aux daïras suivantes :

- Le nord de la wilaya : RAHOUIA-TIARET CHEF LIEU
- Le sud de la wilaya : KSAR CHELLALA
- Le centre de la wilaya : FRENDA

Pour la méthode de capture, on a utilisé les pièges CDC (capture des spécimens vivants), ce type de piégeage nécessite une surveillance pendant toute la nuit et ne peut être pas abandonnée dans la nature.

Le piège CDC comporte :

- Un moteur assurant le fonctionnement d'un petit ventilateur destiné à entretenir une aspiration continue de faible intensité.
- Une petite ampoule de 0,3 ampère qui est placée au dessus de ventilateur.
- Une batterie pour alimenter le ventilateur et la lampe.
- L'ensemble moteur-ventilateur-lampe se trouve à l'intérieur d'un cylindre transparent en matière plastique dont la partie supérieure est couverte d'un grillage métallique évitant la pénétration des insectes de grande taille.
- Une cage recouverte d'un tissu à mailles très serrées dont la partie supérieure vient s'adapter à l'aide d'un élastique à la partie inférieure du cylindre.
- Un couvercle métallique très aplati qui couvre le tout et protège l'appareil de la pluie et des projections.

On a placé ces pièges dans les étables, les écuries, et même près des cages des lapins.

Les pièges sont installés avant le couché de soleil et restent fonctionnels pendant toute la nuit avec une surveillance pour contrôler le fonctionnement de ventilateur et on a récupéré les spécimens le lendemain matin.



Figure 2.5 : montage d'un piège CDC au niveau d'une étable



Figure 2.6 : un piège lumineux CDC

Après une réfrigération d'une vingtaine de minutes pour immobiliser les insectes, on a réalisé le tri des insectes récoltés, les phlébotomes capturés ont été séparés par sexe.

Le plus grand nombre des femelles a été conservé dans des tubes eppendorf à -20°C pour un examen moléculaire (en cours).

Une partie des spécimens récoltés a été conservée dans des tubes en matière plastique contenant de l'alcool éthylique à 70° et étiquetés jusqu'au montage au niveau du l'institut pasteur d'Algérie.

Les phlébotomes sont éclaircis dans la postasse à 20% pendant 2 heures puis montés dans le liquide de Marc André pour leur identification selon la clé d'identification d'Abonnenc (1972) et Léger *et al.* (1983).

5. Etude rétrospective de la leishmaniose cutanée dans la région de Tiaret

Cette partie s'est basée sur les données enregistrées au niveau du service de prévention de la direction de la santé et de la population (DSP) de la wilaya de Tiaret. Ces données sont organisées par : année, mois, sexe, âge et commune dans des tableaux numérisés (format Word).

Les données collectées ont été classées en tableaux (format Excel 2019).

La répartition annuelle a concerné une période de 10 ans (2010 à 2020). Par contre les autres résultats ont concerné uniquement cinq ans (2016 à 2020), vue l'absence des données numériques détaillées (par mois, sexe, âge et commune) durant les autres années précédentes.

Résultats

1. Etude du réservoir

Au cours de notre étude on a utilisé différentes techniques de diagnostic de la leishmaniose canine à savoir : la cytologie (ganglionnaire et splénique), la sérologie par (Elisa-IFI) et le diagnostic moléculaire (la PCR nichée).

Parmi les 359 chiens retenus dans notre étude 128 chiens ou bien 35.7% se sont avérés positifs par au moins une technique de diagnostic de la leishmaniose canine.

1.1. Techniques de diagnostic utilisées

1.1.1. Cytologie ganglionnaire

Tableau 2.2 : Résultats de la cytologie ganglionnaire

Nombre des ponctions ganglionnaires réalisées	Résultats positifs	Taux (%)
47	26	55.31

On a pratiqué la cytologie ganglionnaire chez 47 chiens qui ont présenté une hypertrophie des ganglions, 26 cas étaient positifs dont on a pu visualiser la forme amastigote du parasite, ce qui représente un taux de 55.31%.

Après l'examen microscopique des lames préparées à partir des ponctions ganglionnaires, on a constaté la présence d'une adénite granulomateuse avec présence des formes amastigotes de *leishmania*.

Les figures suivantes représentent la lecture microscopique des frottis préparés à partir des ponctions ganglionnaires.

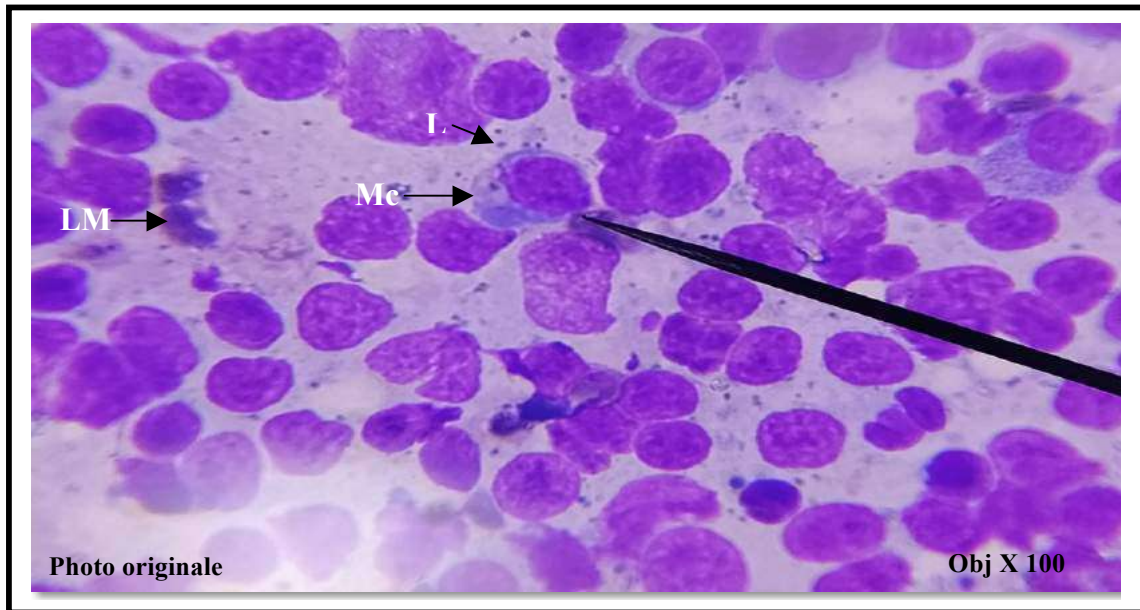


Figure 2.7 : Vue d'un frottis d'une ponction ganglionnaire au grossissement 100 après une coloration MGG qui montre une adénite granulomateuse avec présence des petits lymphocytes matures(LM), des macrophages(Mc) avec présences des formes amastigotes de *Leishmania* (L).



Figure 2.8 : Vue d'un frottis d'une ponction ganglionnaire au grossissement 100 après une coloration MGG qui montre une adénite granulomateuse avec présence des petits lymphocytes matures(LM), des polynucléaires neutrophiles toxiques poly lobulés(PNNT), des macrophages(Mc) avec présences des formes amastigotes de *Leishmania* (L)

-Comparaison de la cytologie ganglionnaire avec les autres techniques de diagnostic de la leishmaniose canine

Parmi les 47 chiens qui ont subi la cytologie ganglionnaire (CG), 23 chiens ont subi la cytologie ganglionnaire couplée avec l'examen moléculaire par PCR.

Les résultats de la comparaison entre les deux techniques sont répertoriés dans le tableau suivant.

Tableau 2.3 : Comparaison entre les résultats de la cytologie ganglionnaire et la PCR

Technique de diagnostic	CG		Sensibilité (CG)=47% Spécificité (CG)=75%
	Positifs	Négatifs	
PCR			Coefficient de Kappa= 0,13
Positifs	9	10	
Négatifs	1	3	

Si on prend la PCR comme une technique standard et on calcule la sensibilité et la spécificité de la cytologie ganglionnaire :

La Sensibilité de la cytologie ganglionnaire= 47%

La spécificité de la cytologie ganglionnaire=75%

39 chiens ont subit la cytologie ganglionnaire couplée avec l'examen sérologique par ELISA et IFI.

Les résultats de la comparaison entre les deux techniques sont répertoriés dans le tableau suivant.

Tableau 2.4 : Comparaison entre les résultats de la cytologie ganglionnaire et l'examen sérologique par (IFI et ELISA)

Technique de diagnostic	CG		Sensibilité (CG)=85% Spécificité (CG)= 68%
	Positifs	Négatifs	
Sérologie			Coefficient de Kappa= 0,50
Positifs	12	02	
Négatifs	08	17	

1.1.2. La sérologie par IFI et ELISA

350 chiens ont subi deux techniques sérologiques à savoir l'ELISA et L'immunofluorescence indirecte (IFI). Cela nous a permis de détecter 30 chiens positifs par IFI avec un taux d'anticorps supérieur au seuil de 1/80, ce qui représente un pourcentage de 8.57% de l'effectif total (350 chiens).

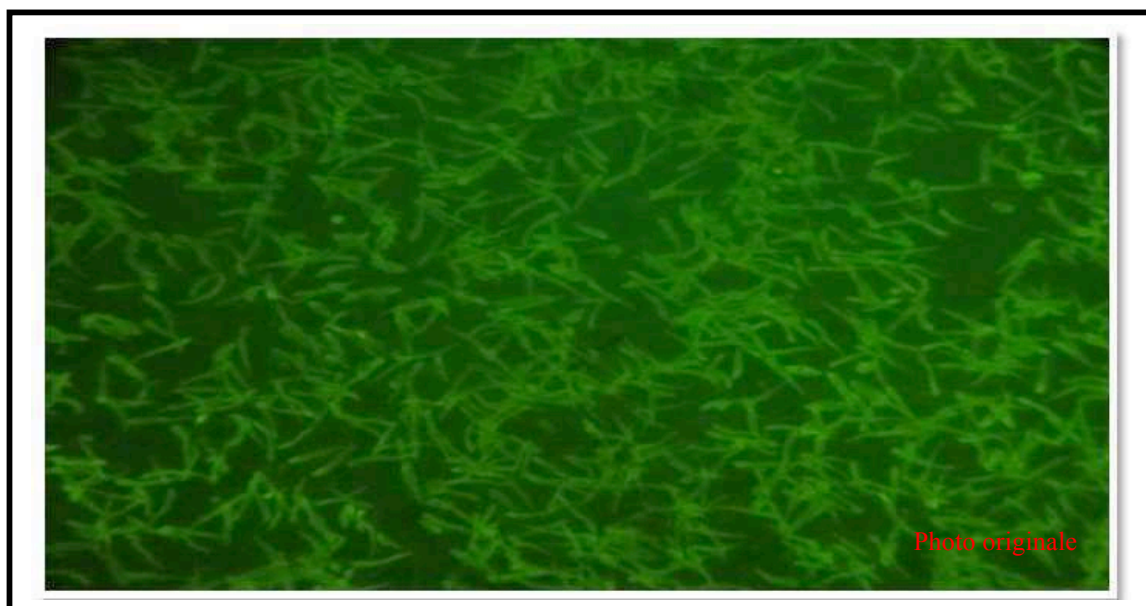


Figure 2. 9 : Formes promastigotes fluorescentes à la technique IFI

Parmi ces chiens, 35 se sont avérés positifs par l'ELISA, ce qui représente un pourcentage de 10% de l'effectif total des chiens.

-Comparaison entre les résultats de l'IFI et l'ELISA

Sur les 350 prélèvements examinés par les deux techniques sérologiques, 30 chiens étaient positifs par les deux techniques, 5 chiens ont eu un résultat positif par l'ELISA avec un résultat négatif par l'IFI, tandis que 315 chiens ont présenté un résultat négatif par les deux techniques.

Tableau 2.5 : Comparaison entre les résultats de l'ELISA et de l'IFI

Technique de diagnostic	ELISA		Sensibilité (ELISA)=100% Spécificité (ELISA)=98.4%
	Positifs	Négatifs	
IFI			Coefficient de Kappa= 0,88
Positifs	30	00	
Négatifs	05	315	

1.1.3. Examen moléculaire (la PCR nichée)

Chez 137 chiens, en plus de l'examen sérologique, on a effectué la recherche de l'ADN parasitaire par PCR.

L'ADN leishmanien a été trouvé chez 93 chiens, ce qui représente un taux de 67.88% du nombre total(137).

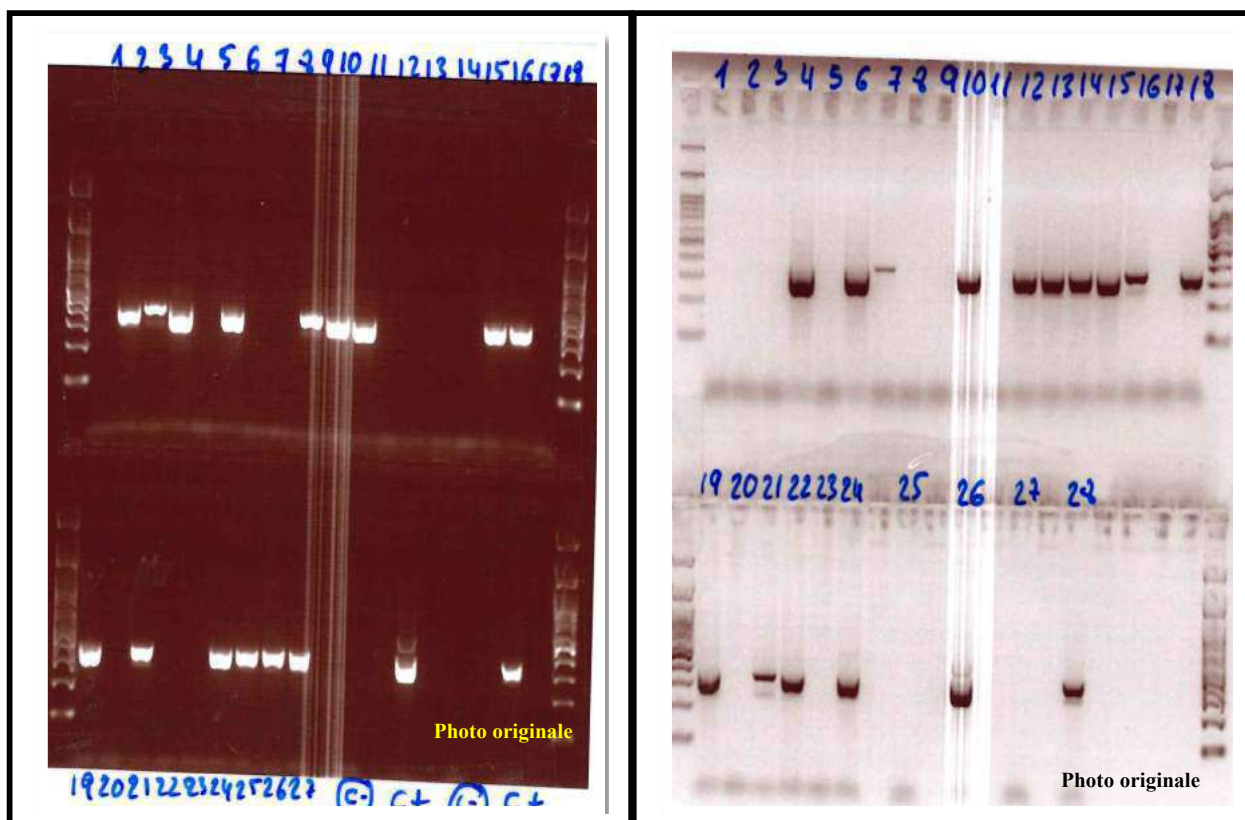


Figure 2.10 : Exemples des résultats de test PCR nichée appliqué pour le diagnostic de la leishmaniose canine

-Comparaison entre les résultats de la PCR et les techniques sérologiques par (IFI-ELISA)

137 chiens ont subi l'examen moléculaire couplé avec les examens sérologiques, les résultats de chaque technique sont répertoriés dans le tableau suivant.

Tableau 2.6: Comparaison entre les résultats de la PCR et la sérologie par (IFI, ELISA)

Technique de diagnostic	Sérologie		Sensibilité (sérologie)=14% Spécificité (sérologie)=97,7%
	Positifs	Négatifs	
PCR			Coefficient de Kappa= 0,076
Positifs	13	80	
Négatifs	1	43	

Parmi les 137 chiens qui ont subi les trois techniques de diagnostic de la leishmaniose canine (PCR-IFI-ELISA), 62 chiens ont présenté des signes cliniques évocateurs de la leishmaniose canine tandis que 75 chiens étaient asymptomatiques ou bien présentant un seul symptôme à savoir l'onychogryphose.

Les résultats de diagnostic de la maladie pour chaque groupe de chiens sont mentionnés dans le tableau suivant.

Tableau 2.7 : Résultats des trois techniques de diagnostic chez les deux groupes des chiens (symptomatiques et asymptomatiques)

	PCR + (%) (se)	IFAT + (%) (se)	ELISA + (%) (se)	Total des chiens positifs par au moins une seule technique(%)	
Chiens symptomatiques (62)	41 (66) (98%)	07 (11) (17%)	08 (13) (19%)	42 (67)	P-value=0,096
Chiens asymptomatiques ou bien présentant un seul symptôme(onychogryphose) (75)	52 (69) (100%)	03 (4) (6%)	06 (8) (11.5%)	52 (69)	
Total (137)	93 (68)	10 (7)	14 (10)	94 (68)	
* Sensibilité (se)	99%	11%	15%	/	

* : La sensibilité de chaque technique a été calculée comme le nombre des cas positifs d'une méthode par rapport au nombre total des cas positifs par au moins une méthode.

Le P-Value=0.096 ($P>0.05$), ce qui signifie qu'il n'ya aucune différence statistiquement significative entre les résultats chez les deux groupes des chiens.

1.1.4. Le test immunochromatographique (Test IT-leish)

Parmi les 176 prélèvements pris au hasard testés par IT-leish, 38 chiens se sont avérés positifs par cette technique, ce qui représente un pourcentage de 21.5%.

-Comparaison entre les résultats d'IT-Leish et la PCR

46 chiens ont subi l'IT-leish couplé avec l'examen moléculaire (la PCR nichée)

Les résultats de la comparaison entre les deux techniques sont répertoriés dans le tableau suivant :

Tableau 2.8 : Comparaison des résultats de l'IT-leish avec la PCR

Technique de diagnostic	IT-leish		Sensibilité (IT-leish)=35,7% Spécificité (IT-leish)=94,4%
	Positifs	Négatifs	
PCR			Coefficient de Kappa= 0,26
Positifs	10	18	
Négatifs	1	17	

-Comparaison entre les résultats de IT-Leish et la cytologie ganglionnaire :

35 chiens ont subi l'IT-leish couplé avec la cytologie ganglionnaire

Les résultats de la comparaison entre les deux techniques sont répertoriés dans le tableau suivant

Tableau 2.9 : Comparaison des résultats de l'IT-leish avec la cytologie ganglionnaire

Technique de diagnostic	IT-leish		Sensibilité (IT-leish)=70% Spécificité (IT-leish)=80%
	Positifs	Négatifs	
CG			Coefficient de Kappa= 0,50
Positifs	14	6	
Négatifs	3	12	

-Comparaison entre les résultats de l'IT-leish avec les deux autres techniques sérologiques (ELISA-IFI)

176 prélèvements ont subi en plus de l'IT-leish les deux techniques sérologiques (IFI-ELISA). Le tableau suivant résume les résultats de test immunochromatographique comparés à l'IFI et l'ELISA.

Tableau 2.10 : Comparaison des résultats de l'IT-leish avec la sérologie par (IFI et ELISA)

Technique de diagnostic	IT-Leish		Sensibilité (IT-Leish)=80.9% Spécificité (IT-Leish)=86.4%
	Positifs	Négatifs	
Sérologie			Coefficient de Kappa= 0,48
Positifs	17	04	
Négatifs	21	134	

-Comparaison entre l'IT-LEIH et la sérologie par (IFI-ELISA) avec la PCR (technique de référence)

46 chiens ont été soumis à l'IT-LEIH et aux techniques de sérologie par (IFI-ELISA) ainsi qu'à la PCR.

RQ: On considère la PCR comme un étalon-or pour le diagnostic de la leishmaniose canine.

Tableau 2.11: Comparaison entre les résultats de l'IT-LEISH, de la sérologie par (IFI, ELISA) avec la PCR.

	PCR		SE (%)	SP (%)
	*Positive	*Negative		
IT-LEISH				
*Positive	10	01	35%	94.4%
*Negative	18	17		
SEROLOGIE (IFI-ELISA)				
*Positive	08	00	28%	100%
*Négative	20	18		

Les deux techniques (IT-LEISH et la sérologie), ont donné une faible sensibilité, tandis que leurs spécificités étaient bonnes comparées à la PCR.

Les mêmes chiens (46 chiens) ont été classés selon la présence ou l'absence de symptômes cliniques en deux groupes, symptomatiques et asymptomatiques. Les résultats de ces chiens sont répertoriés dans les deux tableaux suivants :

Tableau 2.12 : Comparaison entre les résultats d'IT-LEISH, SEROLOGIE par (IFI-ELISA) avec la PCR considérée comme l'étalon-or pour le diagnostic de la leishmaniose canine, chez les chiens symptomatiques.

		PCR		SE (%)	SP (%)
		*Positive	*Negative		
Chiens symptomatiques	IT-LEISH				
	*Positive	09	01	60%	80%
	*Negative	06	04		
	SEROLOGIE (IFI-ELISA)				
	*Positive	07	00	46%	100%
	*Negative	08	05		

Chez les chiens symptomatiques, on peut remarquer que la sensibilité de l'IT-LEISH qui était supérieure à celle de la sérologie par (IFI-ELISA), au contraire la spécificité de l'IT-LEISH était inférieure à celle de la sérologie par (IFI-ELISA).

Tableau 2.13: Comparaison entre les résultats de l'IT-LEISH, SEROLOGIE par (IFI-ELISA) avec la PCR considérée comme l'étalon-or pour le diagnostic de la leishmaniose canine, chez les chiens asymptomatiques

		PCR		SE (%)	SP (%)
		*Positive	*Negative		
Chiens asymptomatiques	IT-LEISH				
	*Positive	01	00		
	*Negative	12	13	7.69%	52%
	SEROLOGIE (IFI-ELISA)				
	*Positive	01	00	7.69%	52%
	*Négative	12	13		

On peut remarquer que les deux techniques (IT-LEISH et la sérologie par (IFI et ELISA)) ont donné des résultats similaires chez les chiens asymptomatiques comparés au PCR.

1.2. Fréquence des chiens positifs par au moins une technique de diagnostic selon leur origine géographique

Sur les 359 chiens retenus dans cette étude, 128 chiens se sont avérés positifs par au moins une technique de diagnostic à savoir IFI, ELISA, PCR, cytologie ganglionnaire.

Le nombre total des chiens prélevés et le nombre des chiens positifs par daïra sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 2.14 : Répartition des prélèvements et les chiens positifs par région

Les régions	Nombre de prélèvements	Nombre decas positifs	Fréquence (%)
Nord de Tiaret	128	46	35,9
Tiaret chef lieu	50	23	46
Rahouia	36	16	44
Meguilla	28	13	46
Oued Lilli	14	04	28
Centre de Tiaret	161	59	36,6
Frenda	148	49	33
Medroussa	05	05	100
Hamadia	07	04	57
Sougueur	01	01	100
Sud de Tiaret	70	13	18,5
Ain kermes	36	11	30
Ain deheb	06	02	33
Ksarchellala	28	00	00

La P-value en fonction de la région est 0.01767, une différence statistiquement significative entre le site de prélèvement et l'infestation parasitaire ($p\text{-value} < 0,05$)

1.3. Fréquence de la leishmaniose canine par tranches d'âge

L'âge des chiens de l'étude était compris entre 4mois et 14ans, ce qui nous a permis de les classer en 3 catégories d'âge :

- Les jeunes chiens dont l'âge est inférieur ou égal à 12mois.
- Les chiens adultes dont l'âge est compris entre 13 mois et 5 ans.
- Les chiens âgés dont l'âge est supérieur à 5 ans.

Tableau 2.15 : Fréquence de la leishmaniose canine par tranche d'âge

Age	Effectif	Positif	Fréquence (%)
≤12mois	92	33	35.8
13 mois à 5ans	233	83	35.6
>5ans	34	12	35.2

Le test de Khi2 a donné une valeur de $P=0,9605(>0.05)$ (aucune différence statistiquement significative en fonction de l'âge).

On peut remarquer que les taux des chiens infectés est presque stable pour les trois tranches d'âge.

1.4. Fréquence de la leishmaniose canine par sexe

Tableau 2.16 : Fréquence de la leishmaniose canine par sexe.

	Mâles	Femelles
Effectif	241	118
Positifs	88	40
Fréquence (%)	36.5	33.9

Le P-value = 0,6269(>0.05) (aucune différence statistiquement significative entre le sexe de l'animal et l'infection parasitaire).

1.5. Les signes cliniques

La leishmaniose canine est une maladie à expression clinique multiple, avec des symptômes variables. Les symptômes des chiens positifs (128chiens) ont été résumés dans le tableau suivant:

Tableau 2.17 : Les signes cliniques et leurs fréquences retrouvés chez les chiens positifs

Signes cliniques	Nombre de répétition	Taux (%)
Onychogryphose	81	63.28
Dégradation de l'étatgénéral	55	43
Adénopathie	39	30.46
Ulcérationcutanée	26	20.31
Amaigrissement	23	18
Furfor	21	16.40
Signe de lunette	8	6.25
Alopecie	5	3.90
Hyperkératose	3	2.34
Tête de vieuxchien	2	1.56
Crouttes/Squames	1	0.78

Les signes cliniques dominants de la leishmaniose canine dans notre étude étaient l'onychogryphose avec un taux de 63.28%, suivi de la dégradation de l'état général avec un taux de 43%. Le troisième signe clinique retrouvé chez les chiens leishmaniens était l'adénopathie (30.46%). l'ulcération, l'amaigrissement et le furfor représentaient des signes cliniques moins fréquents. Le signe de lunette et l'alopecie ont enregistré des pourcentages décroissants.

34 chiens parmi les 128 chiens positifs étaient asymptomatiques et représentaient un taux de 26.56% du nombre total des chiens positifs.

Les figures suivantes représentent l'expression clinique des cas atteints de la leishmaniose canine confirmée.



Figure 2.11 : Examen à distance d'un pointer de 3 ans (mauvais état général avec amaigrissement).



Figure 2.12 : Un ulcère au niveau de la patte arrière.



Figure 2.13 : Examen à distance d'une chienne berger allemand de 9ans (mauvais état général avec amaigrissement)



Figure 2.14 : Ulcère au niveau auriculaire



Figure 2.15 : Onychogryphose chez un berger allemand



Figure 2.16 : Hyperkératose de peau



Figure 2.17 : Onychogryphose



Figure 2.18 : Examen à distance d'un chien berger d'atlas de 8ans (mauvais état général avec amaigrissement)



Figure 2.19 : Onychogryphose chez un berger d'atlas

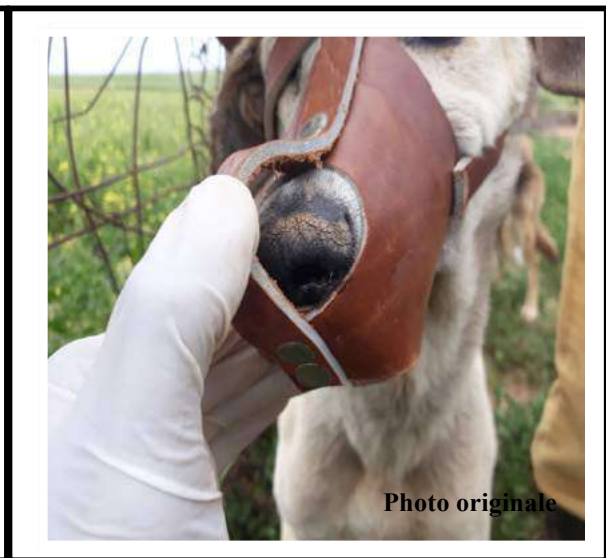


Figure 2.20 : hyperkératose de truffe



Figure 2.21 : Ulcère au niveau de la pointe (hanche droite)

1.6. Résultats des autopsies

9 chiens, dont l'état général était trop dégradé, ont subi une euthanasie suivie d'une autopsie pour évaluer l'atteinte viscérale, on a constaté que les 9 chiens ont présenté une hypertrophie de la rate, ce qui représente un taux de 100%. L'hypertrophie du foie a été constatée chez 8 chiens (89%) et deux chiens ont présenté une glomérulonéphrite bilatérale avec un ictère franc.

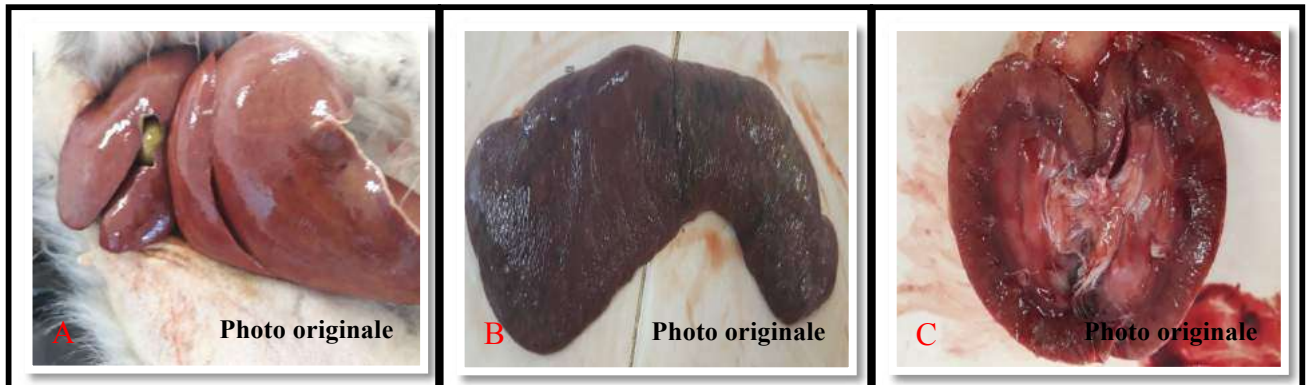


Figure 2.22: A : Hépatomégalie ; B : Splénomégalie ; C : Glomérulonéphrite

Chez un chien leishmanien



Figure 2.23 : Rate très hypertrophiée, friable et congestionnée

1.7. Résultats de la cytologie splénique

Après la lecture des lames (pour les 9 chiens euthanasiés), on a constaté une présence massive des formes amastigotes de *Leishmania*, ce qui signifie une atteinte très grave.

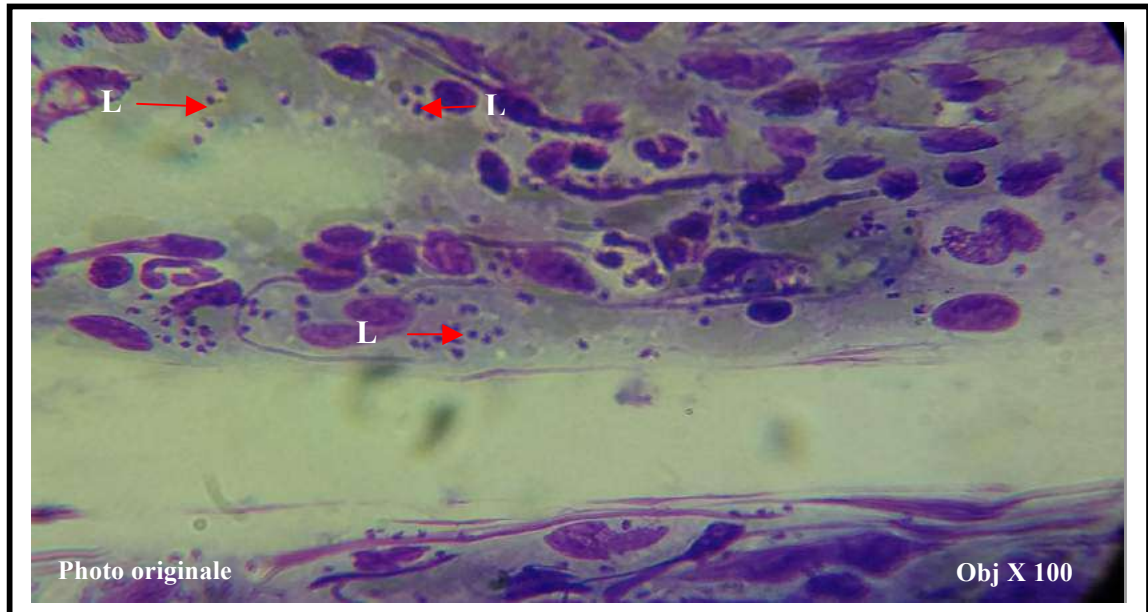


Figure 2.24 : Présence massive des formes amastigotes de *Leishmania* extracellulaire (L) au niveau splénique.

2. Etude du vecteur

2.1. Résultats des captures et d'identification des phlébotomes

Après 08 nuits de piégeage, au niveau des trois régions de la wilaya de Tiaret, les résultats de capture et d'identification des phlébotomes sont répertoriés par région :

-Nord de la wilaya (RAHOUIA-TIARET CHEF LIEU)

Un échantillon de 80 phlébotomes (39 femelles et 41 mâles) a subi une identification morphologique pour une détermination des espèces de phlébotomes qui circulent dans cette région.

Le résultat de l'identification est résumé dans le tableau suivant :

Tableau 2.18 : Résultat de l'identification morphologique des phlébotomes capturés

Espèces identifiées	Mâles	Femelles	Total	Fréquence (%)
<i>Phlebotomus perniciosus</i>	38	39	77	96.25
<i>Phlebotomus atypique</i>	01	00	01	1.25
<i>Phlebotomus papatasi</i>	02	00	02	2.5
Total	41	39	80	100

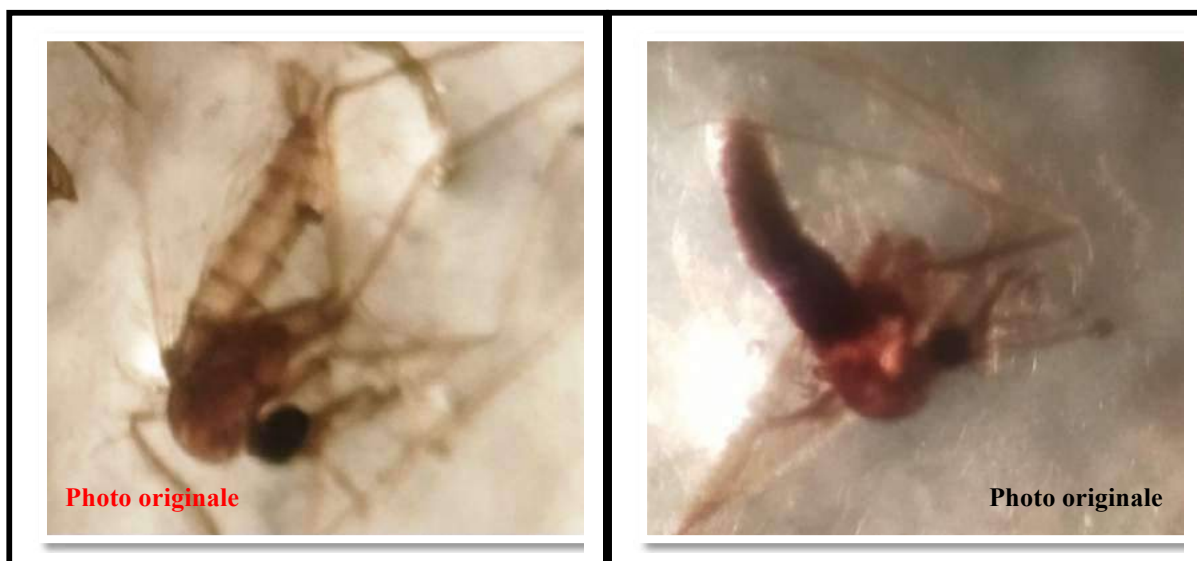


Figure 2.25 : Phlébotome mâle

Figure 2.26 : Phlébotome femelle gorgée du sang

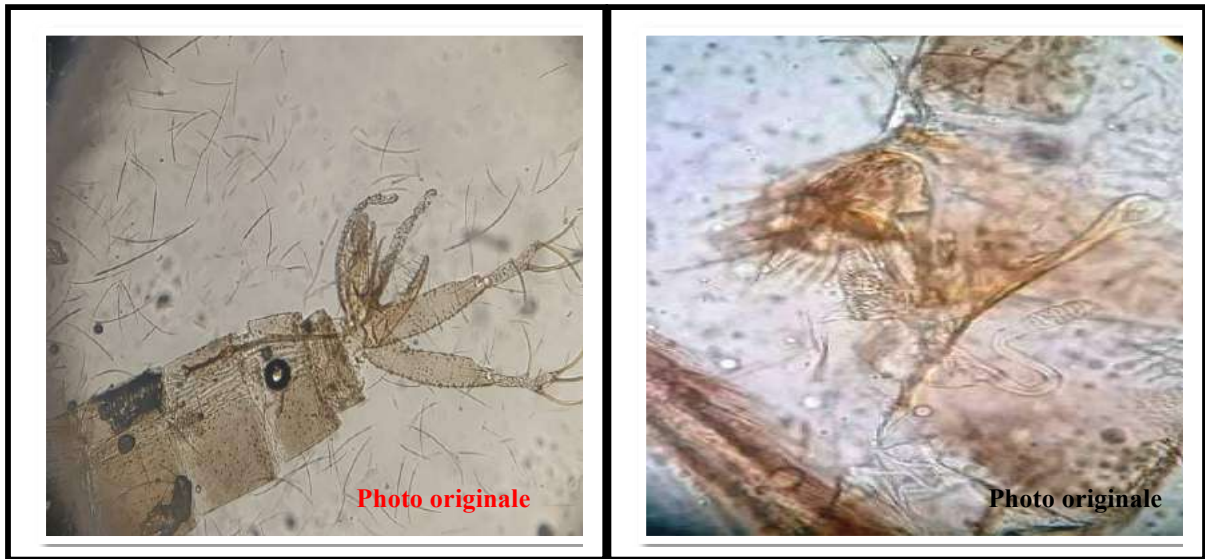


Figure 2.27 : Appareil génital mâle
(*Phlebotomus perniciosus*)

Figure 2.28 : Appareil génital Femelle
(*Phlebotomus perniciosus*)

- Centre de la wilaya : FRENDA

01 seul spécimen (une femelle), a été identifié au niveau de la daïra de Frenda. Il appartient à l'espèce : *Phlebotomus perfiliewi*.

-Sud de la wilaya (KSAR CHELLALA)

Après une identification morphologique de 02 phlébotomes males capturés dans la daïra de Ksar Chellala, les deux spécimens appartiennent à l'espèce : *Phlebotomus papatasi*.

3. Etude rétrospective de la leishmaniose cutanée dans la région de Tiaret

D'après la direction de santé de la wilaya de Tiaret, aucun cas de la leishmaniose viscérale humaine n'a été déclaré durant les dix dernières années, tandis que les cas de la leishmaniose cutanée humaine sont récentes avec des variations par rapport à l'année, le mois et même la région.

Les résultats de l'étude rétrospective des cas de la leishmaniose cutanée (LC) au niveau de la wilaya de Tiaret sont répertoriés dans les figures suivantes :

3.1. Répartition annuelle de nombre des cas de la leishmaniose cutanée de 2010 à 2020

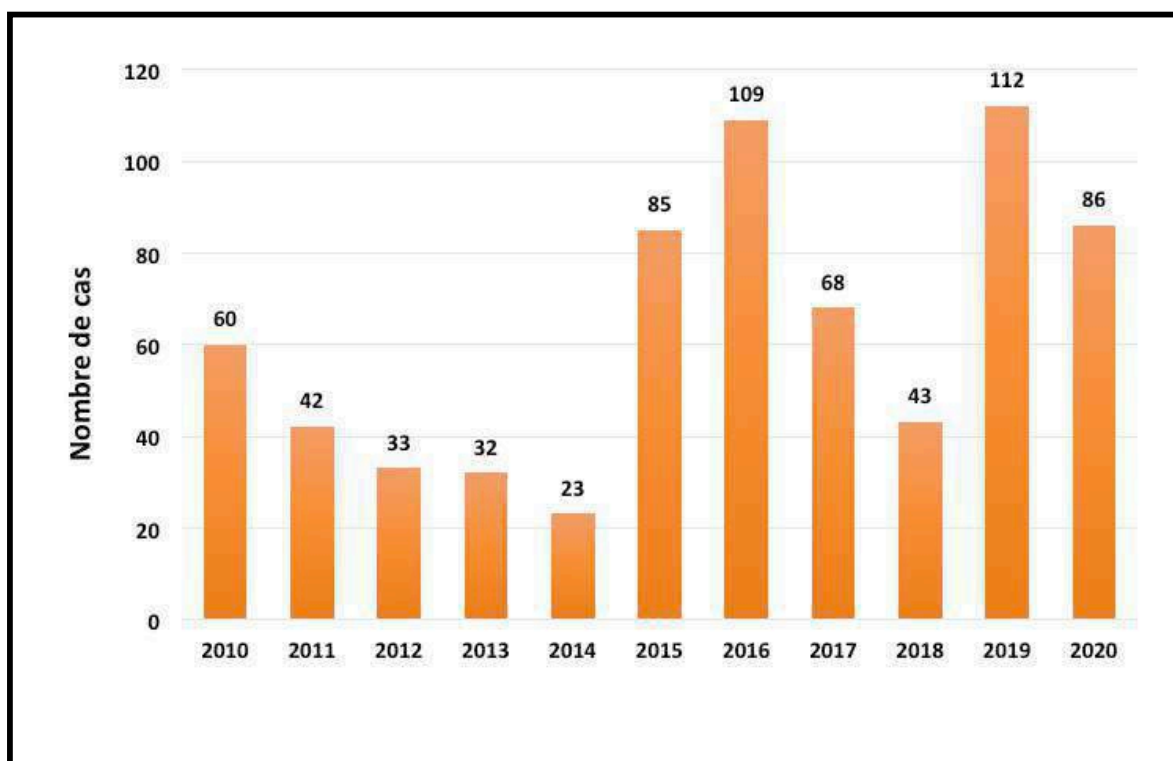


Figure 2.29 : Distribution annuelle de nombre des cas de LC (2010-2020).

A la lumière de la figure, on constate que les cas positifs sont répartis sur toutes les années avec un minimum de 23 cas en 2014 et un maximum de 112 cas en 2019 avec une moyenne de 69 cas par an.

3.2. Distribution mensuelle de nombre des cas de la leishmaniose cutanée de 2016 à 2020

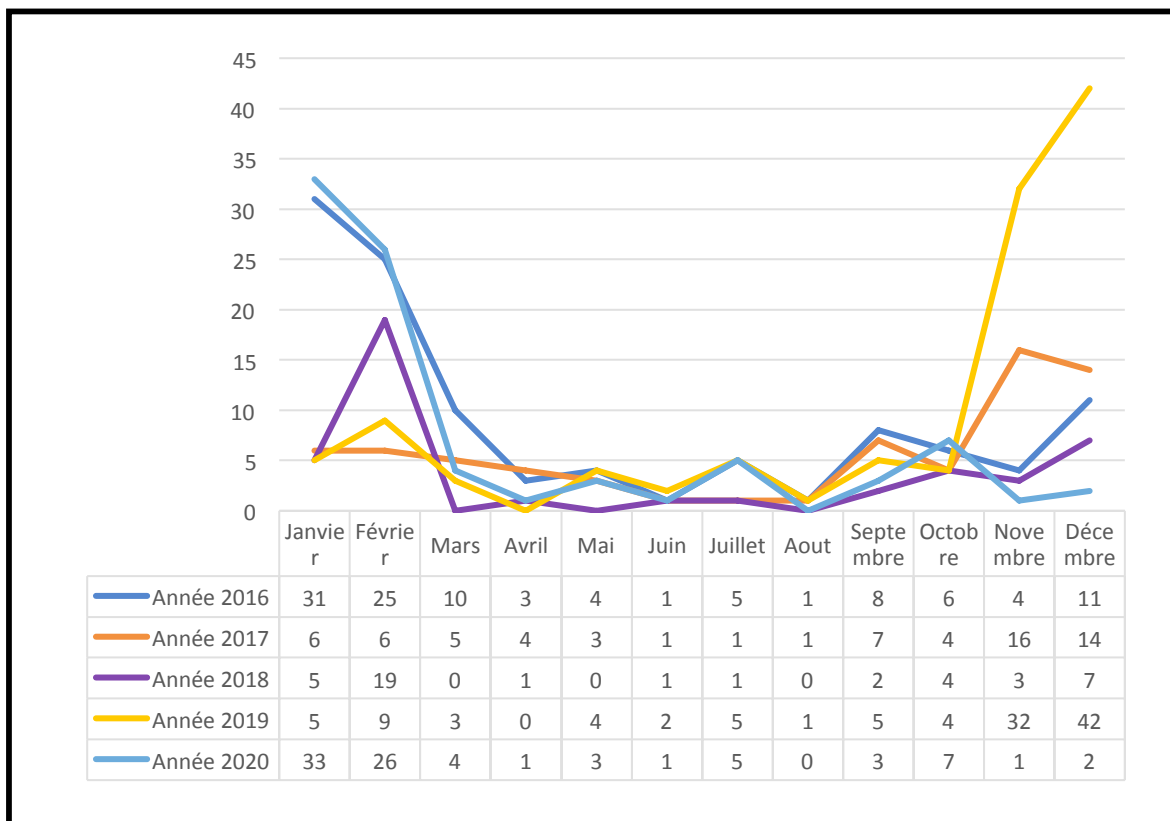


Figure 2.30 : Evolutions mensuelles de nombre des cas de LC(2016- 2020).

A l'instar de la figure on note que les cas connaissent des pics durant deux saisons à savoir l'automne et l'hiver. Le printemps et l'été ont enregistré des nombres faibles.

3.3. Distribution de nombre des cas de la leishmaniose cutanée par tranches d'âge de 2016 à 2020

La figure ci-dessous montre que la tranche d'âge de moins ou égale à 10 ans a pris la part du lion en totalisant un nombre global de 134 cas. La deuxième place a été occupée par la catégorie d'âge de plus de 50 ans avec 64 cas, suivie directement par celle de 11 à 20 ans avec 63 cas. Les tranches d'âge de 21 à 30 et de 31 à 40 ans ont enregistré 55 et 56 cas, respectivement. Le nombre le plus bas a été attribué à la catégorie d'âge de 41 à 50 ans (37 cas).

On a éliminé 9 cas de nombre total des cas car on n'a pas trouvé leurs âges mentionnés sur le document de DSP.

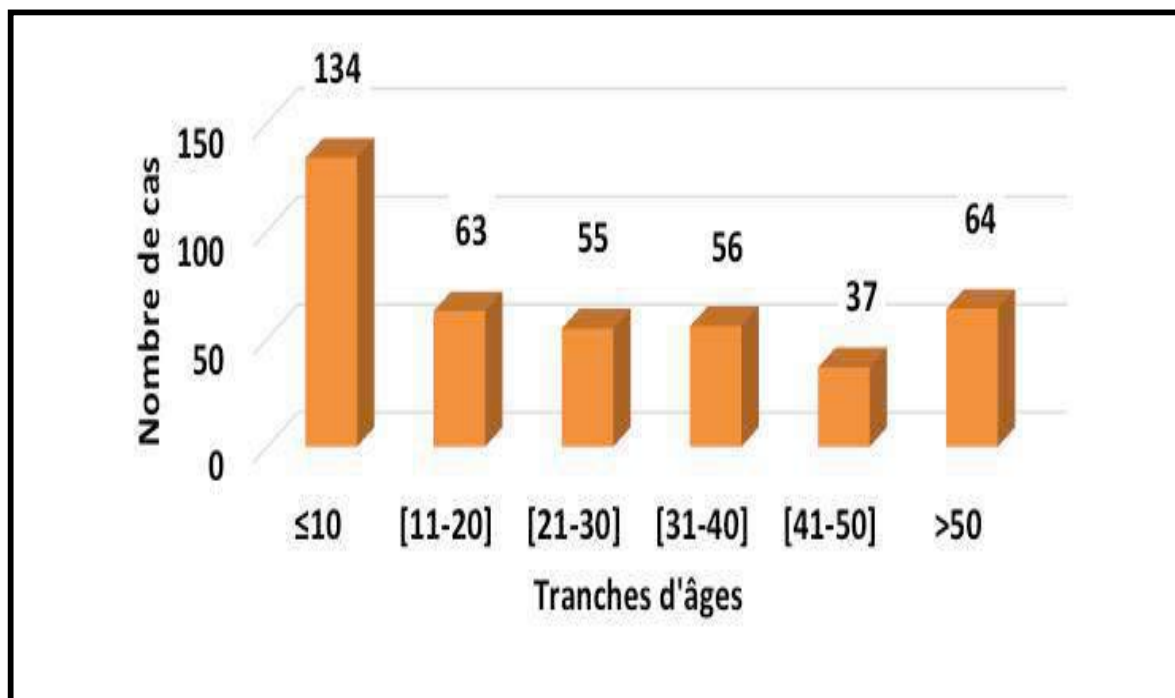


Figure 2.31 : Distribution des nombres de cas de la LC par tranches d'âge (2016-2020).

3-4-Distribution des nombres de cas par sexe (2016 à 2020)

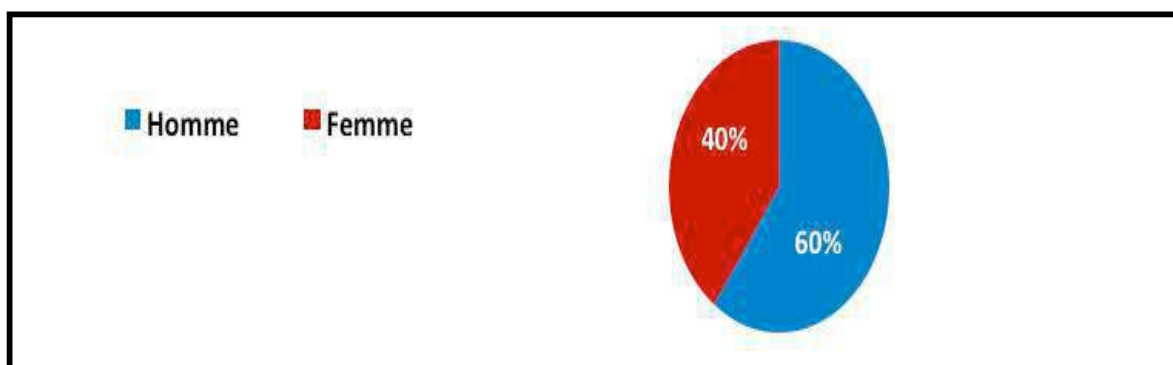


Figure 2.32 : Répartition des cas de LC en fonction de sexe.

D'après nos résultats, on peut constater que les hommes sont plus touchés par cette maladie avec 60% contre 40% enregistré chez les femmes.

3-5-Distribution des cas de LC de (2016-2020) selon leurs origines géographiques

La distribution des cas de la LC récentes de (2016-2020) par Daïra est répertoriée dans le tableau suivant :

Remarque : on a éliminé 7 cas dont l'origine est inconnue

Tableau 2.19 : Distribution de nombre des cas de LC par région

Région	Nombre des cas de LC
Nord de Tiaret	12
Tiaret chef lieu	12
Rahouia	0
Meguilla	0
Oued Lilli	0
Mechraasfa	0
Centre de Tiaret	62
Frenda	37
Medroussa	02
Hamadia	06
Mahdia	02
Sougueur	15
Sud de Tiaret	337
Ain Kermes	192
Ain Deheb	133
Ksar Chellala	12

Discussion

1. Réservoir

La présente étude affirme la présence de la leishmaniose canine dans la wilaya de Tiaret, avec une prévalence de 35.7%. Ce pourcentage reste supérieur, comparé à celui de 6.3% rapporté par Tabet et Ammam (2022) dans la wilaya de Saïda, une Wilaya limitrophe de Tiaret. Les techniques de diagnostic utilisées dans leur étude (l'examen cytologique et le test rapide witness leishmania) peuvent influencer sur les résultats finaux, vu que ces techniques de diagnostic sont moins sensibles pour le diagnostic de la leishmaniose canine.

Selon des études plus récentes de la leishmaniose canine en Algérie, la prévalence de cette maladie est alarmante. En effet, une étude réalisée par Medkour (2017) dans les régions de Bouira et Sétif (Nord-Est du pays), montre une séroprévalence totale de 69,17% et 62,5% détectée respectivement, par IFI et le test sérologique rapide, il a également cité que la prévalence de la leishmaniose canine dans la région de Kabylie était de 35,7% (Medkour *et al.*, 2019^(a)). Par ailleurs, Adel *et al.* (2015), dans une étude réalisée sur six wilayas côtières de l'Algérie, ont montré qu'il y a une augmentation de la prévalence de cette maladie d'ouest en est (Adel *et al.*, 2015). Bien que la leishmaniose canine soit présente sur tout le territoire national, les proportions de chiens infectés varient selon les conditions bioclimatiques (Mouloua, 2014).

Ce pourcentage élevé des chiens atteints par la leishmaniose canine est peut être du à plusieurs facteurs, dont la race choisie dans notre étude, le berger d'atlas où "Aïdi" qui est un terme berbère qui signifie chien, est une race autochtone qui existe depuis des milliers d'années dans les montagnes et les plateaux du nord d'Afrique (Fédération Cynologique Internationale, 2003). Les chiens de cette race vivent dans les zones rurales et à l'extérieur des maisons en raison de leurs activités de surveillance et de gardiennage des maisons et des animaux de leurs éleveurs ou de leurs propriétaires (Espérandieu *et al.*, 1994), ce qui les rend plus exposés aux piqûres de phlébotomes.

Cette constatation est soutenue par les travaux d'Amusategui *et al.* (2004) et de Martín-Sánchez *et al.* (2009), qui mentionnent que la leishmaniose canine est généralement associée aux zones rurales et suburbaines et que le mode de vie des chiens est généralement impliqué, car il peut augmenter la probabilité de contact avec les vecteurs ou permettre une circulation plus rapide du parasite. En outre, ce sont des chiens de berger et ils vivent donc avec d'autres animaux comme les moutons et les bovins, et même avec les familles qui s'occupent du troupeau, ce qui joue un rôle dans la forte exposition de ces chiens aux phlébotomes, qui sont attirés par le CO₂ exhalé par ces derniers (humains et leurs animaux) et dont l'activité est donc très élevée (Pinto *et al.*, 2001).

Ces chiens n'ont pas d'habitat stable et sont en contact étroit avec la faune sauvage ; ils sont considérés comme des chiens semi-errants. Il est possible que d'autres réservoirs sauvages existent (Fisa *et al.*, 1997 ; Dedet *et al.*, 1977) et leurs transmettent la maladie.

Il a été constaté que ces chiens sont mal entretenus en terme de nutrition et même de médicaments, ils sont en mauvaise condition physique et aucun des chiens ne porte de collier antiparasitaire, ce qui entraîne l'affaiblissement de leur système immunitaire et les rend une cible plus facile pour les infections et les piqûres de phlébotomes (Amusatogui *et al.*, 2004 ; Rodriguez-Cortes *et al.*, 2007).

Il faut également noter qu'un chien affecté par la leishmaniose ne sera pas abandonné par son propriétaire mais il continuera à vivre parmi d'autres chiens, animaux et humains, constituant ainsi un réservoir mobile pouvant transmettre la maladie à son entourage.

Il a été déjà confirmé qu'un chien symptomatique est plus infectieux qu'un chien asymptomatique et est plus important dans le cycle parasitaire (Courtenay *et al.*, 2002 ; Da Costa-Val *et al.*, 2007 ; Guarga *et al.*, 2000).

1.1. Les techniques de diagnostic utilisées

La présente étude a permis l'utilisation de plusieurs techniques de diagnostic de la leishmaniose canine, permettant de visualiser le parasite directement, détecter les anticorps circulants ou son matériel génétique.

1.1.1. La cytologie ganglionnaire

Nos résultats ont montré que la cytologie ganglionnaire présentait une sensibilité réduite de 47% et une spécificité plus ou moins élevée de 75% comparée à la PCR. Ces résultats sont totalement en accord avec les résultats de l'étude réalisée par Saridomichelakis *et al.* (2005) qui ont signalé que la spécificité de la cytologie des ganglions lymphatiques était très élevée et pouvait atteindre 100%, alors que sa sensibilité pouvait varier de 7.8% à 92.6% et ceci est due au statut symptomatique et asymptomatique du chien, en raison du nombre élevé de parasites présents chez les chiens présentant des signes cliniques comparés aux autres, et Castelli *et al.* (2021) qui ont précisé que les examens parasitologiques et microscopiques peuvent être très spécifiques, mais ils présentent une sensibilité insuffisante.

Ainsi qu'aux études de Manna *et al.* (2004), Moreira *et al.* (2007), Mohammadihaa *et al.* (2013), Santos *et al.* (2014), Guerra *et al.* (2019) et Di Pietro *et al.* (2020) qui ont mentionné que l'examen cytologique, même s'il représente une méthode de diagnostic rapide, peu coûteuse et qui ne nécessite pas d'équipement sophistiqué, représentait aussi une méthode de faible sensibilité qui ne pouvait pas être utilisée comme étalon-or pour la détection de l'infection canine à *L. infantum* et il était d'une utilité de diagnostic inférieure.

Nos résultats obtenus par cytologie ganglionnaire étaient inférieurs comparés à ceux obtenus par la PCR qui est considérée comme une méthode très efficace dans le diagnostic de la leishmaniose canine, car elle représente de meilleurs indices de sensibilités et de spécificités pouvant atteindre 100% (Ashford *et al.*, 1995; Manna *et al.*, 2004; Moreira *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2014). La PCR a été réalisée sur des prélèvements de sang (le meilleur type de matériel biologique pour le dépistage et le diagnostic de la leishmaniose canine), cela peut être attribué à la simplicité de la réalisation du prélèvement sanguin et qui reste moins invasif que le prélèvement de moelle osseuse ou de ganglions lymphatiques, ce qui le rend plus acceptable pour les propriétaires (Reale *et al.*, 1999; Moreira *et al.*, 2007). De même, Cavalcanti *et al.* (2009) et Mohammadihaa *et al.* (2013) ont signalé aussi une sensibilité de 100 % et une spécificité de 83.3 % pour le test PCR réalisé sur des prélèvements de sang canin comparé aux PCR réalisées sur des ponctions ganglionnaires ou de moelle osseuse.

L'absence de concordance entre les deux techniques peut être liée aux principes de chaque technique, autrement dit la cytologie ganglionnaire qui permet de visualiser directement le *Leishmania* (la forme amastigote) par microscopie ainsi que la cellularité présente mais cela nécessite des professionnels de laboratoire formés et expérimentés pour ne pas confondre avec d'autres pathologies semblables telle que l'ehrlichiose. Par contre la PCR cherche à déterminer la présence de l'ADN leishmanien qui circule dans le sang ou bien au niveau de la rate et la moelle osseuse. Reale *et al.* (1999), Santos *et al.* (2014), et Ayene *et al.* (2021) ont indiqué que les résultats cytologiques de chiens positifs à la leishmaniose ne sont pas spécifiques et des maladies systémiques telles que l'ehrlichiose pourraient reproduire la même cellularité et que le diagnostic par PCR est indépendant de l'état immunitaire, car il s'agit d'un test direct qui recherche la présence de l'ADN parasitaire même quand une faible charge parasitaire est présente dans l'échantillon.

1.1.2. La sérologie par IFI et ELISA

A travers cette étude, on a constaté que l'ELISA présentait une sensibilité et une spécificité très élevée de 100% et 98.4%, respectivement, comparée à l'IFI. Cette dernière a été considérée comme l'étalon-or pour le diagnostic sérologique de la leishmaniose due à *L. infantum* chez le chien avec des mesures de performance optimales en matière de sensibilité et de spécificité.

Ces résultats concordent avec ceux de Solano-Gallego *et al.* (2014) qui ont obtenu une sensibilité de l'ELISA qui allait de 92.5% à 95.3% et une spécificité de 86.9% à 100%, en ce qui concerne la technique IFI, la sensibilité était de 86.9% et la spécificité de 91.7% (les statuts infecté et sain sont préalablement connus pour les chiens inclus dans cette étude).

La différence entre les performances (sensibilités et spécificités) des deux techniques sérologiques est attribuée à plusieurs facteurs, dont on peut citer: le type d'antigène utilisé, car l'ELISA peut être réalisée en utilisant soit des extraits entiers ou solubles de promastigotes, soit des protéines recombinantes ou bien des protéines purifiées. De plus, il s'est avéré que l'utilisation des amastigotes comme antigène était plus sensible que l'antigène promastigote utilisé pour la détection des anticorps chez les chiens malades cliniquement et subcliniquement (Mettler *et al.*, 2005; Solano-Gallego *et al.*, 2014).

La concordance entre les résultats des deux techniques était forte. Ceci peut être due au fait que les deux techniques sont des méthodes indirectes qui permettent de détecter les anticorps antileishmaniens qui circulent dans le sang et le type d'antigène utilisé. Dans notre cas, l'antigène est similaire pour les deux techniques, dont on a utilisé des promastigotes entiers comme antigène (Ferreira *et al.*, 2007; Bellatreche *et al.*, 2020).

En comparant les résultats et les performances des techniques sérologiques à ceux de la PCR, on a observé que la sérologie par IFI et ELISA représentait une sensibilité très réduite de 14% et une spécificité très élevée de 97.7%. La spécificité s'accorde avec celle retrouvée par Regina-Silva S. *et al.* (2014) qui notent que les estimations pour l'IFI à base d'anticorps variaient de 52 à 100% de spécificité. Cependant, leur sensibilité était de 72 à 100%. De plus, selon Manna *et al.* (2004) ont constaté que la PCR était plus sensible que le test d'immunofluorescence indirecte pour détecter l'infection par *Leishmania* chez les chiens, d'ailleurs même le coefficient de kappa a montré qu'il n'y'a aucune concordance entre les résultats des deux techniques.

Le statut immunitaire dépressif de certains chiens à cause de la maladie en question ou d'autres pathologies concomitantes qui engendre l'incapacité de produire des quantités suffisantes d'anticorps et le temps nécessaire pour le développement de la maladie et la production d'anticorps à un niveau détectable constituent des handicaps de la sérologie (Reale *et al.*, 1999; Manna *et al.*, 2004; Regina-Silva S.*et al.*, 2014; Ayene *et al.*, 2021).

Pareillement pour les résultats de la comparaison entre la cytologie ganglionnaire et la sérologie, qui montrent que la cytologie représente une sensibilité élevée de 85% et une spécificité plus ou moins réduite de 68% mais ce pourcentage reste minime comparé aux sensibilités et aux spécificités précitées de l'ELISA et l'IFI (Solano-Gallego *et al.*, 2014). Selon le coefficient de kappa, on peut noter que la concordance entre les résultats des deux techniques est faible et cela peut être attribué aux principes de chaque technique et aussi le degré de l'atteinte parasitaire chez l'animal.

1.1.3. L'examen moléculaire (la PCR nichée)

137 chiens ont également été soumis à une PCR comme moyen supplémentaire de diagnostic de la leishmaniose canine. La PCR génomique a été choisie et non pas la PCR kinétoplastique car selon Lachaud *et al.*(2002), cette dernière peut présenter des artefacts susceptibles de fausser la lecture.

Pour la comparaison des trois techniques de diagnostic de la leishmaniose canine (IFI-ELISA-PCR), chez les deux groupes de chiens (chiens symptomatiques et asymptomatiques), la sensibilité de chaque technique a été calculée comme le nombre de cas positifs d'une méthode par rapport au nombre total de cas positifs par au moins une méthode. La sensibilité de la PCR s'est avérée être plus élevée que celle de l'ELISA et de l'IFI, comme indiqué précédemment (Martínez *et al.*, 2011; Almeida *et al.*,2013). Ce qui signale que les méthodes sérologiques ont une faible sensibilité dans le diagnostic de la leishmaniose canine par rapport aux méthodes moléculaires. La raison probable de cette grande différence de sensibilité entre la PCR et les méthodes sérologiques est que les chiens asymptomatiques ou oligosymptomatiques ont une charge parasitaire plus faible et de faibles niveaux d'anticorps *anti-leishmania* qui ne peuvent pas être détectés par les méthodes sérologiques (Iniesta *et al.*, 2002).

1.1.4. Le test immunochromatographique rapide (Test IT-leish)

Dans la présente étude, On a également expérimenté le test immunochromatographique (IT-LEISH) à usage humain pour détecter la présence d'anticorps anti-*Leishmania spp.* à l'aide d'un antigène recombinant (rK39), afin de vérifier son efficacité chez l'espèce canine et nous l'avons comparé à différentes autres techniques ; voire la sérologie par (IFI et ELISA), la PCR et la cytologie ganglionnaire. Il faut noter que sa sensibilité et sa spécificité chez les humains pour détecter la leishmaniose viscérale est de 99% et 100%, respectivement (IT LEISH, BIO-RAD).

L'IT-leish a présenté une sensibilité faible de 35% mais qui reste supérieure à celle de la sérologie par (IFI-ELISA) qui a présenté une sensibilité de 14% comparée à la PCR. La spécificité de l'IT-leish était bonne. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que la PCR est une technique indépendante de l'état immunitaire de l'organisme et qui cherche la présence de l'ADN même en faible quantité.

L'IT-LEISH a présenté une sensibilité et une spécificité bonnes, comparée à la cytologie ganglionnaire avec 70% et 80%, respectivement, qui peuvent être dues au fait que les chiens sont symptomatiques et le système immunitaire avait un contact avec le parasite qui va engendrer la production des anticorps détectables par cette technique.

Nos résultats indiquent que l'IT-LEISH représente une sensibilité et une spécificité élevée de 80.9% et 86.4% respectivement comparée à la sérologie par l'IFI et l'ELISA et le coefficient de kappa qui était égal à 0.48, signifiait l'existence d'une faible concordance entre les résultats des techniques. Valéria *et al.* (2010) ont reporté la présence d'une sensibilité de 91.5 %, avec une spécificité de 94.7 % pour le test immunochromatographique avec l'antigène rK39 tandis que la sensibilité de l'ELISA était de 100%, avec une spécificité de 91.2%. Ces auteurs ont également signalé la présence d'une forte concordance entre les deux techniques et ont conclu que l'utilisation des deux techniques sérologiques (ELISA ou le test immunochromatographique à base d'un antigène rK39), présente un outil de diagnostic sensible et spécifique pour détecter la leishmaniose canine.

Pour mieux comprendre l'efficacité de l'IT-LEISH dans le diagnostic de la leishmaniose canine, on doit comparer l'IT-LEISH aux techniques sérologiques (IFI et ELISA) déjà utilisées. On a considéré la PCR comme étalon-or, en même temps, on a divisé les chiens en deux groupes symptomatiques et asymptomatiques pour évaluer la sensibilité et les spécificités des techniques.

L'IT-LEISH et la sérologie par IFI et ELISA ont présenté des valeurs plus importantes en matière de sensibilité et de spécificité chez le groupe de chiens symptomatiques comparé au deuxième groupe de chiens asymptomatiques qui peut être dû à la quantité des anticorps sécrétés chez les chiens symptomatique et qui peut être détecté par les méthodes sérologiques.

L'IT-LEISH a prouvé son efficacité dans les deux groupes des chiens, et a donné des résultats supérieurs en matière de sensibilité, ce qui peut être dû à l'importance de l'antigène rk39 comme un antigène immunogène. La spécificité des techniques sérologiques (IFI-ELISA) était supérieure dans le groupe de chiens symptomatiques par rapport à celle de l'IT-LEISH.

1.2. Fréquence des chiens positifs par au moins une technique de diagnostic selon leur origine géographique

Concernant la répartition des cas positifs selon leurs origines géographiques, il a été constaté que les chiens les plus touchés par la leishmaniose canine sont originaires du nord et du centre-ouest de la wilaya, ce qui peut être dû à la répartition inégale du nombre de prélèvements qui étaient plus concentrés dans le centre et le nord de la wilaya.

Il y a une différence statistiquement significative entre le site de prélèvement et l'infection parasitaire. Les conditions environnementales jouent un rôle dans la distribution du vecteur et du réservoir et donc de la maladie (Zivičnjak *et al.*, 2005 ; Adel *et al.*, 2010). De plus, le vecteur est plus concentré dans les zones avec une végétation importante ce qui est le cas dans le nord de la wilaya.

1.3. Fréquence de la leishmaniose canine par tranches d'âge

Les taux des chiens infectés ont été stables pour les trois tranches d'âge. La taille de l'échantillon pour chaque catégorie peut influencer les résultats finaux. En plus, le test de Khi2 a donné une valeur de $P=0,9605(>0.05)$ ce qui signifie l'absence de différence statistiquement significative en fonction de l'âge.

Bien que la leishmaniose canine ne soit pas très fréquente chez les jeunes chiens âgés de 4 à 12 mois, 33 cas positifs ont été signalés dans cette étude, ce qui peut être dû à une prédominance raciale ou à la sensibilité de certains chiens. En outre, l'immunité de ces chiens joue un rôle très important, car les défenses immunitaires relativement faibles des jeunes chiens font qu'ils sont facilement exposés à la maladie.

Parmi 233 chiens, dont l'âge était de 13 mois à 5ans, et qui représente la catégorie des chiens adultes, 83 chiens se sont avérés positifs, ce nombre important des chiens infectés peut être lié à leur longue période d'exposition aux phlébotomes (Ziviènjak *et al.*, 2005).

De plus, la leishmaniose canine est une maladie chronique avec une évolution lente, rarement spontanément régressive (Rami *et al.*, 2003) et avec une longue période d'incubation.

Ces résultats confirment des études antérieures selon lesquelles les chiens les plus exposés au risque d'infection sont les adultes, âgés de 2 à 4 ans et plus, car ils sont plus susceptibles d'être piqués par des phlébotomes (Martín-Sánchez *et al.*, 2009; Miranda *et al.*, 2008; Fellah *et al.*, 2014).

On peut également remarquer que les chiens âgés de (5 à 14 ans) représentent un nombre inférieur aux autres et qui est estimé à 12 chiens. Ceci est dû au nombre total de vieux chiens que nous avons consultés ou étudié. Ajoutons à cela, le fait que les conditions de vie défavorables des chiens de berger de l'Atlas ne leur permettent pas d'atteindre un âge plus ou moins avancé et leur durée de vie est alors plus inférieure aux autres races. Encore une fois, les propriétaires ne gardent pas les vieux chiens à la maison, ils les remplacent par des chiens jeunes et actifs pour la garde. Selon Alvar *et al.* (2004), il y a un second pic de la maladie chez les chiens les plus âgés, lorsque leur système immunitaire devient plus faible et compromis ou à cause des maladies concomitantes qui sont très fréquentes étant donné les conditions de vie de cette race. Selon Ziviènjak *et al.* (2005) et Cruz *et al.* (2002), les chiens âgés de 7 ans et plus présentent une séroprévalence plus faible que les autres, ce qui peut être dû à l'augmentation cumulative de la durée de l'exposition aux vecteurs et à l'augmentation du taux de mortalité chez ces chiens plus âgés. Cependant, Cortes *et al.* (2012) et Mouloua *et al.* (2017) ont signalé que les chiens âgés de 5 ans et plus sont les plus affectés et présentent une

séroprévalence plus élevée que les chiens plus jeunes car les chiens plus âgés ont connu plusieurs périodes d'activité des phlébotomes que les chiens plus jeunes.

1.4. Fréquence de la leishmaniose canine par sexe

Dans l'effectif total, le nombre des mâles est plus élevé par rapport aux femelles car la plupart des chiens inclus dans notre étude étaient des chiens de la race berger de l'atlas qui est une race locale utilisée pour la garde des fermes et les éleveurs préfèrent utiliser des chiens mâles pour ce rôle.

Aucune différence statistiquement significative entre le sexe de l'animal et l'infection parasitaire n'a été désignée, ce qui semble être en accord avec les études précédentes montrant qu'il n'y a pas une différence de prévalence de la maladie selon le sexe (Amusategui *et al.*, 2004; Cortes *et al.*, 2012). En revanche, Miranda *et al.* (2008) affirment qu'il existe une prévalence plus élevée chez les mâles que chez les femelles, en raison du comportement d'errance plus élevé des mâles. Ces résultats corroborent avec ceux de Ziviènjak *et al.* (2005) qui ont également trouvé une séroprévalence plus élevée chez les mâles que chez les femelles, l'expliquant par le taux de mortalité élevé des femelles en gestation et en lactation.

1.5. Les signes cliniques

Compte tenu du manque de techniques para-cliniques pour le diagnostic de la leishmaniose canine, surtout chez cette race de chien mal entretenue, et le contact étroit de ces animaux avec les humains et surtout les enfants, ils sont alors considérés comme le principal réservoir de la leishmaniose viscérale humaine (Moheballi, 2012; Moheballi *et al.*, 2005), la détermination d'un profil clinique aide les vétérinaires praticiens, voire les éleveurs, à identifier les causes de la maladie et à éliminer les chiens suspectés d'être malades.

Il a été constaté que les signes cliniques de la leishmaniose canine peuvent être très peu spécifiques ou à l'inverse très suggestifs. La propagation des leishmanies à partir des sites primaires d'infection vers d'autres organes et tissus peut expliquer la variabilité des symptômes cliniques et même de l'atteinte viscérale. Les chiens présentant un nombre élevé de signes cliniques ayant le plus grand nombre des organes touchés (Martinez-Moreno *et al.*, 1995; Solano-Gallego *et al.*, 2014).

Malgré la variabilité de la symptomatologie, l'onychogryphose est le signe clinique le plus dominant observé dans ce travail, mais nous ne pouvons pas considérer que l'onychogryphose représente un signe évocateur de la leishmaniose canine chez cette race de chien car nous avons observé que la plupart des chiens sains présentent ce signe clinique, cette déformation de la griffe peut être due à plusieurs autres causes (carences nutritionnelles ou maladies infectieuses). Ce symptôme est suivi d'une détérioration de l'état général, et ce sont ces signes qui peuvent être remarqués par les propriétaires de chiens.

Selon une étude menée par Gharbi *et al.* (2018) en Tunisie, l'adénopathie est le troisième signe le plus fréquemment observé chez les chiens atteints de la maladie après le mauvais état général et la perte de poils. Une autre étude menée chez les chiens à Alger entre 2005-2008 par Ait-Oudhia *et al.* (2009) a montré que les signes cliniques dominants de la leishmaniose canine étaient la perte de poids, les lésions cutanées et les adénopathies. Cette triade de lésions peut être retrouvée dans le tableau clinique de plusieurs maladies outre que la leishmaniose, mais elle peut inciter à effectuer d'autres tests paracliniques pour confirmer la suspicion clinique.

Les ulcères cutanées, la perte de poids et le furfur sont les signes cliniques secondairement trouvés chez les chiens malades. En raison des conditions de vie de cette race et du manque d'hygiène et de nutrition, la plupart des chiens sont maigres et souffrent de lésions cutanées qui peuvent être dues à d'autres causes telles que les parasites externes comme la gale, la démodécie, la malassezia ou des infections cutanées bactériennes de la peau comme les pyodermites staphylococciques.

34 chiens parmi les 128 chiens infectés se sont avérés asymptomatiques, et se sont les chiens les plus dangereux parce qu'ils hébergent le parasite et peuvent le transmettre sans qu'ils soient détectés cliniquement. Ces chiens ont un rôle très important dans la propagation de la maladie et sa persistance dans un foyer.

1.6. Résultats des autopsies

L'autopsie a été réalisée chez 9 chiens euthanasiés. La splénomégalie était la lésion dominante, plusieurs autres infections peuvent provoquer l'augmentation de la taille de l'organe, ce qui implique une investigation plus approfondie (Movilla *et al.*, 2017). La cytologie splénique présente une sensibilité de 100 % par rapport à la PCR nichée. Selon une étude menée au Brésil par Barrouin-Melo *et al.* (2006), le groupe de recherche a conclu que la ponction splénique est considérée comme efficace pour le diagnostic définitif de la leishmaniose canine.

L'hépatomégalie a été trouvée chez 8 chiens atteints de la leishmaniose canine et deux cas ont présenté une glomérulonéphrite bilatérale. L'atteinte rénale est fréquente dans la leishmaniose canine et augmente le risque de décès en raison des complications graves qu'elle peut entraîner (Rigo *et al.*, 2013).

2. Vecteur

Jusqu'à l'heure actuelle 24 espèces de phlébotomes ont été identifiées en Algérie, parmi lesquelles cinq espèces sont des vecteurs avérés ou suspects de la leishmaniose canine (Benallal *et al.*, 2022).

La wilaya de Tiaret a plusieurs étages bioclimatiques dont le climat semi-humide, semi-aride et même la présence de climat limite aride-semi-aride dans le sud de la wilaya (Miara *et al.*, 2013). Cette diversité de climat prédispose la wilaya d'avoir une variété des formes de la leishmaniose humaine.

Notre enquête entomologique a été réalisée durant la période : fin août-début septembre qui représente la période d'activité des phlébotomes dans les régions humides, ce qui explique la différence de rendement des captures au niveau des trois régions de la wilaya.

Les nuits de captures au niveau des deux régions (centre et sud) de la wilaya étaient venteuses ce qui a empêché la réalisation de captures efficaces.

Phlebotomus perniciosus était l'espèce dominante au niveau du nord de la wilaya. Cette espèce qui est très importante dans l'épidémiologie de la leishmaniose viscérale humaine et la leishmaniose canine est le principal vecteur de *L. infantum* dans le bassin méditerranéen (Hotez *et al.*, 2012; Tabbabi, 2019; Zhioua *et al.*, 2010; Izri *et al.*, 1990).

Cette espèce a une répartition très large, il peut se rencontrer principalement dans les zones humides à arides mais peut également être trouvée dans les zones sahariennes, dans la zone sud et le Sahara central mais sa prédominance reste toujours les régions du nord, ce qui est le cas du nord de la wilaya de Tiaret (Benallal *et al.*, 2017; Boukraa *et al.*, 2010).

Les formes atypiques ont été toujours confondues avec *Phlebotomus longicuspis*, et elles sont récemment signalées au Maroc, en Tunisie et même en Algérie (Benallal *et al.*, 2022).

Dans la région centre de la wilaya de Tiaret, représentée par la daïra de Frenda on a pu capturer deux spécimens appartenant à l'espèce *Phlebotomus perfiliewi*. Cette espèce responsable de la transmission de *L. infantum* Mon-24 qui cause la leishmaniose cutanée sporadique et dont le réservoir est le chien (Izri et Belazzoug, 1993).

Phlebotomus papatasi était la seule espèce identifiée dans la région sud de la wilaya de Tiaret, c'est le principal vecteur de la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) causée par *L. major* (Izri *et al.*, 1992).

Elle a une vaste distribution du nord au sud de la région du Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie et Libye) avec une forte abondance sur les hauts plateaux et au nord du Sahara dans le monde entier (Karmaoui, 2020).

3. Etude rétrospective de la leishmaniose cutanée dans la région de Tiaret

3.1. Répartition annuelle de nombre des cas de la leishmaniose cutanée (LC) de 2010 à 2020

La distribution annuelle des cas de la LC à Tiaret porte sur des données enregistrées de l'année 2010 à l'année 2020, qui rapportent que le nombre total des cas collectés était égal à 693 cas.

Le nombre des cas relevés dans la présente étude est inférieur à celui mentionné dans l'étude rétrospective menée entre 2010 et 2020 dans la wilaya de Batna (nord-est de l'Algérie) par Messahel *et al.* (2021) qui ont observé un nombre total de 9259 cas.

Cette différence dans le nombre des cas peut être attribuée à divers facteurs naturels ou humains. De manière générale, le réchauffement climatique, l'altitude de la région et les activités humaines (déforestation, agriculture, urbanisation, construction de barrages et irrigation) ont été incriminés pour avoir un impact direct sur la flore et la faune et par conséquent influencer la densité et l'abondance des phlébotomes ainsi que le nombre et la diversité du réservoir. De plus, les mauvaises conditions de logement, l'assainissement inadéquat, la malnutrition, la pauvreté et la migration des populations sont considérés comme les principaux facteurs de risque (Bennai *et al.*, 2018; Hamiroune *et al.*, 2019; Messahel *et al.*, 2021).

3.2. Distribution mensuelle de nombre des cas de la leishmaniose cutanée (LC) de 2016 à 2020

L'étude de la distribution mensuelle des cas de la LC à Tiaret ne couvre qu'une période de 5 ans de 2016 à 2020. D'après l'évolution mensuelle de la maladie de 2016 à 2020, on peut observer une fluctuation des cas de la LC avec des pics en deux saisons (automne et hiver). Cependant, les saisons du printemps et de l'été présentaient des taux faibles. On peut également noter que l'incidence de la LC a atteint des valeurs maximales en novembre et décembre pour l'année 2019. Alors que les mois de janvier et février ont été marqués par les valeurs les plus élevées pour les années 2016 et 2020.

Ce résultat peut être expliqué par la présence de vecteurs et de réservoirs, qui sont principalement liés aux conditions climatiques.

Les mêmes observations ont été faites lors de l'étude menée par Zait et Hamrioui en 2009, qui ont expliqué que l'effet saisonnier des cas de la LC était lié à la dynamique saisonnière des vecteurs et à la période d'incubation de la maladie. Alors que d'autres auteurs ont suggéré l'absence d'une saison préférentielle pour la maladie, mais ils ont enregistré des pics discrets de la maladie pendant les mois de mars, avril et juillet (Barchiche et Madiou,

2009). Cependant, Masmoudi *et al.* (2005) montrent que les signes de la maladie (lésions cutanées) apparaissent un à deux mois ou plus après la piqûre infectante des phlébotomes femelles, ce qui rend le pic hivernal peu représentatif de la période à risque.

3.3. Distribution de nombre des cas de la leishmaniose cutanée (LC) par tranches d'âge de 2016 à 2020

Cette étude montre que la tranche d'âge la plus touchée est celle des moins de 10 ans (134 cas), suivie par la tranche d'âge de plus de 50 ans (64 cas), puis celle de 11-20 ans (63 cas). Cependant, la tranche d'âge de 41-50 ans est la moins touchée avec 37 cas.

Un résultat similaire concernant les groupes d'âge les plus touchés a été rapporté par Zait *et al.* (2012). De même, Barchiche et Madiou (2009) ont noté une sensibilité élevée chez les enfants âgés de 1 à 9 ans. De même, Izri *et al.* (1992) et Messahel *et al.* (2021) ont montré que la tranche d'âge la plus touchée était celle des enfants de moins de 5 ans.

Les lésions de la LC touchent principalement les enfants d'âge préscolaire (OMS, 2010). Cela peut s'expliquer par un système immunitaire moins développé dans cette tranche d'âge, contrairement aux adultes qui ont développé une immunité contre la maladie suite à une exposition antérieure au parasite à une période précise de leur vie (Zait *et al.*, 2012; Messahel *et al.*, 2021).

3.4. Distribution des nombres de cas de la leishmaniose cutanée (LC) par sexe (2016 à 2020).

Les études précédentes rapportent une légère prédominance chez le sexe masculin par rapport au sexe féminin (Barchiche et Madiou, 2009; Fendri *et al.*, 2011; Izri *et al.*, 2021). Plusieurs auteurs ont cité des résultats similaires. Hamiroune *et al.* (2019) ont noté un taux de 57,83% chez le sexe masculin contre 42,17% chez le sexe féminin. De même Messahel *et al.* (2021) ont enregistré un taux de 58,6% chez le sexe masculin et 41,4% chez le sexe féminin. Le taux élevé chez les garçons ou les hommes s'explique par le fait que ces derniers en Algérie et surtout dans les régions steppiques sont plus exposés à la maladie puisqu'ils doivent s'occuper du bétail ou travailler dans les champs où le risque de piqûres de phlébotomes est élevé. De plus, selon les traditions de la région, les hommes portent des vêtements courts et moins couvrants que les femmes, surtout en été, ce qui rend les hommes plus vulnérables aux infections. Nous pouvons également ajouter que les hommes peuvent passer plus de temps le soir à l'extérieur, où ils sont plus susceptibles d'être exposés aux phlébotomes que les femmes (Messahel *et al.*, 2021).

Cependant, Zait *et al.* (2012) n'ont trouvé aucune différence entre les deux sexes. Néanmoins, des résultats inverses à ceux obtenus dans cette étude ont été trouvés par El Assri *et al.* (2016) avec une prédominance de l'infection chez les femmes avec un taux de 55,12%

contre 44,88% pour les hommes dans la région du Gharb-Maroc. De même, Traoré *et al.*(2011) au Burkina Faso et Masmoudi *et al.* (2005) en Tunisie ont noté des résultats similaires. Cela peut s'expliquer par le fait que les femmes sont beaucoup plus impliquées dans les activités de l'agriculture traditionnelle, ou par le fait que les hommes, de par leur profession ou leur négligence, consultent rarement un médecin ou seulement en cas de complications. Ce qui, est en faveur d'une sous-déclaration des hommes (El Assri *et al.*, 2016).

3.5. Distribution des cas de la leishmaniose cutanée (LC) de (2016-2020) selon leurs origines géographiques

Les localités les plus touchées sont situées dans le sud et le centre de la wilaya qui représentent les climats : semi-arides et arides qui sont dominés par le réservoir et le vecteur responsable de la transmission de la leishmaniose cutanée (Benikhlef *et al.*, 2004; Bachi, 2006; Benikhlef *et al.*, 2021; Izri *et al.*, 2021).

4. La relation entre la leishmaniose humaine et canine et la distribution de vecteur dans la wilaya de Tiaret

Malgré le nombre très important des chiens infectés par la leishmaniose canine et la présence de vecteur (*Phlebotomus perniciosus*) au niveau du nord de la wilaya, aucun cas de la leishmaniose viscérale humaine n'a été déclaré durant les dix dernières années selon la DSP de la wilaya de Tiaret. Ce qui peut être dû au fait que le diagnostic final de la maladie est réalisé au niveau des grands hôpitaux comme le CHU d'Oran. Si non cette constatation soulève de nombreuses questions sur l'importance de chien comme réservoir des formes de la leishmaniose humaine outre que la leishmaniose viscérale.

Si on fait une comparaison entre la distribution de nombre des cas de la leishmaniose canine avec celle de la leishmaniose cutanée humaine selon la région, on peut noter:

-Le nord de Tiaret :

46 chiens sont atteints par la leishmaniose canine dans le nord de la wilaya et seulement 12 cas de la leishmaniose cutanée humaine ont été recensés au cours des dix dernières années au niveau de cette région.

Comme nous l'avons cité, le nord de la wilaya de Tiaret avec sa végétation représente une zone favorable pour la présence et la distribution de *L.infantum*, agent causal de la leishmaniose canine et viscérale humaine (Izri *et al.*, 2021)

-Le sud de la Tiaret :

Seulement 12 chiens sont atteints par la leishmaniose canine tandis que 337 cas de la LC humaine ont été enregistrés au niveau des daïras de sud de TIARET.

Cette région est caractérisée par un climat semi aride à aride surtout dans les régions limitrophes avec la wilaya d'El-Bayad, Djelfa et Laghouat. C'est l'air préférentiel de distribution de *L. major*, agent responsable de la LC humaine et dont le vecteur et le réservoir prouvés sont *Phlebotomus papatasi* et *Psammomys obesus*, respectivement (Belazzoug, 1983).

D'après l'étude réalisée par Izri *et al.* (2021), la wilaya de Tiaret est une région endémique par les deux espèces de *leishmania*, *L.infantum* dans le nord et *L. major* dans le sud.

-Le centre de Tiaret

Cette région constitue une zone de contact et de transition entre la distribution des deux espèces de *leishmania* (*L.infantum* et *L.major*).

C'est une région fortement touchée par la leishmaniose canine avec 59 cas positifs et au même temps selon les données enregistrées de la leishmaniose cutanée humaine, 62 cas ont été recensés.

L.infantum avec ces deux zymodemes MON-1 et le MON-24 qui sont responsables de la leishmaniose viscérale humaine et la leishmaniose cutanée du nord respectivement et dont le réservoir est le chien. Ces deux zymodèmes sont les plus caractérisés chez les patients, les vecteurs et même les réservoirs (Belazzoug, 1983; Harrat *et al.*, 1996; Belazzoug *et al.*, 1985; Izri et Belazzoug, 1993; Dedet et Belazzoug, 1985).

Cette situation nous amène à penser au rôle du chien comme réservoir des deux formes de la leishmaniose humaine (viscérale et cutanée) dans le centre de Tiaret mais pour prouver cette hypothèse on doit isoler les souches canines, faire des typages enzymatiques et comparer les cas canins avec celle des humains pour prouver cette hypothèse.

Conclusion

La leishmaniose canine est une maladie parasitaire très grave et souvent mortelle pour le chien, le parasite en cause peut être transmis aux humains via la pique d'un phlébotome femelle et déclencher la leishmaniose humaine (forme viscérale ou cutanée).

La wilaya de Tiaret avec ses étages bioclimatiques différents représente une zone préférentielle pour le développement et l'extension de plusieurs espèces de *Leishmania*.

Cette étude confirme la présence de la leishmaniose canine dans la wilaya de Tiaret avec des variations selon la région, le berger d'atlas était la race dominante dans cette étude vu le nombre important des chiens présents dans cette région car c'est une race utilisée par les éleveurs pour la garde de leurs troupeaux, les résultats de diagnostic et de dépistage de la maladie a montré qu'il y a un nombre important des chiens touchés.

Plusieurs techniques de diagnostic ont été utilisées dans cette étude, la PCR représente la technique la plus sensible pour le diagnostic et le dépistage de la maladie. Les techniques sérologiques (IFI et ELISA) ont montré une sensibilité plus élevée chez les chiens symptomatiques. La cytologie ganglionnaire représente une technique efficace et facile pour le diagnostic de la maladie et qui peut être utilisée même dans les cabinets vétérinaires.

L'IT-leish qui est une technique utilisée pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale humaine, a montré son efficacité pour le diagnostic de la leishmaniose canine.

Le signe le plus frappant de la leishmaniose canine chez le berger d'atlas était la détérioration de son état général, ce qui peut être observé par les éleveurs vu l'intérêt de sensibiliser ces derniers aux risques de cette maladie.

Les résultats de l'enquête entomologique ont montré la présence de *Phlebotomus perniciosus* dans le nord de la wilaya, qui est une espèce importante dans l'épidémiologie de la leishmaniose canine et la leishmaniose viscérale humaine.

L'étude rétrospective de la leishmaniose humaine, a montré qu'il n'y a pas de cas de leishmaniose viscérale, tandis que la leishmaniose cutanée humaine est plus concentrée dans le sud et le centre de la wilaya avec des pics en automne et l'hiver.

Perspectives

Au terme de notre étude, nous pouvons recommander de ;

-Réaliser un dépistage systématique des chiens de toutes races au niveau de la wilaya de Tiaret.

-Sensibiliser les éleveurs aux risques de la leishmaniose canine et l'importance de prendre soin de leurs chiens.

-Réaliser des enquêtes entomologiques dans toutes les régions de la wilaya de Tiaret.

-Isoler les souches de *Leishmania* chez les canins et les humains pour savoir les zymodèmes qui circulent dans la wilaya et déterminer le rôle de chien dans l'épidémiologie de la leishmaniose humaine.

-Réaliser des études sur le réservoir sauvage de la maladie.

-Accompagner et évaluer l'impact des campagnes de désinsectisation.

*Références
Bibliographiques*

A

1. Abonnenc E (1972) Les phlébotomes de la région éthiopienne (Diptera, Psychodidae). Memoires O.R.S.T.O.M
2. Achir, M. & Hellal, B. (2016). Réflexions sur les variations pluviométriques de la région de Tiaret (Algérie occidentale) durant la période: 1984 – 2015. European Journal April Edition Vol. 12, No 11, 1857-7881, 1857-7431, 498-508.
3. Adamama-Moraitou, K.K., Rallis, T.S., Koytinas, A.F., Tontis, D., Plevraki, K., Kritsepi, M. (2007). Asymptomatic colitis in naturally infected dogs with *Leishmania infantum*: A prospective study. Am. J. Trop. Med. Hyg., 76(1), 53–57.
4. Adams, E.R., Jacquet, D., Schoone, G., Gidwani, K., Boelaert, M., Cunningham, J. (2012). Leishmaniasis Direct Agglutination Test: Using Pictorials as Training Materials to Reduce Inter-Reader Variability and Improve Accuracy. PLOS. Neglected Tropical Diseases, volume 6, issue 12, 1-6.
5. Adel, A., Abatih, E., Speybroeck, N., Soukehal, A., Bouguedour, R., Boughalem, K., Bouhbal, A., Djerbal, M., Saegerman, C., Berkvens, D. (2015). Estimation of Canine *Leishmania* Infection Prevalence in Six Cities of the Algerian Littoral Zone Using a Bayesian Approach. PLOS One, 1-17.
6. Adel, A., Saegerman, C., Speybroeck, N., Praet, N., Victor, B., Deken, R., Soukehal, A., Berkvens, D. (2010). Canine leishmaniasis in Algeria: True prevalence and diagnostic test characteristics in groups of dogs of different functional type. Veterinary Parasitology 172. Elsevier, 204-213.
7. Ait-Oudhia, K., Lami, P., Lesceu, S., Harrat, Z., Hamrioui, B., Dedet, J.P., Pratlong, F. (2009). Increase in the prevalence of canine leishmaniasis in urban Algiers (Algeria) following the 2003 earthquake. Annals of Tropical Medicine & Parasitology, Vol. 103, No. 8. The Liverpool School of Tropical Medicine, 679-692.
8. Akhoundi, M., Kuhls, K., Cannet, A., Votycka, J., Marty, P., Delaunay, P., Sereno, D. (2016). A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. PLOS. Neglected Tropical Diseases 10(3): e0004349, 1-40.

9. Almeida AB, Sousa VR, Gasparetto ND, et al (2013) Canine visceral leishmaniasis: 420 diagnostic approaches based on polymerase chain reaction employing different biological 421 samples. *Diagnostic Microbiology Infectious Disease* 76(3): 321-4.
10. Alvar J., Cañavate C., Molina R. et al (2004) Canine leishmaniasis. *Advances in Parasitology* 57:1-88.
11. Amusatogui I., Sainz A., Aguirre E. et al (2004) Seroprevalence of *Leishmania infantum* in Northwestern Spain, an Area Traditionally Considered Free of Leishmaniasis. *Annals New York Academy of Sciences* 1026:154-7.
12. Ashford, D.A., Bozza, M., Freire, M., Miranda, J.C., Sherlock, I., Eulalio, C., Lopes, U., Fernandes, O., Degraeve, W., Barker, R.H.J.R. (1995). Comparison of polymerase chain reaction and serology for the detection of canine visceral leishmaniasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 53(3), 251-255.
13. Ayene, Y. Y., Moheballi, M., Hajjaran, H., Akhoundi, B., Shojaee, S., Rahimi-Foroushani, A., Afshar, M.J.A., Zarei, Z. (2021). A comparative study of nested-PCR and direct agglutination test (DAT) for the detection of *Leishmania infantum* infection in symptomatic and asymptomatic domestic dogs. *BMC Res Notes*, 14:270, 1-6.

B

14. Bachi, F. (2006). Aspects épidémiologiques et cliniques des leishmanioses en Algérie The epidemiological and clinical aspect of leishmaniasis in Algeria; Mise au point. *La Lettre de l'Infectiologue*, Tome XXI, n° 1, 9-15.
15. Baneth, G. (2010). Canine Leishmaniasis. *World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings*, 1-4.
16. Baneth, G., Koutinas, A.F., Solano-Gallego, L., Bourdeau, P., Ferrer, L. (2008). Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in Parasitology* Vol.24 No.7, 324-330.
17. Bañuls, A.L., Hide, M., Prugnolle, F. (2007). *Leishmania* and the Leishmaniases: A Parasite Genetic Update and Advances in Taxonomy, Epidemiology and Pathogenicity in Humans.
18. Barchiche, N. A. & Madiou, M. (2009); Recrudescence des leishmanioses cutanées: à propos de 213 cas dans la wilaya de Tizi-Ouzou Outbreak of cutaneous leishmaniasis:

- About 213 cases in the wilaya of Tizi-Ouzou. Elsevier Masson. Science Direct. Pathologie Biologie, 57, 65-70.
19. Barrouin-Melo S. M., Larangeira D. F., De Andrade Filho F. A. et al (2006) Can spleen aspirations be safely used for the parasitological diagnosis of canine visceral leishmaniosis? A study on asymptomatic and polysymptomatic animals. Veterinary Journal 171(2):331-6.
 20. Belazzoug, S. The new focus of cutaneous leishmaniasis of M'sila (Algeria). Natural infection of *Psammomys obesus* (Rodentia, Gerbillidae). Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales. 1983, 76, 146–149.
 21. Belazzoug, S.; Lanotte, G.; Maazoun, R.; Pralong, F.; Rioux, J.A. Un nouveau variant enzymatique de *Leishmania infantum* Nicolle, 1908, agent de la leishmaniose cutanée du Nord de l'Algérie. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 1985, 60, 1–3.
 22. Bellatreche, A.Y., Medkour, H., Blaga, R., Le Roux, D., Miroud, K., Ait-OudhiaK. (2020). Evaluation of commercial Elisa, indirect immunofluorescence test and qpcr for the diagnosis of *Leishmaniainfantum* in asymptomatic dogs from Bouira, Northeast Algeria. Veterinaria Vol. 70, Issue 1, 15-25.
 23. Benallal KE, Benikhlef R, Garni R, Gassen B, Dedet J-P, Harrat Z. Presence of *Phlebotomus perniciosus* Atypical Form in Algeria. J Arthropod Borne Dis. 2017; 11 (1):139.
 24. Benallal, K.E., Garni, R., Harrat, Z., Volf, P., Dvorak, V. (2022). Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of the Maghreb region: A systematic review of distribution, morphology, and role in the transmission of the pathogens. PLOS Neglected Tropical Diseases 16 (1), 1-51.
 25. Benikhlef, R., Harrat, Z., Toudjine, M., Djerbouh,A., Bendali-Braham, S., Belkaid, M. (2004). Présence de *leishmania infuntum* mon-24 chez le chien. Communication. Med Trop, 64, 381-383.
 26. Benikhlef, R.; Aoun, K.; Boudrissa, A.; Ben Abid, M.; Cherif, K.; Aissi, W.; Benrekta, S.; Boubidi, S.C.; Späth, G.F.; Bouratbine, A.; et al. Cutaneous Leishmaniasis in Algeria; Highlight on the Focus of M'Sila. Microorganisms 2021, 9, 962.
 27. Bennai, K., Tahir, D., Lafri, I., Bendjaballah-Laliam A., Bitam, I., Parola, P. (2018). Molecular detection of *Leishmaniainfantum* DNA and host blood meal identification in *Phlebotomus* in a hypoendemic focus of human leishmaniasis in northern Algeria. PLOS Neglected Tropical Diseases, 12 (6), 1-13.

28. Boukraa S, Boubidi S, Zimmer J-Y, Francis F, Haubruge E, Alibenali-Lounaci Z, et al. Surveillance des populations de phlébotomes (Diptera: Psychodidae), vecteurs des agents responsables des leishmanioses dans la région du M'Zab-Ghardaïa (Algérie). *Entomol Faun = Faun Entomol.* 2010; 63 (3):97– 101.
29. Bourdoiseau, G., Chermette, R. (2015). La leishmaniose canine à *Leishmania infantum*: données actuelles sur une zoonose négligée. Elsevier Masson SAS. *Revue francophone des laboratoires*, N°477, 25-34.
30. Bourdoiseau, G., Denerolle, Ph. (2000). Traitement de la leishmaniose canine : actualités. *Revue Méd. Vét.*, 151, 5, 395-400.
31. Bourée, P., Bisaro, F., Ensaf, A. (2014). Les leishmanioses : une zoonose aux multiples aspects. *Formation synthèse. Option Bio n°502*, 1-19.
32. Brunhes, J., Hassain, K., Rhaim, A., Hervy, J.P. (2000). Les espèces de l'Afrique méditerranéenne: espèces présentes et répartition (Diptera-Nematocera). *Bulletin de la société entomologique de France*, 105(2), 195-204.

C

33. Campino, L.M. (2002). *Canine reservoirs and leishmaniasis: epidemiology and disease.* Springer Science+Business Media New York, 1-13.
34. Castagnaro, M., Crotti, A., Fondati, A., Gradoni, L., Lubas, G., Maroli, M., Oliva, G., Paltrinieri, S., Solano-Gallego, L., Roura, X., Zatelli, A., Zini, E. (2008). Leishmaniose du chien: lignes directrices concernant le diagnostic, les stades de la maladie, la thérapeutique, le monitoring et la prévention. *Ière Partie: Approche diagnostique et classification du patient atteint de leishmaniose et maîtrise du patient protéinurique*, 1-25.
35. Castelli, G.; Bruno, F.; Reale, S.; Catanzaro, S.; Valenza, V.; Vitale, F. Molecular Diagnosis of Leishmaniasis: Quantification of Parasite Load by a Real-Time PCR Assay with High Sensitivity. *Pathogens* 2021, 10, 865
36. Chaara, D., Ravel, C., Bañuls, A.L., Haouas, N., Lami, P., Talignani, L., El Baidouri, F., Jaouadi, K., Harrat, Z., Dedet, J.P., Babba, H., Pratlong, F. (2015) Evolutionary history of *Leishmania killicki* (synonymous *Leishmania tropica*) and taxonomic implications. *Parasites & Vectors*, 8:198. Bio Med Central, 1-9.

37. Chakour, M., Koeck, J.L., Maslin, J., Nicand, E., Chadli, M., Nizou, J.Y., Buisson, Y. (2003). Diagnostic biologique rapide en contexte épidémique: états des lieux, perspectives. Elsevier. Science direct. Médecine et maladies infectieuses 33, 396-412.
38. Cortes S., Vaz Y., Neves R. et al (2012) Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic 445 Mediterranean region. Veterinary Parasitology 189 (2-4): 189-96.
39. Courtenay O., Quinnell R. J., Garcez L. M. et al (2002) Low infectiousness of a wildlife host of *Leishmania infantum*: the crab-eating fox is not important for transmission. Parasitology 125(Pt 5):407-14 .
40. Cruz, I., Caiavate, C., Rubio, J.M., Morales, M.A., Chicharro, C., Laguna, F., Jiménez-Mejias, M., Sirera, G., Videla, S., Alvar, J., Spanish HIV-Leishmania study group. (2002). Diagnosis. A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum* infection in patients co-infected with human immuno-deficiency virus. Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene 96, supplement 1, 185-189.

D

41. Da Costa-Val A. P., Cavalcanti R. R., De Figueiredo Gontijo N. et al (2007) Canine visceral leishmaniasis: Relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. Veterinary Journal 174(3):636-43.
42. Dantas-Torres, F. (2007). The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Elsevier. Science Direct. Veterinary Parasitology 149, 139–146.
43. Dedet, J.D., Addadi, K., Lannuzel, B.(1977). Epidemiology of leishmaniasis in Algeria.7. Visceral leishmaniasis in the grandekabylie focus. Bull SocPatholExotFiliales 70 (3), 250-265.
44. Dedet, J.P. (2009). Leishmanies, leishmanioses: biologie, clinique et thérapeutique. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). Maladies infectieuses, 8-506-A-10, 1-14.
45. Dedet, J.P., Addadi, K., Paschl, R. (1972). Epidemiology of leishmaniasis in Algeria. 2 seasonal variations of dog leishmaniasis in Algiers. Arch. Inst. Pasteur d'Algérie, 19752902989, 195-201.

46. Dedet, J.P.; Belazzoug, S. Leishmaniasis in North Africa; Chang, K.P., Bray, R.S., Eds.; Leishmaniasis; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1985; pp. 353–375.
47. Dereure, J., Lanotte, G., Pratlong, F., Gouvernet, J., Majhour, J., Belazzoug, S., Khiami, A., Rageh, H. A., Jarry, D., Périères, J., Rioux, J.A. (1998). Leishmaniose canine à *Leishmania infantum* : intérêt et réalisation du test au latex. Applications en éco-épidémiologie, 1-6.
48. Dey, A. & Singh S. (2006). Transfusion transmitted leishmaniasis: a case report and review of literature. Indian Journal of Medical Microbiology 24(3), 165-170.
49. Di Pietro, S., Crinò, C., Falcone, A., Crupi, R., Francaviglia, F., Vitale, F., Giudice, E. (2020). Parasitemia and its daily variation in canine leishmaniasis. Protozoology Research, 1-8.
50. Djerbouh, A., Toudjine, M., Djoudi, M. Benikhlef, R., Harrat, Z. (2005). La leishmaniose canine en Algérie: essai de traitement par l'allopurinol. Article Original. Ann. Méd. Vét., 149, 132-134.

É

51. El Aasri, A., Zakaria, A., El Kharrim, K., Belghyti, D., Aqachmar, Y., Hadji M. (2016). Profil epidemiologique de la leishmaniose cutanee dans la region du Gharb- Maroc De 2006 À 2014. European Scientific Journal January 2016 edition, vol.12, No.3, 1857–7881, 1857-7431, 243-250.
52. El Harith, A., Slappendel, R.J., Reiter, I., Knapen, F.V., Korte, P., Huigen, E., Kolk, A.H.J. (1989). Application of a Direct Agglutination Test for Detection of Specific Anti-*Leishmania* Antibodies in the Canine Reservoir. Journal of clinical microbiology, Vol. 27, No. 10, 2252-2257.
53. Elhadi, F., Babeker, A., Elhaj, H., Alahmri, F., Almuflih, L., Alkibbashi, R. (2022). Entomological Survey of Sandflies Vector (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in Asser Region, Saudi Arabia. European Journal of Biology and Biotechnology, Vol 3, Issue 1, 47-50.
54. Elikae, S., Moheballi, M., Rezaei, S., [Eslami, H.](#), [Khamesipour, A.](#), [Keshavarz, H.](#), [Eshraghian, M.R.](#) (2019). *Leishmania major* p27 gene knockout as a novel live attenuated vaccine candidate: Protective immunity and efficacy

- evaluation against cutaneous and visceral leishmaniasis in BALB/c mice. Elsevier. Vaccine 37, 3221-3228.
55. Elmahallawy, E.K., Martinez, A.S., Granger, J.R., Hoyos-Mallecot, Y., Agil, A., Mari, J.M.N., Fernandez, J.G. (2014). Diagnosis of leishmaniasis. J Infect Dev Ctries, 8 (8), 961-972.
56. Espérandieu, G., Coppé, G.E.B., Chaker, S. (1994). Chien. Encyclopédie berbère. 13 Chèvre–Columnatien, 2262-7197, 1-8.

F

57. Farrell, J.P. (2002). *Leishmania*. Springer science+business media, LLC, 978-1-4613-5322-5, 978-1-4615-0955-4, 1-191.
58. Fédération Cynologique Internationale (AISBL). (2003). Chien de montagne de l'Atlas (AïDI). Standard FCI N° 247. Secretariat General: 13, Place Albert 1er B-6530 Thuin (Belgique), 1-8.
59. Fellah, H., Doughmi O., Maniar S., El Ouali Lalami, A. (2014). Etude séro-épidémiologique de la leishmaniose canine au centre du Maroc. Pan African Medical Journal, 1937-8688. African Field Epidemiology Network (AFENET), 1-6.
60. Fendri, A.H., Beldjoudi, W., Ahraou, S., Djaballah M. (2011). Leishmaniasis in Constantine (Algeria): Review of five years (2006–2010) at the University Hospital. Santé publique/Public health. Bull. Soc. Pathol. Exot., 105, 46-48.
61. Ferreira, E.C., Lana, M., Carneiro, M., Reis, A.B., Paes, D.V., Silva, E.S., Schallig, H., Gontijo, C.M.F. (2007). Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. Elsevier. Science Direct. Veterinary Parasitology 146, 235-241.
62. Filippi, C., Malherbe, L., Julia, V., Glaichenhaus, N. (2001). L'immunité contre les leishmanies. Med Sci 17, 1120-1128.
63. Fisa, R.; Gallego, M.; Riera, C.; Aisa, M. J.; Valls, D.; Serra, T.; de Colmenares, M.; Castillejo, S.; Portus, M. (1997). Serologic Diagnosis of Canine Leishmaniasis by Dot-ELISA. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 9(1), 50–55.

G

64. Gardiner, C.H., Fayer, R., Dubey, J.P. (1988). An Atlas of protozoan parasites in animal tissues. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. Agriculture Handbook Number 651, 1-83.
65. Gharbi, M., Jaouadi, K., Mezghani, D., Darghouth, M.A. (2018). Symptoms of Canine Leishmaniosis in Tunisian Dogs. Symptômes de la leishmaniose canine chez des chiens tunisiens. Bull. Soc. Pathol. Exot. 111; Veterinary Medicine / Médecine Vétérinaire. Lavoisier, 51-55.
66. Gharbi, M., Mhadhbi, M., Rejeb, A. Jaouadi,K., Rouatbi,M., Darghouth, M.A. (2015). Leishmaniosis (*Leishmania infantum* infection) in dogs. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 34 (2), 613-626.
67. Giunchetti, R.C., Martins-Filho, O.A., Carneiro, C.M., Mayrink, W., Marques, M.J., Tafuri, W.L., Correa-Oliveira, R., Reis, A. B. (2008). Histopathology, parasite density and cell phenotypes of the popliteal lymph node in canine visceral leishmaniasis. Elsevier. Science direct. Veterinary Immunology and Immunopathology 121, 23-33.
68. Guarga J. L., Moreno J., Lucientes J. et al (2000) Canine leishmaniasis transmission: higher infectivity amongst naturally infected dogs to sand flies is associated with lower proportions of T helper cells. Research in Veterinary Science 69(3): 249-53.
69. Guerra, J.M., Fernandes, N.C.C.A., Réssio, R.A., Magno,J.A., Kimura,L.M., Barbosa,J.E.R., Bertollo,D.M.B., Taniguchi, H.H., Hiramoto,R.M., Motoie, G., Tolezano,J.E., Cogliati, B.(2019). Évaluation des techniques cytopathologiques pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale canine avec des échantillons de ganglions lymphatiques. Elsevier.Maladie infectieuse. Journal of comparative pathology, volume 172, 62-71.

H

70. Hamiroune, M., Selt, F., Senni, Z., Saidani, K., Djemal, M. (2019). Epidemiological situation of human cutaneous leishmaniasis in the steppic region of Djelfa in Algeria: Incidence and factors of variation. International Journal of Innovation and Applied Studies, 2028-9324, Vol. 26 No. 1, 253-261.

71. Hanafi, H.A., Fryauff, D.J., Modi, G.B., Ibrahim, M.O., Main, A.J.(2007). Bionomics of phlebotomine sandflies at a peacekeeping duty site in the north of Sinai, Egypt. Elsevier. Science Direct. Acta Tropica 101, 106-114.
72. Harrat, Z. & Belkaid, M. (2003). Les leishmanioses dans l'Algérois. Données épidémiologiques. Bull Soc Pathol Exot 96, 3, 212-214.
73. Harrat, Z.; Pratlong, F.; Belazzoug, S.; Dereure, J.; Deniau, M.; Rioux, J.A.; Belkaid, M.; Dedet, J.P. Leishmania infantum and L. major in Algeria. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 1996, 90, 625–629.
74. Hotez PJ, Savioli L, Fenwick A. Neglected tropical diseases of the middle east and north africa: Review of their prevalence, distribution, and opportunities for control. PLoS Negl Trop Dis. 2012; 6 (2): e1475.

1

75. Iniesta L., Fernandez-Barredo S., Bulle B. et al (2002) Diagnostic Techniques To Detect Cryptic Leishmaniasis in Dogs. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 9(5):1137- 9.
76. IT LEISH. BIO-RAD.(2015). Test individuel de détection des anticorps dans la Leishmaniose Viscérale Humaine. REF 710124, 3, boulevard Raymond Poincaré 92430 Marnes-la Coquette France, Available on: https://www.biorad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/fr/710124_881178_FR.pdf. Accessed on: 02-02-2021.
77. Izri M., Belazzoug S, Pratlong F, Rioux J. Isolation of Leishmania major in Phlebotomus papatasi in Biskra (Algeria). The end of an ecoepidemiological saga. Ann Parasitol Hum Comp. 1992; 67(1):31–2.
78. Izri MA, Belazzoug S, Boudjebba Y, Dereure J, Pratlong S, Delalbre-Belmonte A, et al. Leishmania infantum Mon-1 isolated of Phlebotomus perniciosus, in Kabylia (Algeria). Ann Parasitol Hum Comp. 1990; 65 (3):151–2.
79. Izri MA, Belazzoug S. Phlebotomus (Larrousius) perfiliewi naturally infected with dermatropic Leishmania infantum at Tenes, Algeria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1993; 87(4):399

80. Izri, A., Bendjaballah-Laliam, A., Sereno, D., Akhouni, M. (2021). Updates on Geographical Dispersion of Leishmania Parasites Causing Cutaneous Affections in Algeria. MDPI. Pathogenes 10, 267, 1-12.
81. Izri, M.A. & Belazzoug, S. (1993). *Phlebotomus (Larrousius) petfiliewi* naturally infected with dermatropic *Leishmania infantum* at Tenes, Algeria. Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene, 87, 399.
82. Izri, M.A., Belazzoug, S., Boudjebba, Y., Dereure, J., Pratlong, S., Delalbre-belmonte, A., Rioux, J.A. (1990). *Leishmania infantum* MON-1 isolé de *phlebotomus perniciosus*, en kabylie (Algérie). Ann. Parasitol. Hum. Comp., 65: n° 3, 151-152.

Κ

83. Karmaoui A. Seasonal Distribution of *Phlebotomus papatasi*, Vector of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis. Acta Parasitol. 2020 Apr 28;1–14.
84. Kumar, A. (2013). *Leishmania* and Leishmaniasis. Springer briefs in immunology, 2194-2781, 978-1-4614-8869-9, 1-83.

Λ

85. Lachaud L., Marchergui-Hammami S., Chabbert E. et al (2002) Comparison of Six PCR Methods Using Peripheral Blood for Detection of Canine Visceral Leishmaniasis; Journal of Clinical Microbiology 40 (1): 210-5.
86. Leger, N. & Depaquit, J. (2001). Les phlébotomes et leur rôle dans la transmission des leishmanioses. Dossier scientifique. Ectoparasites et vecteurs d'intérêt médical. Revue Française des Laboratoires, N°338, 41-48.
87. Léger N, Pesson B, Madulo-Leblond G, Abonnenc E (1983) Sur la différenciation des femelles du sous-genre *Larrousius* Nitzulesc, 1931 (Diptera, Phlebotomidae) de la région méditerranéenne. Ann Parasitol Hum Comp 58:611–623.

M

88. Manna, L., Vitale, F., Reale, S., Caracappa, S., Pavone, L.M., Morte, R.D., Cringoli, G., Staiano, N., Gravino, A.E. (2004). Comparison of different tissue sampling for PCR-based diagnosis and follow-up of canine visceral leishmaniosis. Elsevier. Science Direct. *Veterinary Parasitology* 125, 251-262.
89. Mansouri, R., Bachi, F., Hamrioui, B.(2013). Apport du western blot au sérodiagnostic de la leishmaniose chez les chiens asymptomatiques dans la région urbaine d'Annaba, Nord-Est d'Algérie. Contribution of Western Blot in serodiagnosis of leishmaniasis in asymptomatic dogs in the urban area of Annaba, North-East Algeria. *Parasitologie. Bulletin de la Société zoologique de France* 138 (1-4), 53-60.
90. Maroli, M., Feliciangeli, M.D., Bichaud, L., Charrel, R.N., Gradoni, L. (2013). Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Medical and Veterinary Entomology*, 27, 123-147.
91. Martinetti L; 2013; Dépistage, traitement et prévention de la leishmaniose canine en corse: enquête auprès des vétérinaires praticiens de l'île; Thèse de docteur vétérinaire; École nationale vétérinaire; Université de Toulouse; p 57
92. Martinez V., Quilez J., Sanchez A., et al (2011) Canine leishmaniasis: the key points for qPCR result interpretation. *Parasite & Vectors* 4:57.
93. Martinez-Moreno, A., Moreno, T., Martinez-Moreno, F.J., et al (1995). Humoral and cell mediated immunity in natural and experimental canine leishmaniasis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 48(3-4): 209–20.
94. Martín-Sánchez J., Morales-Yuste M., Acedo-Sánchez C. et al (2009) Canine leishmaniasis in south eastern Spain. *Emerging Infectious Diseases* 15(5): 795-8.
95. Masmoudi, A., Ayadi, N., Boudaya, S., Meziou, T. J., Msedd, i M., Marrekchi, S., Bouassida, S., Turki, H., Zahaf, A. (2005). Polymorphisme clinique de la leishmaniose cutanée du centre et sud tunisien. *Bull Soc PatholExot*, 2007, 100, 1, p 36-40.
96. McConkey, S.E., López, A., Shaw, D., Calder, J. (2002). Leishmanial polyarthritis in a dog. *Can Vet J*, 43 (8), 607-609.
97. McHugh, M.L.(2012). Interrater reliability: the kappa statistic. *Lessons in biostatistics. BiochemiaMedica* 22(3), 276-282.

98. Medkour, H. (2017) La leishmaniose canine à Bouira et Sétif: étude séro-épidémiologique et mise en évidence de la relation vecteur phlébotome-réservoir canin; Thèse de magistère; École Nationale Supérieure Vétérinaire, Alger.
99. Medkour, H., Bitam, I., Laidoudi, Y., Lafri, I., Lounas, A., Hamidat, H.K., Mekroud, A., Varloud, M., Davoust, B., Mediannikov, O. (2020). Potential of Artesunate in the treatment of visceral leishmaniasis in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: Efficacy evidence from a randomized field trial. PLOS. Neglected Tropical Diseases 14(12), 1-18.
100. Medkour, H., Laidoudi, Y., Lafri, I., Bitam, I., Mediannikov, O., Davoust, B. (2019)^(a). Canine leishmaniosis and first report of *Leishmania infantum* in the blood of equids in Kabylia (Algeria). Abstracts / International Journal of Infectious Diseases 79 (S1), 117-118.
101. Medkour, H., Laidoudi, Y., Lafri, I., Davoust, B., Mekroud, A., Bitam, I., Mediannikov, O. (2019)^(b); Canine vector-borne protozoa: Molecular and serological investigation for *Leishmania spp.*, *Trypanosoma spp.*, *Babesia spp.*, and *Hepatozoon spp.* in dogs from Northern Algeria. Journal Pre-proof; Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports. VPRSR 10035, S2405-9390(19)30096-6, 1-18.
102. Messahel, N. E., Lafri, I., Moualek, I., Houali, K., Hakem, A. (2021). Epidemiological situation analysis of cutaneous leishmaniasis in Batna (northeast): An important focus in Algeria. Elsevier. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, 26, 100621, 1-10.
103. Mettler, M., Grimm, F., Capelli, G., Camp, H., Deplazes, P. (2005). Evaluation of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays, an Immunofluorescent-Antibody Test, and Two Rapid Tests (Immunochromatographic-Dipstick and Gel Tests) for Serological Diagnosis of Symptomatic and Asymptomatic *Leishmania* Infections in Dogs. Journal Of Clinical Microbiology, Vol. 43, No. 11, 5515-5519.
104. Miara MD., Ait Hamou, M., HADJADJ-AOUL, S et al(2013). BIOCLIMATS, ETAGES DE VEGETATION ET ZONATION ALTITUDINALE DES GROUPEMENTS VEGETAUX DANS LES MONTS DE TIARET (EXEMPLE DES GROUPEMENTS FORESTIERS ET PREFORESTIERS DU MASSIF. Revue Ecologie-Environnement (9) : 1112-5888.
105. Miranda S., Roura X., Picado A. et al (2008) Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniosis diseased dogs. Research in Veterinary Science 85(1)35–8.

106. Mohammadihaa, A., Haghghi, A., Mohebali, M., Mahdiand, R., Abadi, A.R., Zarei, Z., Yeganehf, F., Kazemi, B., Taghipour, N., Akhoundi, B., Barati, M., Mahmoudi, M.R. (2013). Canine visceral leishmaniasis: A comparative study of real-time PCR, conventional PCR, and direct agglutination on sera for the detection of *Leishmaniainfantum* infection. Elsevier. Science Direct. Veterinary Parasitology, 192, 83-90.
107. Mohebali, M. (2012). Epidemiological status of visceral leishmaniasis in Iran: Experiences and review of literature. Journal of Clinical and Experimental Pathology, 3, 2161–2681.
108. Mohebali, M., Hajjaran, H., Hamzavi, Y. et al. (2005) Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniosis in the Islamic Republic of Iran. Veterinary Parasitology 129(3-4):243- 251.
109. Montargil, S.M.A., Carvalho, F.S., Oliveira, G.M.S., Munhoz, A.D., Carlos, R.S.A., Wenceslau, A.A. (2018). Clinical, Hematological and Biochemical Profiles of Dogs with *Leishmania infantum*. Acta Scientiae Veterinariae, 46: 1548, 1679-9216, 1-7.
110. Morais, C.G.V., Lima, A.K.C., Terra, R., Santos, R.F., Da-Silva, S.A.G., Dutra, P.M.L. (2015). The Dialogue of the Host-Parasite Relationship: *Leishmania spp.* and *Trypanosoma cruzi* Infection. Hindawi Publishing Corporation. BioMed Research International Volume 2015, 324915, 1-19.
111. Morales-Yuste, M., Martin-Sanchez, J., Corpas-Lopez, V. (2022). Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. MDPI, Veterinary Sciences, 9, 387, 1-20.
112. Morales-Yuste, M., Morillas-Márquez, F., Díaz-Sáez, V., Barón-López, S., Acedo-Sánchez, C., Martín-Sánchez, J. (2012). Epidemiological implications of the use of various methods for the diagnosis of canine leishmaniasis in dogs with different characteristics and in differing prevalence scenarios. Parasitol Res 111, 155–164.
113. Moreira, M.A.B., Luvizotto, M.C.R., Garcia, J.F., Corbett, C.E.P., Laurenti, M.D. (2007). Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. Elsevier. Science Direct. Veterinary Parasitology 145, 245-252.
114. Moualek, I., Mouloua, A., Aiche, G.I. Harrar, A., Achour, N., Zerrouki, C., Mezine, O., Houali, K. (2017). In vitro activity of *Arbutus unedo* aqueous extract against *Leishmania infantum* promastigote. Annual research & review in biology, 12 (4). Article no.ARRB. 32556, 2347-565X, 101632869, SCIENCEDOMAIN international, 1-5.

115. Mouloua K. (2014) Étude éco-épidémiologique de la Leishmaniose canine en Kabylie; Thèse de docteur en sciences biologiques; Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, Algérie.
116. Mouloua, A., Boubidi, S.C., Bouiba, L., Mezai, G., Madiou, M., Harrat, Z. (2017). Impact environnemental sur la répartition des leishmanioses dans le foyer de Tizi-Ouzou (Algérie). *Revue Méd. Vét.* 168, 10-12, 252-261.
117. Movilla R., Altet L., Serrano L., et al (2017) Molecular detection of vector-borne pathogens in blood and splenic samples from dogs with splenic disease. *Parasites & Vectors* 10(1)131.

N

118. Niang, A.A., GEOFFROY, B., Angel, G., Trouillet, J., Killick-Kendrick, R., HERVY, J.P., BRUNHES, J. (2000). Les phlébotomes d'Afrique de l'Ouest: logiciel d'identification et d'enseignement. Paris (FRA). Dakar: IRD, 2-7099-1453-0, 1142-2580.

O

119. Oliveira, L.C.P., Araújo, R.R., Alves, C.R., Mouta-Confort, E., López, J.A., Mendonça-Lima, F.W. (2010). Seroprevalence and risk factors for canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Dias D'Avila, State of Bahia Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 43(4), 400-404.
120. Oliveira, M.R., Oliveira Neto, M.B., Bezerra, T.L., Silva, W.S.I., Paz, S.W., Dos Santos, I.G., Bezerra-Santos, M., Lima, V.F.S. (2021). Canine leishmaniasis in an endemic region, Northeastern Brazil: a comparative study with four groups of animals. *Protozoology-Short Communication. Parasitology Research* 120, 3915-3923.
121. Organisation mondiale de la Santé. (2010). La lutte contre les leishmanioses. Rapport de la réunion du comité OMS d'experts de la lutte contre les leishmanioses, 22-26 mars 2010, Genève (Suisse). OMS Série de rapports techniques N°949, 1-212.
122. Organisation Mondiale de la Santé (2011). Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire. No. 49, 86, 557-564. Disponible sur le site: wer8649.pdf (polioeradication.org). Consulté le: 18-05-2022.

123. Organisation Mondiale de la Santé(2017). Global leishmaniasis update, 2006-2015: a turning point in leishmaniasis surveillance. Weekly epidemiological record, NO 38, 557-565. Disponible sur le site: [WER9238-557-565.pdf \(who.int\)](#). Consulté le: 18-05-2022.
124. Oranisation Mondiale de Santé (2021).Global leishmaniasis surveillance: 2019–2020, a baseline for the 2030 roadmap. Weekly epidemiological record. Relevé épidémiologique hebdomadaire, No 35, 96, 401-420. Availableon:[WER9635-eng-fre.pdf \(reliefweb.int\)](#).Accessedon:08/12/2021.
125. Organisation Mondiale de la Santé (2022). Leishmaniasis. Disponible sur le site: [Leishmaniasis \(who.int\)](#). Consulté le: 29-06-2022.

P

126. Paek, S.H., Lee, S.H., Cho, J.H., Kim, Y.S. (2000). Development of Rapid One-Step Immunochromatographic Assay. *Methods* 22, 53-60.
127. Paltrinieri, S., Solano-Gallego, L., Fondati, A., Lubas, G., Gradoni, L., Castagnaro, L., Crotti, A., Maroli, M., Oliva, G., Roura, X., Zatelli, A., Zini, E. (2010). Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Vet Med Today: Reference Point JAVMA*, Vol 236, No. 11, 1184-1191.
128. Pinto M. C., Campbell-Lendrum D. H., Lozovei A. L.et al (2001) Phlebotomine sandfly 546 responses to carbondioxide and human odour in the field. *Medical and Veterinary 547 Entomology* 15(2):132-9.
129. Poul, J. (1950). Incidence of leishmaniasis in dogs in Algeria and the value of the formol-gel test in diagnosis. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, Vol 28, 19512202879, 449-456.
130. Prianti, M.G., Yokoo, M., Saldanha, L.C.B., Costa, F.A.L., Goto, H. (2007). *Leishmania (Leishmania) chagasi*-infected mice as a model for the study of glomerular lesions in visceral leishmaniasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, Vol 40, Iss 6, 819-823.

Q

131. Quinnell, R.J. & Courtenay, O. (2009). Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*, 136, 1915–1934.

R

132. Ramdane, E., Berchi, S., LOUADI, K. (2018). Les phlébotomes (Diptera, Phlebotomidae), vecteurs d'agents pathogènes responsables de la leishmaniose humaine dans la région de Constantine (Algérie). *Entomofauna* 39/2, 4, 537-555.
133. Rami M., Atarhouch T., Sabri M. et al (2003) Leishmaniose canine dans le Rif (côte méditerranéenne marocaine): enquête séro-épidémiologique. *Parasite* 10(1):79-85.
134. Reale, S., Maxia, L., Vitale, F., Glorioso, N.S., Caracappa, S., Vesco G. (1999). Detection of *Leishmania infantum* in Dogs by PCR with Lymph Node Aspirates and Blood. *Journal Of Clinical Microbiology*, 2931-2935.
135. Regina-Silva, S., Fortes-Dias, C.L., Michalsky, É.M., França-Silva, J.C., Quaresma, P.F., Lima, A.C.V.M.R., Teixeira-Neto, R.G., Dias, E.S. (2014). Evaluation of parasitological examination, kDNA polymerase chain reaction and rK39-based immunochromatography for the diagnosis of visceral leishmaniasis in seropositive dogs from the screening-culling program in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 47(4), 462-468.
136. Reis, L.E.S., Coura-Vital, W., Roatt, B.M., Bouillet, L.E.M., Ker, H.G., Brito, R.C.F., Resende, D.M., Carneiro, M., Giunchetti, R.C., Marques, M.J., Carneiro, C.M., Reis, A.B. (2013). Molecular diagnosis of canine visceral leishmaniasis: A comparative study of three methods using skin and spleen from dogs with natural *Leishmania infantum* infection. Elsevier. *Science Direct. Veterinary parasitology*, 6891, 1-6.
137. Rigo R. S., Carvalho C. M. E., Honer M. R. et al (2013) Renal histopathological findings in dogs with visceral leishmaniasis; *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 55(2):113-6.
138. Rodríguez-Cortés A., Ojeda A., López-Fuertes L., et al (2007) A long term experimental study of canine visceral leishmaniasis. *International Journal for Parasitology* 37(6):683-93.
139. Rougeron, V., De Meeûs, T., Bañuls, A.L. (2016). Reproduction in *Leishmania*: A focus on genetic exchange. Elsevier. *Infection, Genetics and Evolution* 50, 128-132.
140. Roze, M. (2003). Canine Leishmaniasis: An Update in Diagnosis and Treatment. *World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings*, 1-5.
141. Ryter, A. (2020). Leishmaniose. Les équipes de l'Institut Pasteur mobilisées sur la leishmaniose. Institut Pasteur. Centre médical. Mis à jour le 25 janvier 2021, 1-4,

Disponible sur le lien: [Leishmaniose : informations et traitements - Institut Pasteur](#). Visité le: 23-06-2022.

S

142. Santos, T.R., Carreira, V.S., Ferrari, H.F., Moreira, M.A.B., Luvizotto, M.C.R. (2014). Comparison of PCR with stained slides of bone marrow and lymph nodes aspirates with suspect diagnosis for leishmaniasis. Elsevier. Science Direct. ActaTropica, 3444, 1-4.
143. Saridomichelakis, M.N. (2009). Advances in the pathogenesis of canine leishmaniosis: epidemiologic and diagnostic implications. Veterinary Dermatology, 20, 47-489.
144. Saridomichelakis, M.N., Mylonakis, M.E., Leontides, L.S., [Koutinas, A.F.](#), [Billinis, C.](#), [Kontos, V.I.](#) (2005). Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Am. J. Trop. Med. Hyg. 73 (1), 82-86.
145. Schaer, M. (2006). Médecine clinique du chien et du chat. Edition Masson, 2-294-04861-X, 978-2-294-04861-6, 1-576.
146. Selim, A., Shoulah, S., Abdelhady, A., Alouffi, A., Alraey, Y., Al-Salem, W.S. (2021). Seroprevalence and Risk Factors Associated with Canine Leishmaniasis in Egypt. Veterinary sciences. MDPI, 8, 236, 1-9.
147. Shaik, J.S., Dobson, D.E., Sacks, D.L., Beverley, S.M. (2021). *Leishmania* Sexual Reproductive Strategies as Resolved through Computational Methods Designed for Aneuploid Genomes. Genes, 12 (2), 167. MDPI, 1-16.
148. Smyrli, A., Ionică, A.M., Daskalakis, M., Restivakis, I., Venetaki, K., Spanakis, S., Lefkaditis, M., Cozma, V. (2020). An overview of clinical and paraclinical tests for canine and feline leishmaniasis, for clinical practitioners. Sci. Parasitol 21(1-2), 1582-1366, 32-41.
149. Solano-Gallego, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M.G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. Bio Med Central. Parasites & Vectors, 4:86, 1-16.
150. Solano-Gallego, L., Villanueva-Saz, S., Carbonell, M., Trotta, M., Furlanello, T., Natale, A. (2014). Serological diagnosis of canine leishmaniosis: comparison of three commercial

- ELISA tests (Leiscan[®], ID Screen[®] and *Leishmania* 96[®]), a rapid test (Speed Leish K[®]) and an in-house IFAT. *BioMed Central. Parasites & Vectors*, 7:111, 1-10.
151. Steverding, D. (2017). The history of leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, 10:82, 1-10.
152. Sunter, J. & Gull, K. (2017). Shape, form, function and *Leishmania* pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. *Open Biology*, 7: 170165. The royal society publishing, 1-13.

T

153. Tabbabi A. Review of leishmaniasis in the middle east and North Africa. *Afr Health Sci*. 2019; 19 (1):1329–37.
154. Tabet F, Ammam A. (2022). Study of the prevalence of canine leishmaniasis in the wilaya of Saida, Algeria. *International Journal of Ecosystems and Ecology Science*, Vol. 12 (2): 531-538.
155. Thrusfield, M., Christley, R., Brown, H., Diggle, P.J., French, N., Howe, K., Kelly, L., O'Connor, A., Sargeant, J., Wood, H. (2018). *Veterinary Epidemiology*, 4th Edition, ISBN:978-1-118-28028-7.
156. Tonelli, G.B., Binder, C., Nogueira, V.L.C. Prado, M.H., Gonc, G., Theobaldo, A., Campos, A.M., Margonari de Souza, C., Filho, J.D.A. (2021). The sand fly (Diptera: Psychodidae) fauna of the urban area of Lassance, Northeast Minas Gerais, Brazil. *PLOS One* 16(10): e0257043, 1-12.
157. Toudeft, F., Bellil, L., Oulamara, M., Mahni, M., Rahmane, K., Harrat, Z., Benhabyles, N., Mouloua, M. (2011). Situation épidémiologique des leishmanioses dans la wilaya de Tizi-ouzou de 1985 à 2007: analyse des résultats et évaluation d'un plan de lutte. *Journal d'Épidémiologie et de Santé Publique, JESP*, N°7, 49-53.
158. Traoré, K. S., Sawadogo, N. O., Traoré, A., Ouédraogo, J. B., Traoré, K. L., Guigemdé, T. R. (2011). Etude préliminaire de la leishmaniose cutanée dans la ville d'Ouagadougou de 1996 à 1998. *Bull soc Path Exot*, 94, 5-52.
159. Tulsane L. (2009) Actualités dans la lutte de la leishmaniose canine. Thèse d'exercice, 581 Médecine vétérinaire, Alfort.
160. Tuon, F.F., Neto, V.A., Amato, V.S. (2008). *Leishmania*: origin, evolution and future since the Precambrian. *FEMS Immunol Med Microbiol* 54, 158-166.

161. Turchetti, A.P., Souza, T.D, Paixao, T.A., Santos, R.L. (2014). Sexual and vertical transmission of visceral leishmaniasis. *J Infect Dev Ctries* 8 (4), 403-407.

V

162. Valéria Marçal Félix de Lima; Karina Reinaldo Fattori; Aparecida de Fátima Michelin; Luiz da Silveira Neto; Rosemere de O. Vasconcelos (2010). *Comparison between ELISA using total antigen and immunochromatography with antigen rK39 in the diagnosis of canine visceral leishmaniasis.* , 173(3-4), 330–333.
163. Vaselek, S. (2021). Canine leishmaniasis in Balkan – A review of occurrence and epidemiology. Elsevier. Science Direct. *Acta Tropica* 224, 106110, 1-10.
164. Velez, R., Ballart, C., Domenech, E., Abras, A., Fernandez-Arévalo, A., Gomez, S.A., Tebar, S., Munoz, C., Cairo, J., Gallego, M. (2019). Seroprevalence of canine *Leishmaniainfantum* infection in the Mediterranean region and identification of risk factors: The example of North-Eastern and Pyrenean areas of Spain. Elsevier. Science direct. *Preventive Veterinary Medicine* 162, 67-75.
165. Volf, P., Hostomska, J., Rohousova, I. (2008). Molecular crosstalks in *leishmania*-sandfly-host relationships. *Parasite*, 15, 237-243.

Z

166. Zait H et Hamrioui B. (2009). Leishmanioses cutanées en Algérie Bilan de 386 cas diagnostiqués au CHU Mustapha d'Alger de 1998 à 2007. *Revue francophone des laboratoires*, 2009(412) : 33-39.
167. Zait, H., Ferhani, Y., Achir, I., Hamrioui B. (2012). Study of 71 cases of visceral leishmaniasis diagnosed at the Mustapha University Hospital (Algiers) from 1998 to 2009. Elsevier Masson. Science Direct. *Médecine et maladies infectieuses* 42, 129-131.
168. Zhioua E, Moureau G, Chelbi I, Ninove L, Bichaud L, Derbali M, et al. Punique virus, a novel phlebovirus, related to sandfly fever Naples virus, isolated from sandflies collected in Tunisia. *J Gen Virol.* 2010; 91 (5):1275–83.

169. Živičnjak T., Martinković F., Marinculić A. et al (2005) A seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniosis among apparently healthy dogs in Croatia. *Veterinary Parasitology* 131(1-2):35-42.

Annexes

Annexe 02 : La (polymerase chain reaction) ou PCR

-Extraction de l'ADN :

Une extraction phénolique de l'ADN à partir du sang total de chiens recueilli dans des tubes EDTA a été réalisée.

Un mélange de : 200ul de sang total + 400ul de NET 10+ 40ul de 10% SDS et 2ul de protéine K (20 mg/ml) a été préparé.

Le tube qui contient le mélange est laissé 1 heure à 70°C et vortexé toutes les 5 minutes.

Puis une extraction classique (phénol/chloroforme) et une précipitation à l'éthanol ont été réalisées.

L'ADN obtenu est dilué dans 100 ul d'eau distillée stérile et stocké à 4°C.

-La PCR nichée pour *leishmania* :

L'ADN de *Leishmania* a été détecté par PCR nichée (LnPCR), amplifiant le gène ssurRNA. La première réaction de PCR a été réalisée en utilisant les amorces R221 (5'- GGT TCC TTT CCT GAT TTA CG - 3'), et R332 (5'- GGC CGG TAA AGG CCG AAT AG - 3'), la deuxième réaction de PCR a été réalisée en utilisant les amorces R233 (5'- TCC CAT CGC AAC CTC GGT T - 3'), R333 (5'- AAA GCG GGC GCG GTG CTG - 3'). Les produits d'amplification ont été résolus dans un gel d'agarose à 1,5 %, coloré avec le colorant Gel RedNucleicAcid (Biotium, Fremont, CA, USA) et visualisé sous une lumière UV.

Les échantillons donnant un produit de PCR de 603 pb et 358 pb, respectivement par la première et la seconde réaction d'amplification, ont été jugés positifs pour l'ADN de *Leishmania*. Des contrôles négatifs sans ADN ont été utilisés dans tous les tests. L'ADN de la souche de référence *L. infantum* MHOM/FR/78/LEM75 a été utilisé comme témoin positif.

Annexe 03 : L'immunofluorescence indirecte (IFI)

L'IFI a été réalisée comme décrit par Alvar et al. (2004) utilisant des promastigotes de *L. infantum* comme antigène (souche MHOM/FR/78/LEM 75), des anticorps *antiLeishmania* ont été détectés en utilisant des anticorps secondaires anti-chien Immunoglobuline G (IgG) (molécule entière) conjugués à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) (Sigma – Aldrich, St Louis, MO, USA), dilués de manière appropriée dans du bleu Evans à 0,01 %.

Les sérums sont dilués de manière appropriée dans du PBS, pH 7,2. (1/20, 1/40, 1/80 et 1/160) et une dilution de coupure de 1:80 a été utilisée.

Annexe 04 : La technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

ELISA a été réalisée selon la méthode décrite par Alvar et al. (2004). Une ELISA fait maison a été utilisé ; la plaque a été lue au (spectrophotomètre sur carte Mercedes) 493nm-620nm. Le seuil était de 0,200. Les échantillons avec un résultat supérieur à 0,200 sont considérés comme positifs tandis que les échantillons avec un résultat inférieur à 0,200 sont considérés comme négatifs.

Annexe 05 : Le test immunochromatographique (IT- leish)

Après avoir prélevé du sang dans un tube sec, le sérum après centrifugation été utilisé, afin de réaliser le test d'immunochromatographie (test IT LEISH) (BIO-RAD) et tout en suivant les étapes qui suivent:

- Mise du kit IT LEISH à température ambiante
- Ouverture de l'emballage en aluminium et la saisie de tout le matériel (guide d'utilisation, dispositif, pipette, tampon, compresse, vaccino-stylet)
- Dépôt du dispositif (kit) à l'horizontale sur le plan de travail.
- Mention du nom du chien et de la date sur l'étiquette.
- Addition d'une goutte de tampon dans le premier puits (puits-conjugué, désigné par une ligne colorée) et 4 gouttes dans le second puits (puits-lavage).
- Dépôt du sérum (8-12 μ L) dans le premier puits (puits-conjugué désigné par une ligne colorée) après 1 minutes de l'addition du tampon, en utilisant la pipette et tout en pressant doucement sur cette dernière puis en utilisant son extrémité supérieure pour remuer, ensuite laisser reposer pendant 1 minute.
- Séparation du dispositif IT LEISH des puits et enfoncement des pieds du support de la bandelette dans les trous à côté du puits-conjugué (désigné par une ligne colorée) de manière à ce que l'extrémité de la bandelette touche le fond du puits conjugué. Laisser migrer pendant 5 minutes (le mélange sérum/conjugué) doit être entièrement absorbé).
- Transfert de la bandelette dans le second puits (puits-lavage) 5 minutes après l'avoir mis dans le puits-conjugué (il ne doit plus y avoir de sérum dans la zone de réaction et la bande de contrôle doit être bien visible).
- Retrait de la bandelette du puits-lavage après avoir attendu 5 minutes et sa remise dans la pièce en plastique transparent.
- Dépôt du couvercle sur les puits et détachement des deux pieds de la pièce en plastique transparent en les cassant.
- Lecture de la réaction et interprétation des résultats (selon la notice qui accompagne le test) (IT LEISH, BIO-RAD).



Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vprsr

Original Article

Diagnosis and prevalence of canine leishmaniasis in the Atlas shepherd dog

Taha Bia^a, Carmen Sanchez^b, Houria Zait^c, Mokhtaria Kouidri^d, Slimani Khaled Mabrouk^e, Javier Nieto^b, Selles Sidi Mohammed Ammar^f, Javier Moreno^{b,*}, Benmouhoub Nouara Ahlem^g

^a Veterinary Sciences Institute, University of Tiaret, 14000 Tiaret, Algeria.

^b WHO Collaborating Centre for Leishmaniasis, National Centre for Microbiology, Instituto de Salud Carlos III, CIBER de Enfermedades Infecciosas, 28220 Majadahonda, Madrid, Spain

^c Laboratory of Parasitology and Mycology, Mustapha Tertiary Care Hospital, Place du 1er Mai, POB 16000, Algiers, Algeria

^d Laboratory of Farm Animal Products, Veterinary Sciences Institute, University of Tiaret, 14000 Tiaret, Algeria

^e Service of Pathology of Domestic Carnivores, Veterinary Sciences Institute, University of Tiaret, 14000 Tiaret, Algeria

^f Laboratory of Research on Local Animal Products, Veterinary Sciences Institute, University of Tiaret, 14000 Tiaret, Algeria

^g Faculty of Biological Sciences, University of Tiaret, 14000 Tiaret, Algeria



ARTICLE INFO

Keywords:

Canine leishmaniasis
Atlas shepherd dog
Prevalence
Clinical signs
Serology
PCR
Lymph node cytology

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the prevalence of canine leishmaniasis in the Atlas shepherd dogs from the Tiaret region of Algeria. A total of 161 dogs were included in this study and four diagnostic techniques were used, namely lymph node cytology, PCR, IFAT and ELISA. 110 out of 161 dogs were positive by at least one diagnostic technique, a percentage of 68.32% of the total number, which represent very high prevalence of canine leishmaniasis in this canine breed.

152 dogs underwent the two serological tests namely IFAT and ELISA among which 137 dogs underwent in addition the molecular examination by PCR. IFAT was positive in 9.86% of the dogs, ELISA was positive in 12.5% while 68% of the dogs proved positive by PCR.

47 dogs with lymph node enlargement underwent lymph node cytology, of which 26 dogs showed forms of amastigotes in their smears after microscopic examination, confirming the usefulness of this approach for the diagnosis of canine leishmaniasis.

The clinical signs of the disease in this breed are similar to those of other canine breeds. The dominant clinical signs in these dogs were onychogryphosis, poor general condition and lymph node hypertrophy. The autopsy was carried out on 7 dogs that died of canine leishmaniasis, all of which showed splenomegaly, while 5 dogs also showed hepatomegaly. Renal damage was found in 1 dog with frank jaundice. The splenic cytology was positive in all 7 dogs with the presence of amastigote forms in the smears after microscopic examination.

1. Introduction

Zoonotic visceral leishmaniasis (ZVL) is caused by *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*, in America) and is transmitted by the bite of phlebotomine sand flies. Infected dogs constitute the main domestic reservoir of the parasite and play a key role in transmission to humans, in which the parasite is responsible for visceral leishmaniasis (Portela et al., 2019). ZVL is endemic throughout the Mediterranean basin (Velez et al., 2019) and Algeria is among the countries affected by this zoonosis (Harrat and Belkaid, 2003). The number of reported cases of human visceral leishmaniasis in Algeria has decreased in recent years and in

2019 were reported 46 cases (WHO, 2021).

In addition to being the main domestic reservoir for ZVL, the dog can be affected by the parasite and develop canine leishmaniasis (CanL) (Fisa et al., 1997). According to the most recent studies of CanL in Algeria, the prevalence of this disease is very high, a previous study carried out by Medkour (2017) in the regions of Bouira and Sétif (North East of the country) shows a total seroprevalence of 69.17% and 62.5% of CanL detected by IFAT and rapid serological test respectively, he also cited that the prevalence of CanL in the Kabylie region was 35.7% (Medkour et al., 2020). Moreover, Adel et al. in her study published in 2015, carried out in six coastal wilayas of Algeria, showed that there is

* Corresponding author at: WHO Collaborating Centre for Leishmaniasis, National Centre for Microbiology, Instituto de Salud Carlos III, Road Majadahonda-Pozuelo Km. 2,2, 28220 Majadahonda, Madrid, Spain.

E-mail address: javier.moreno@isciii.es (J. Moreno).

<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2022.100787>

Received 6 March 2022; Received in revised form 6 September 2022; Accepted 21 September 2022

Available online 24 September 2022

2405-9390/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

an increase in the prevalence of this disease from west to east (Adel et al., 2015). Although CanL is present throughout the country, the proportions of infected dogs vary according to bioclimatic conditions (Mouloua, 2014).

The clinical signs of this disease that dogs present show variability in their nature and number, since the animal may not present clinical signs, have a single clinical sign or a combination of them (Fisa et al., 1997).

Because of the high polymorphism of the clinical signs of CanL and its no specificity, the diagnosis of this disease can be complex and difficult (Briffod, 2011), so it should not be based on clinical examination and a short list of clinical signs alone, but various para-clinical and additional examinations should be carried out in order to confirm the diagnosis (Tulsane, 2009).

Direct diagnostic techniques allow the detection of either the parasite, after cytological examination of the stained lymph node and examination under the microscope, or its DNA by molecular examination (Papierok, 2002). Serological tests represent a very important tool in the diagnosis of CanL (Schallig et al., 2002; Mettler et al., 2005).

The Atlas shepherd dog or “Aïdi” (FCI, 2003) has existed for thousands of years in the mountains and plateaus of North Africa. More precisely, it is found in large numbers in the Atlas Mountains of Morocco (FCI, 2003) and in the Tell (Espérandieu and Chaker, 1994), and is the local breed most used as a sheepdog by breeders in Algeria (Espérandieu and Chaker, 1994).

The present study on leishmaniasis in the Atlas shepherd dog, which refers to the province of Tiaret (Northwest Algeria), aims to determine the prevalence of this disease and compares different diagnostic techniques in this dog breed, very common in this agro-pastoral region, due to the lack of studies on CanL in this breed.

2. Materials and methods

2.1. Ethics statement

This study has been approved and validated by the scientific committee of the Institute of Veterinary Sciences, University ibn Khaldoun, Tiaret, Algeria and registered under the number 205/VRPG/2017.

2.2. Study area

The pilot parasitological survey was conducted from February 2018 to December 2020 in the wilaya of Tiaret, located in Northwestern Algeria, its geographical coordinates are as follows: latitude: 35°22'15" North and longitude: 1°19'01" East (Achir and Hellal, 2016). It covers an area of 20,673 km² and extends over part of the Tellian Atlas in the north and the highlands in the centre and south. Tiaret lies between 950 and 1150 m above sea level, its climate is characterised by two periods: a cold, harsh winter with a temperature between [0.7–12.7 °C] and a hot, dry summer with a temperature between [13.5–36.2 °C], with an average temperature of 15,9 °C. In normal periods the wilaya of Tiaret receives 300 to 400 mm of rainfall per year, with a seasonal fluctuation in rainfall ranging from 157 mm in winter to 31 mm in summer (Achir and Hellal, 2016). The total population of the wilaya is estimated at 888.220 inhabitants (ANDI, 2015).

2.3. Animals

Our study covers a total of 161 Atlas shepherd dogs, male and female of different age groups, between 4 months and 14 years old with a weight between 3 and 20 kg. It is a random sample obtained from

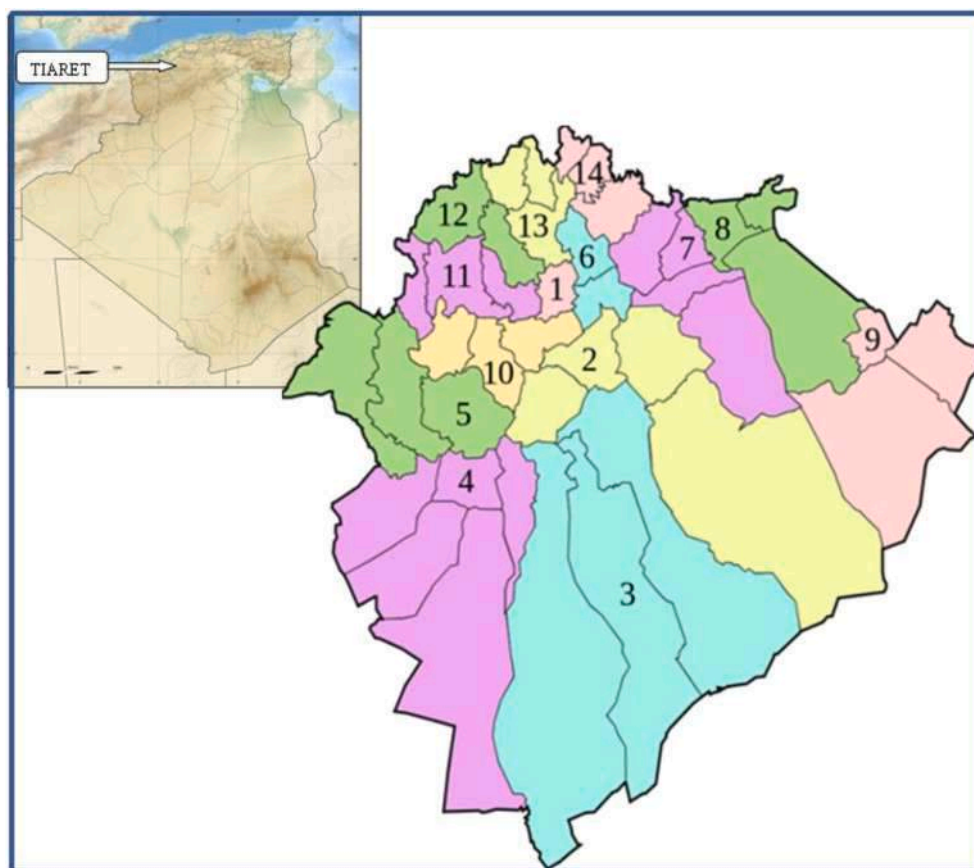


Fig. 1. Geographical location of the wilaya of Tiaret and location of sampling sites. 1: Tiaret chief town, 3: Ain Deheb, 4: Ain Kermes, 5: Frenda, 8: Hamadia, 10: Medroussa, 12: Rahouia, 13: Oued Lilli, 14: Meguila.

different region of the wilaya of Tiaret (Fig. 1).

From the 161 dogs analysed, we have established 4 groups of animals according to the clinical samples taken and the diagnosis techniques used with each animal, which depended on the type of clinical sample taken. The number of dogs and the diagnostic tests included in each diagnostic group is shown in Table 1.

The wilaya of Tiaret is made up of 14 daïras, the sampling were taken from 9 daïras which are mentioned on the geographical map of the wilaya (Fig. 1). The dogs are found in rural areas, we have moved to each region to perform the samples and we have directed the dogs suspected of leishmaniasis to our veterinary clinic to perform other samples such as lymph node puncture.

2.4. Clinical examination

A clinical examination was carried out for all cases in order to assess the general condition and vital parameters of the animals. For each case, a clinical examination file was drawn up that included the identification number, name, age, sex and origin of the animal. After close examination of the dog, all observations were noted: physical condition of the animal, body temperature, heart and respiratory rates, palpation, and inspection of the animal for abnormalities. Further, the evaluation and identification of any clinical sign related to CanL was carried out, such as: onychogryphosis (abnormal excessive development and curving of the claws), poor general condition, swollen lymph nodes, weight loss and cutaneous lesions like ulcers, dermatitis, periorbital scaling or alopecia.

2.5. CanL diagnostic tests

2.5.1. Lymph node puncture

Cases with signs suggestive of CanL have been referred to our veterinary clinic and undergo a special clinical investigation based on a thorough dermatological examination, which consisted of skin scraping to eliminate the possibility of skin parasitosis and scotch test to diagnose bacterial or fungal skin infections. Further, a lymph node puncture was done in all external and palpable lymph nodes, but it was preferred to puncture the pre-scapular and popliteal lymph nodes due to the ease and accessibility of the latter, no anaesthesia or tranquillisation is required except with aggressive dogs. The slides containing the ganglionic aspirate were air-dried and stained with May-Grünwald-Giemsa stain (Ref. 361,550) RAL DIAGNOSTICS - Site Montesquieu - 33,651 Martillac France), by successively dipping the slide in the 3 vials for 15 s. The stained slides were read under a light microscope of the brand (BENTLEY LABSCOP 200) at magnifications of $\times 10$, $\times 40$ and $\times 100$ to assess the qualitative and quantitative cellular appearance of the lymph node stroma and to look for the presence of intracytoplasmic parasitic inclusions in the macrophages (search for amastigote forms) (Fig. 2).

2.5.2. Blood sample preparation

A peripheral blood sample (4 ml) was taken in EDTA tubes and dry tubes. Sera were separated and both blood and sera samples were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for further specific serological (Indirect Fluorescent Antibody Test-IFAT and Enzyme-linked Immunosorbent Assay-ELISA) and

Table 1

Diagnostic groups with diagnostic tests and number of dogs included in each one.

Diagnostic technique	Group	No of dogs
Lymph node cytology (LNC) alone	A	9
Lymph node cytology + PCR + IFAT + ELISA	B	23
Lymph node cytology + IFAT + ELISA	C	15
PCR + IFAT + ELISA	D	114
Total animals analysed		161

From the 161 dogs, we have established 4 groups according to the diagnosis technique used.

molecular (*Leishmania*-nested PCR) diagnosis of CanL at the WHO Collaborating Centre for Leishmaniasis, National Centre for Microbiology, Instituto de Salud Carlos III (Madrid).

2.5.3. *Leishmania* nested PCR - LnPCR

The PCR protocol is adapted and modified according to Cruz et al. (2002). Phenolic extraction of DNA from whole blood of dogs collected in EDTA tubes was performed. 200ul of whole blood is added to 400ul of NET 10+ 40ul of 10% SDS and 2ul protein K (20 mg/ml) is added to this mixture. The tube is left for 1 h at $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ and vortexed every 5 min. Then a classical extraction (phenol/chloroform) and precipitation with ethanol is performed. The DNA obtained is diluted in 100ul of sterile distilled water and stored at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. *Leishmania* DNA was detected by nested PCR (LnPCR), amplifying the ssurRNA gene. The first PCR reaction was performed using primers R221 (5'-GGT TCC TTT CCT GAT TTA CG - 3'), and R332 (5'-GGC CGG TAA AGG CCG AAT AG - 3'), the second PCR reaction was performed using primers R233 (5'-TCC CAT CGC AAC CTC GGT T - 3'), R333 (5'-AAA GCG GGC GCG GTG CTG - 3'). The amplification products were resolved in a 1.5% agarose gel, stained with Gel Red Nucleic Acid stain (Biotium, Fremont, CA, USA), and visualized under UV light. Samples yielding a PCR product of 603 bp and 358 bp, respectively by first and second amplification reaction were deemed positive for *Leishmania* DNA. Negative controls without DNA were employed in all assays. DNA from the reference *L. infantum* strain MHOM/FR/78/LEM75 was used as a positive control.

2.5.4. Indirect Fluorescent Antibody Test - IFAT

IFAT was performed as described by Alvar et al. (2004) using promastigotes of *L. infantum* as the antigen (strain MHOM/FR/78/LEM 75), anti-*Leishmania* antibodies were detected using anti-dog Immunoglobulin G (IgG) secondary antibodies (whole molecule) conjugated to fluorescein isothiocyanate (FITC) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA), diluted appropriately in 0.01% Evans blue. Sera are diluted appropriately in PBS, pH 7.2. (1/20, 1/40, 1/80 and 1/160) and cut-off dilution of 1:80 was used.

2.5.5. *Leishmania* specific Enzyme-linked Immunosorbent Assay - ELISA

ELISA was performed as described by Alvar et al. (2004). An in-house ELISA was used; the plate was read at (spectrophotometer on Mercedes card) 493 nm–620 nm. The cut-off was 0.200. Samples with a result above 0.200 are considered positive while samples with a result below 0.200 are considered negative.

2.6. Necropsy examination

Necropsy examination was carried out in 7 dogs that died of CanL, in order to assess the different visceral lesions in these dogs.

2.7. Data management and analysis

All the data obtained throughout the study were included in an Excel file using the Microsoft Excel 2019 software. From these tabulated data, the corresponding statistical analyzes were carried out and the tables and graphs shown in this work were prepared.

The sensitivity and specificity of the diagnostic test were calculated using the following formula:

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{Number of True Positives}}{\text{Number of true positives} + \text{number of false negatives}}$$

$$\text{Specificity} = \frac{\text{Number of True Negatives}}{\text{Number of true negatives} + \text{number of false positives}}$$

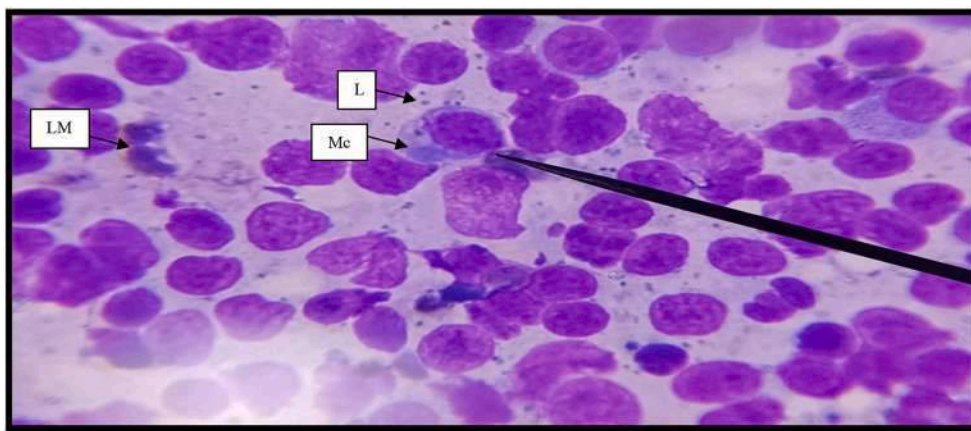


Fig. 2. Microscopic observation of a lymph node puncture ($\times 100$) after MGG staining which shows granulomatous adenitis with the presence of small mature lymphocytes (LM), macrophages (Mc) with the presence of amastigote forms of *Leishmania* (L).

3. Results

3.1. Frequency of CanL positive cases according to the examination performed

Microscopic examination of the lymph node puncture in the dogs of the Group A demonstrated the presence of amastigote forms of *Leishmania* in 6 out of 9 animals tested (66%).

Diagnostic results obtained on the rest of groups of dogs (Group B, Group C and Group D) are reported in Table 2. 110 out of the 161 dogs involved in the study, 68.32%, were positive by one technique at least.

Lymph node punctures was performed in a total of 47 dogs and we had 26 positive cases in which the amastigote form of the parasite was visualized, which represent a percentage of 55.31%. Of the 47 dogs that underwent lymph node cytology, 23 dogs also underwent Ln-PCR testing in addition to lymph node cytology testing. If we consider LnPCR as the gold standard for the diagnosis of CanL, the sensitivity and specificity of lymph node cytology can be calculated, resulting in 47% and 75%, respectively.

Out of 137 animals tested the LnPCR results were positive in 93 cases, which represent a percentage of 67.88%. Out of 152 dogs tested with IFAT, it was positive in 15 cases, which represent a percentage of 9.86%. Out of 152 cases, the ELISA was positive in 19 cases, which represent a percentage of 12.5%.

152 dogs from all groups underwent two serological diagnostic techniques namely IFAT and ELISA. 10% of the animals were positive

Table 2

Total number and percentages of animals included in Group B, C and D attending to their positive results on the diagnostic test.

Group	Diagnostic test				Number of animals	%
	LNC	PCR	IFAT	ELISA		
Group B (n = 23)	+	+	+	+	5	22%
	+	+	Doubt	+	1	4%
	+	+	-	-	3	13%
	+	-	+	+	1	4%
	-	+	+	+	2	9%
	-	+	-	-	8	35%
Group C (n = 15)	-	-	-	-	3	13%
	+	/	+	+	5	33%
	+	/	-	-	5	33%
	-	/	-	-	5	33%
	/	+	+	+	2	2%
Group D (n = 114)	/	+	Doubt	+	1	0.9%
	/	+	Doubt	-	1	0.9%
	/	+	-	-	68	59%
	/	+	-	+	2	2%
	/	-	-	-	40	35%

while 87% were negatives for both techniques. IFAT, ELISA and LnPCR were used for diagnostic in 137 dogs from all groups (Supplementary tables).

Of the 137 dogs that underwent the three diagnostic tests for CanL, 62 dogs showed clinical signs while 75 dogs had no or only showed one clinical sign including onychogryphosis, the results of the detection of the disease by each technique in both categories of dogs are listed in Table 3.

3.2. Distribution of CanL cases according to region of sampling, sex and age

Distribution of positive cases according to the region of sampling is shown in Table 4. The dogs most affected by CanL are located in the north and centre of the wilaya with 48% in the north of the wilaya and 42% in the centre of the wilaya.

Distribution of dogs affected by CanL according to age and sex is shown in Table 5. Of the 110 positive dogs 33 were females (30%) and 77 (70%) were males. The most affected cases were adult dogs between one and five years of age, representing a percentage of 65.45%.

3.3. Frequency of clinical signs in positive cases

The most frequent clinical signs were onychogryphosis and deterioration of general condition with a percentage of 73.63% (81/110) and 44.54% (49/110), respectively. It is followed by lymph node adenopathies with a percentage of 34.54% (38/110). In addition, skin ulcers and weight loss are marked clinical signs, the former representing 22.73% (25/110) and the latter 20% (22/110). Furfur is present in (19/110) cases, or 17.27%, and the periorbital sign in (8/110) dogs, which represents 7.27%. Alopecia and other clinical signs such as

Table 3

Results of diagnostic techniques for CanL in dog with and without clinical signs.

	PCR + (%)	IFAT + (%)	ELISA + (%)	TOTAL positive dogs by at least one method (%)
Dogs with clinical signs (n = 62)	41 (66)	7 (11)	8 (13)	41 (66)
Dogs without clinical signs or with only onychogryphosis (n = 75)	52 (69)	3 (4)	6 (8)	52 (69)
Total (n = 137)	93 (68)	10 (7)	14 (10)	93 (68)
Sensitivity*	100%	11%	15%	

* Sensitivities were calculated as the number of positive cases of one method against total number of positive cases by at least one method.

Table 4
Distribution of CanL cases according to the region of sampling.

Geographical origin (tested animals)	Results	
	Positive dogs	%
North of Tiaret		
TIARET CHIEF TOWN (n = 30)	20	67%
RAHOUIA (n = 23)	17	74%
MEGUILA (n = 19)	13	68%
OUED LILLI (n = 5)	3	60%
Centre of Tiaret		
FRENDIA (n = 56)	37	66%
MEDROUSSA (n = 5)	5	100%
HAMADIA (n = 6)	4	67%
South of Tiaret		
AIN KERMES (n = 14)	9	64%
AIN DEHAB (n = 3)	2	67%

Table 5
Distribution of CanL cases by sex and age.

Age range	Females	Males	Total
4–12 months	8	18	26
12–60 months	20	52	72
60–168 months	5	7	12
Total	33	77	110

hyperkeratosis or the old dog’s head represent lower and decreasing percentages compared to the other signs. Fig. 3 shows the distribution of clinical signs in the diseased dogs.

3.4. Necropsy examination

Among the 7 dogs that died from complications of CanL, the following lesions were found after autopsy: Splenomegaly was present in 7 dogs, which represents a percentage of 100%, while 5 dogs presented hepatomegaly, which represents a percentage of 71.14% (Fig. 4). Frank icterus was present in only 1 case with very severe hepatic involvement. The same dog had bilateral glomerulonephritis. Splenic punctures for the seven dogs were positive with a massive presence of leishmaniasis (amastigote form), especially for two dogs with severe splenic involvement (Fig. 4).

4. Discussion

This study showed a high prevalence of shepherd dogs with CanL in the wilaya of Tiaret, which reaches 68.32%. No previous study has been carried out in this region but comparing these results with the results of previous studies in other regions of Algeria, the number of positive dogs is alarmingly high.

This high percentage is probably the result of several factors including the breed chosen for the study, which is the Atlas shepherd, a breed native to this region (Espérandieu and Chaker, 1994; FCI, 2003). Dogs of this breed live in rural areas and outside of houses because of their activity of watching and guarding the houses and animals of their breeders or owners (Espérandieu and Chaker, 1994). Which makes the animals more exposed to sandfly bites. This finding is supported by the work of Amusatogui et al. (2004) and Martín-Sánchez et al. (2009), who mention that CanL is generally associated with rural and suburban areas and that the lifestyle of dogs is usually involved, since it can increase the probability of contact with vectors or allow a faster circulation of the parasite. Furthermore, they are sheepdogs and therefore live with other animals such as sheep and cattle, and even with the families that look after the herd, the latter playing a role in the high exposure of these dogs to sandflies, which are attracted by the CO2 exhaled by the latter (humans and their animals) and whose activity is therefore very high (Pinto et al., 2001).

These dogs do not have a stable habitat and have close contact with wildlife are considered semi-errant dogs, it is possible that other wild reservoirs exist (Fisa et al., 1997; Dedet, 2009) and transmit the disease to them.

It has been found that these dogs are poorly maintained in terms of nutrition and even medication, they are in poor physical condition and none of the dogs wear the anti-parasite collar, which then leads to the weakening of their immune systems and makes them an easier target for sandfly infection and bite (Amusatogui et al., 2004; Rodríguez-Cortés et al., 2007).

It should also be noted that a dog affected by leishmaniasis will not be abandoned by its owner but will continue to live among other dogs, animals and humans, thus constituting a mobile reservoir that can transmit the disease to those around it. It has been confirmed previously that a symptomatic dog is more infectious than an asymptomatic dog and is more important in the parasite cycle (Courtenay et al., 2002; Da Costa-Val et al., 2007; Guarga et al., 2000).

In this study, we have used serological (IFAT, ELISA), molecular (PCR) and parasitological (lymph node cytology) methods for the diagnosis of CanL in Atlas shepherd dog. Peripheral blood was chosen

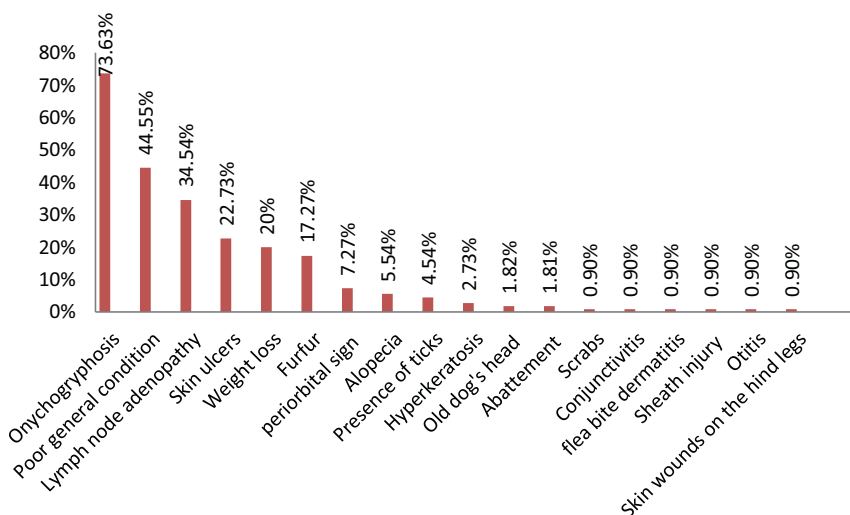


Fig. 3. Graphical representation of the distribution of clinical signs in a total of 110 dogs affected by CanL.

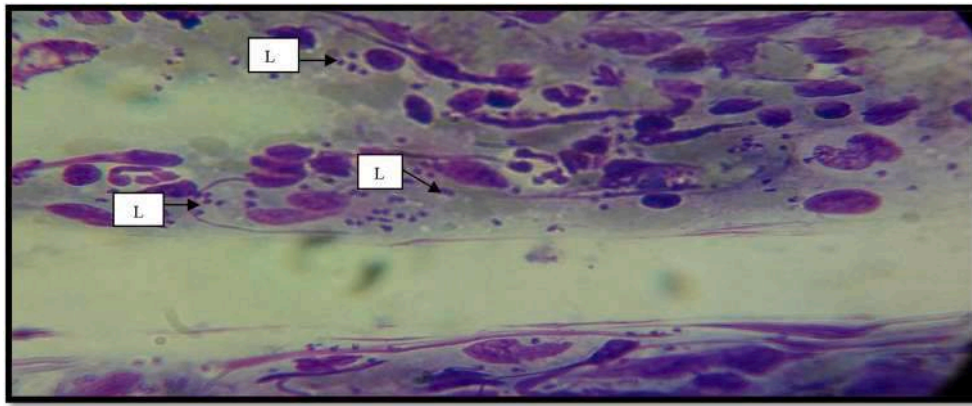


Fig. 4. Microscopic observation of a splenic puncture ($G \times 100$) with massive presence of *Leishmania* amastigotes (L).

for the detection of CanL since it is easy to collect and non-invasive, and it is the most used sample in epidemiological studies (Chargui et al., 2009).

Lymph node cytology is an essential element in the diagnosis of CanL in the clinic (Slappendel and Ferrer, 1998), and also as part of the certainty diagnosis allows direct visualisation of the parasite (Tulsane, 2009). This technique has been performed in dogs suspected of leishmaniasis and which have shown lymph node enlargement. Although lymph node enlargement is one of the signs of CanL, many other diseases can cause a lymph node reaction. According to Saridomichelakis et al. (2005), lymph node cytology is more sensitive and specific in dogs with clinical signs of CanL. In our study, 23 dogs underwent lymph node cytology, and the specificity and sensitivity of the technique were 75% and 47% respectively, using PCR as gold standard. These results are consistent with those of Saridomichelakis et al. (2005) who found a specificity of 100% of this technique and a sensitivity that varied between 7.8% and 92.6% compared to PCR.

152 dogs underwent two serological techniques for the diagnosis of CanL, namely IFAT and ELISA, indicating a seroprevalence was 9.86% and 12.5% respectively. Of these, 137 dogs also underwent PCR as an additional means of diagnosis of CanL. Genomic PCR was chosen and not kinetoplast PCR because according to Lachaud et al., 2002 the latter may have artefacts that may distort the reading. The sensitivity of each technique was calculated as the number of positive cases of a method compared to the total number of positive cases by at least one method. The sensitivity of PCR was found to be higher than ELISA and IFAT as previously reported (Martinez et al., 2011; Almeida et al., 2013), which indicate that serological methods have a low sensitivity in the diagnosis of CanL compared to molecular methods. The probable reason for this large difference in sensitivity between PCR and serological methods is that asymptomatic or oligosymptomatic dogs have a lower parasite load with low levels of anti-*Leishmania* antibodies that cannot be detected by serological methods (Iniesta et al., 2002).

We note that the majority of dogs affected by CanL were adult dogs between 12 and 60 months of age, which seems to be related to their long period of exposure to sandflies (Živičnjak et al., 2005).

Also, CanL is a chronic disease with a slow evolution and rarely spontaneously regressive (Rami et al., 2003) and with a long incubation period.

These results confirm previous studies which state that the dogs most at risk of infection are adults aged between 2 and 4 years and older, as they are more likely to be bitten by sandflies (Martín-Sánchez et al., 2009; Miranda et al., 2008, and Fellah et al., 2014). Although CanL is not very common in young dogs between 4 and 12 months of age, 26 positive cases were found in this study, which may be due to racial predominance, or it may be due to the susceptibility of individual dogs. In addition, the immunity of these dogs plays a very important role, as the relatively weak immune defences of young dogs make it easy for

them to be exposed to the disease and become infected. We can also notice that the old dogs aged between 60 and 168 months (5 to 14 years) represent a number below the others and which is estimated at 12 dogs, this is due to the total number of old dogs that we consulted or studied, in other words the number of these dogs played a role in showing that the number or percentage was higher among the young dogs and lower among the old dogs. Adding to this the fact that the unfavourable living conditions of the Atlas shepherd dogs do not allow them to reach a more or less advanced age and their life span is then more minimal than the others, again the owners do not keep the old dogs at home, they are replaced for young and active dogs for the guard. According to Alvar et al. (2004), there is a second peak of the disease in older dogs when their immune systems become compromised or because of concomitant diseases that are very common given the living conditions of this breed. According to Živičnjak et al. (2005) and Cruz et al. (2010), dogs aged 7 years and older have a lower seroprevalence than others and this may be due to the cumulative increase in the duration of exposure to vectors and the increased mortality rate in these older dogs. However, Cortes et al. (2012) and Mouloua et al. (2017) reported that dogs aged 5 years and older are the most affected and have a higher seroprevalence compared to younger dogs because older dogs have experienced several periods of sandfly activity than younger dogs.

Despite the high percentage of males as affected by CanL, no characteristic and significant prevalence of the disease according to sex was designated as most of the dogs of these breeders were males, which seems to be in agreement with previous studies showing that there is no different prevalence of the disease according to sex (Amusatogui et al., 2004; Cortes et al., 2012). On the other hand, Miranda et al. (2008) state that there is a higher prevalence in males than in females, due to the higher wandering behaviour of males, while Živičnjak et al. (2005) also found a higher seroprevalence in males than in females and explained this by the high mortality rate of females in gestation and lactation.

Concerning the distribution of positive cases according to their geographical origins, it was noted that the dogs most affected by CanL are located in the north and centre-west of the wilaya, which may be due to the uneven distribution of the number of samples which were more concentrated in the central and northern parts of the wilaya. Environmental conditions play a role in the distribution of the vector and the reservoir, and therefore the disease (Živičnjak et al., 2005; Adel et al., 2010). Moreover, the vector is more found in areas with important vegetation which is the case in the north of the wilaya.

Given the lack of para-clinical techniques for the diagnosis of CanL, especially in this breed of dog which is poorly maintained from the point of view of nutrition and medication, and the close contact of these animals with humans and especially children, they are then considered as the main reservoir of human visceral leishmaniasis (Mohebbali, 2013; Mohebbali et al., 2005). The determination of a clinical profile helps practising veterinarians and even breeders to know the disease and to

eliminate dogs suspected of being ill. It has been found that the clinical signs of CanL can be very nonspecific or conversely very suggestive. The spread of leishmaniasis from the primary sites of infection to other organs and tissues may explain the variability of clinical signs and even visceral involvement, with dogs with a high number of clinical signs having the greatest number of affected organs (Martinez-Moreno et al., 1995; Solano-Gallego et al., 2001).

Despite the variability of the clinical signs observed in CanL, onychogryphosis was the most dominant clinical sign observed in this work, but we cannot consider that onychogryphosis represents a sign suggestive of CanL in this breed because we have observed that most of the healthy dogs present this clinical sign. This deformation of the claw can be due to several other causes (nutritional deficiencies or infectious diseases). This sign is followed by deterioration of the general condition, and these are the clinical signs that can be noticed by the dog owners.

According to a study conducted by Gharbi et al. (2018) in Tunisia, adenopathy is the third most common sign in dogs with CanL after poor general condition and hair loss. Another study conducted in dogs in Algiers between 2005 and 2008 by Ait-Oudhia et al. (2009) found that the dominant clinical signs of CanL were weight loss, skin lesions and adenopathy. This triad of lesions can be found in the clinical picture of several diseases other than leishmaniasis but it can be a trigger to perform other paraclinical tests to confirm the clinical suspicion. Skin lesions, weight loss and furfur are the clinical signs secondarily found in sick dogs, due to the living conditions of this breed and the lack of hygiene and nutrition most dogs are thin and suffer from skin lesions which may be due to other causes such as external parasites like scabies, demodexia, malassezia or bacterial skin infections like staphylococcal pyodermas.

After autopsy in the 7 dogs that died of CanL, splenomegaly was the dominant lesion; several other infections may cause the organ to increase in size which implies a deeper investigation (Movilla et al., 2017). Splenic cytology shows a sensitivity of 100% compared to nested PCR as the gold standard, according to a study conducted in Brazil by Barrouin-Melo et al. (2006), the research group concluded that splenic puncture is considered effective for the definitive diagnosis of CanL. Hepatomegaly was found in 5 dogs with CanL and only one case presented with bilateral glomerulonephritis. Renal involvement is common in CanL and increases the risk of death due to the serious complications it can cause (Rigo et al., 2013).

5. Conclusions

The present study, which concerns the Atlas shepherd dog in the Tiaret region, shows a very high prevalence of CanL in this canine breed. The clinical signs of the disease in this breed are similar to those of other canine breeds, with the particularity that the most striking sign is the deterioration of the general state of health, given the lack of means of paraclinical diagnosis of the disease, lymph node cytology represents a very effective tool and is even easy for veterinarians to carry out in the event of clinical suspicion.

Ethics statement

This study has been approved and validated by the scientific committee of the Institute of Veterinary Sciences, University ibn Khaldoun Tiaret, Algeria and registered under the number 205/VRPG/2017.

Declaration of Competing Interest

I hereby declare as corresponding author that all the co-authors of the manuscript have seen and approved the final manuscript. All contributed significantly to the work, and all declare there is not conflict of interest, they have no financial or personal relationship with any person or organization that might inappropriately influence or bias the paper.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2022.100787>.

References

- Achir, M., Hellal, B., 2016. Réflexions sur les variations pluviométriques de la région de Tiaret (Algérie Occidentale) durant la période: 1984-2015. *Eur. Sci. J.* 12 (11), 500.
- Adel, A., Saegerman, C., Speybroeck, N., et al., 2010. Canine leishmaniasis in Algeria: true prevalence and diagnostic test characteristics in groups of dogs of different functional type. *Vet. Parasitol.* 172 (3–4), 204–213.
- Adel, A., Abatih, E., Speybroeck, N., et al., 2015. Estimation of canine Leishmania infection prevalence in six cities of the Algerian Littoral zone using a Bayesian approach. *PLoS One* 10 (3), e0117313.
- Ait-Oudhia, K., Lami, P., Lesceu, S., et al., 2009. Increase in the prevalence of canine leishmaniasis in urban Algiers (Algeria) following the 2003 earthquake. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 103 (8), 679–692.
- Almeida, A.B., Sousa, V.R., Gasparetto, N.D., et al., 2013. Canine visceral leishmaniasis: diagnostic approaches based on polymerase chain reaction employing different biological samples. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 76 (3), 321–324.
- Alvar, J., Cañavate, C., Molina, R., et al., 2004. Canine leishmaniasis. *Adv. Parasitol.* 57, 1–88.
- Amusatégui, I., Sainz, A., Aguirre, E., et al., 2004. Seroprevalence of *Leishmania infantum* in northwestern Spain, an area Traditionally considered free of Leishmaniasis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1026, 154–157.
- ANDI, 2015. Wilaya de Tiaret; Invest in Algeria, 6; available at: Tiaret.pdf (andi.dz). Accessed on: 28-01-2021.
- Barrouin-Melo, S.M., Larangeira, D.F., De Andrade, Filho F.A., et al., 2006. Can spleen aspirations be safely used for the parasitological diagnosis of canine visceral leishmaniasis? A study on asymptomatic and polysymptomatic animals. *Vet. J.* 171 (2), 331–336.
- Briffod, C., 2011. Revue actuelle en matière de leishmaniose canine. Thèse d'exercice, Médecine Vétérinaire, Toulouse 3, 2011.
- Chargui, N., Haouas, N., Gorchii, M., et al., 2009. Use of PCR, IFAT and in vitro culture in the detection of *Leishmania infantum* infection in dogs and evaluation of the prevalence of canine leishmaniasis in a low endemic area in Tunisia. *Parasite* 16 (1), 65–69.
- Cortes, S., Vaz, Y., Neves, R., et al., 2012. Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. *Vet. Parasitol.* 189 (2–4), 189–196.
- Courtenay, O., Quinell, R.J., Garcez, L.M., et al., 2002. Low infectiousness of a wildlife host of *Leishmania infantum*: the crab-eating fox is not important for transmission. *Parasitology* 125 (Pt 5), 407–414.
- Cruz, I., Cañavate, C., Rubio, J.M., et al., 2002. A nested polymerase chain reaction (n-PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum* infection in patients co-infected with human immunodeficiency virus. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 96 (Suppl. 1), S185–S189.
- Cruz, I., Acosta, L., Gutiérrez, M.N., et al., 2010. A canine leishmaniasis pilot survey in an emerging focus of visceral leishmaniasis: Posadas (Misiones, Argentina). *BMC Infect. Dis.* 10, 342.
- Da Costa-Val, A.P., Cavalcanti, R.R., De Figueiredo, Gontijo N., et al., 2007. Canine visceral leishmaniasis: relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. *Vet. J.* 174 (3), 636–643.
- Dedet, J.-P., 2009. Leishmaniasis, leishmanioses: biologie, clinique et thérapeutique. *EMC Maladies infectieuses* 6 (1), 1–14.
- Espérandieu, G., Chaker, S., 1994. « Chèvre », *Encyclopédie berbère [En ligne]*, 13 | 1994, document C52. URL: <http://journals.openedition.org/encyclopedieberbere/2319>.
- FCI, 2003. Fédération Cynologique Internationale (AISBL); Chien de montagne de l'Atlas (Aïdi); Standard FCI N° 247; Secretariat General: 13, Place Albert 1er B – 6530 Thuin (Belgique).
- Fellah, H., Doughmi, O., Maniar, S., et al., 2014. Etude séro-épidémiologique de la leishmaniose canine au centre du Maroc. *Pan Afric. Med. J.* 19, 248.
- Fisa, R., Gállego, M., Riera, C., et al., 1997. Serologic diagnosis of canine leishmaniasis by dot-ELISA. *J. Vet. Diagn. Investig.* 9 (1), 50–55.
- Gharbi, M., Jaouadi, K., Mezghani, D., et al., 2018. Symptoms of canine leishmaniasis in Tunisian dogs. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 111 (1), 51–55.
- Guarga, J.L., Moreno, J., Lucientes, J., et al., 2000. Canine leishmaniasis transmission: higher infectivity amongst naturally infected dogs to sand flies is associated with lower proportions of T helper cells. *Res. Vet. Sci.* 69 (3), 249–253.
- Harrat, Z., Belkaid, M., 2003. Les leishmanioses dans l'Algérois. Données épidémiologiques. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 96 (3), 212–214.
- Iniesta, L., Fernandez-Barredo, S., Bulle, B., et al., 2002. Diagnostic techniques to detect cryptic Leishmaniasis in dogs. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9 (5), 1137–1139.
- Lachaud, L., Marchegui-Hammami, S., Chabbert, E., et al., 2002. Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral Leishmaniasis. *J. Clin. Microbiol.* 40 (1), 210–215.
- Martinez, V., Quilez, J., Sanchez, A., et al., 2011. Canine leishmaniasis: the key points for qPCR result interpretation. *Parasit. Vectors* 4, 57.
- Martinez-Moreno, A., Moreno, T., Martinez-Moreno, F.J., et al., 1995. Humoral and cell-mediated immunity in natural and experimental canine leishmaniasis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 48 (3–4), 209–220.

- Martín-Sánchez, J., Morales-Yuste, M., Acedo-Sánchez, C., et al., 2009. Canine leishmaniasis in south eastern Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 15 (5), 795–798.
- Medkour, H., 2017. La leishmaniose canine à Bouira et Sétif: étude séro-épidémiologique et mise en évidence de la relation vecteur phlébotome-réservoir canin. Thèse de magistère; École Nationale Supérieure Vétérinaire, Alger.
- Medkour, H., Laidoudi, Y., Lafri, I., et al., 2020. Canine vector-borne protozoa: molecular and serological investigation for *Leishmania* spp., *Trypanosoma* spp., *Babesia* spp., and *Hepatozoon* spp. in dogs from northern Algeria. *Veterin. Parasitol. Region. Stud. Rep.* 19 (100353).
- Mettler, M., Grimm, F., Capelli, G., et al., 2005. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays, an immunofluorescent-antibody test, and two rapid tests (immunochromatographic-dipstick and gel tests) for serological diagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania* infections in dogs. *J. Clin. Microbiol.* 43 (11), 5515–5519.
- Miranda, S., Roura, X., Picado, A., et al., 2008. Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniasis diseased dogs. *Res. Vet. Sci.* 85 (1), 35–38.
- Mohebbi, M., 2013. Epidemiological status of visceral leishmaniasis in Iran: experiences and review of literature. *Iran. J. Parasitol.* 8 (3), 348–358.
- Mohebbi, M., Hajjarian, H., Hamzavi, Y., et al., 2005. Epidemiological aspects of canine visceral leishmaniasis in the Islamic Republic of Iran. *Vet. Parasitol.* 129 (3–4), 243–251.
- Mouloua, K., 2014. Étude éco-épidémiologique de la Leishmaniose canine en Kabylie. Thèse de docteur en sciences biologiques; Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, Algérie.
- Mouloua, K., Boubidi, S.C., Bouiba, L., et al., 2017. Impact environnemental sur la répartition des leishmanioses dans le foyer de Tizi-Ouzou (Algérie). *Rev. Med. Vet.* 168 (10–12), 258.
- Movilla, R., Altet, L., Serrano, L., et al., 2017. Molecular detection of vector-borne pathogens in blood and splenic samples from dogs with splenic disease. *Parasit. Vectors* 10 (1), 131.
- Papierok, G.M., 2002. Diagnostic biologique de la leishmaniose canine et perspectives. *Le Nouveau Praticien* 2002 (7), 65–68.
- Pinto, M.C., Campbell-Lendrum, D.H., Lozovei, A.L., et al., 2001. Phlebotomine sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. *Med. Vet. Entomol.* 15 (2), 132–139.
- Portela, R.D., Soares, R.P., Passos, G.P., et al., 2019. *Leishmania infantum*-derived lipophosphoglycan as an antigen in the accurate serodiagnosis of canine leishmaniasis; LPG for canine leishmaniasis immunodiagnosis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 13 (9), e0007720.
- Rami, M., Atarhouch, T., Sabri, M., et al., 2003. Leishmaniose canine dans le Rif (côte méditerranéenne marocaine): enquête séro-épidémiologique. *Parasite* 10 (1), 79–85.
- Rigo, R.S., Carvalho, C.M.E., Honer, M.R., et al., 2013. Renal histopathological findings in dogs with visceral leishmaniasis. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 55 (2), 113–116.
- Rodríguez-Cortés, A., Ojeda, A., López-Fuertes, L., et al., 2007. A long term experimental study of canine visceral leishmaniasis. *Int. J. Parasitol.* 37 (6), 683–693.
- Saridomichelakis, M.N., Mylonakis, M.E., Leontides, L.S., et al., 2005. Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. *J. Am. Soc. Tropic. Med. Hygiene* 73 (1), 82–86.
- Schallig, H.D.F.H., Canto-Cavelheiro, M., da Silva, E.S., 2002. Evaluation of the direct agglutination test (DAT) and the rK39 dipstick test for the serodiagnosis of visceral leishmaniasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97 (7), 1015–1018.
- Slappendel, R.J., Ferrer, L., 1998. Leishmaniasis. *Greene CE, ed. Infectious Diseases of the Dog and Cat.* WB Saunders, Philadelphia, pp. 450–458.
- Solano-Gallego, L., Morell, P., Arboix, M., et al., 2001. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. *J. Clin. Microbiol.* 39 (2), 560–563.
- Tulsane, L., 2009. Actualités dans la lutte de la Leishmaniose Canine. Thèse d'exercice. Médecine Vétérinaire, Alfort.
- Velez, R., Ballart, C., Domenech, E., et al., 2019. Seroprevalence of canine *Leishmania infantum* infection in the Mediterranean region and identification of risk factors: the example of north-eastern and Pyrenean areas of Spain. *Preventive Veterinary Medicine* 162, 67–75.
- WHO, 2021. World Health Organization. Number of Cases of Visceral Leishmaniasis Reported, Data by Country. <https://apps.who.int/gho/data/node.main.NTDLEISHVNUM?lang=en>.
- Živičnjak, T., Martinković, F., Marinculić, A., et al., 2005. A seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniasis among apparently healthy dogs in Croatia. *Vet. Parasitol.* 131 (1–2), 35–42.