

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE
ET POPULAIRE



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
FACULTE DES SCIENCES AGRONOMIQUES ET VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de

MAGISTER

En Sciences Vétérinaires

OPTION : HYGIENE ALIMENTAIRE ET PATHOLOGIE

INFECTIEUSE

THEME

**ETUDE DE LEISHMANIOSE CANINE
DANS LA WILAYA DE TIARET**

PRESENTE PAR :

Mr : AMMAM ABDELKADER

PROMOTION

2008-2009

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
FACULTE DES SCIENCES AGRONOMIQUES ET VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de

MAGISTER

En sciences vétérinaires

OPTION : HYGIENE ALIMENTAIRE ET PATHOLOGIE

INFECTIEUSE

THEME

**ETUDE DE LEISHMANIOSE CANINE
DANS LA WILAYA DE TIARET**

Présenté par :

Mr : AMMAM ABDELKADER

Sous la direction de : Mr. AGGAD HEBIB.

Et de : Mr. HAMMOUDI SI MOHAMED.

Soutenu publiquement devant le jury

Président:

M^f KIHHEL MABROUK ; professeur a l'université Es-sénia, Oran

Rapporteur:

M^f. AGGAD HEBIB ; maître de conférence université Ibn –khaldoun, Tiaret.

Co Rapporteur:

M^f HAMMOUDI SI MOHAMED; chargé de cours, université Ibn –khaldoun, Tiaret

Examineurs:

M^r. ABDELHADI SI AMEUR ; chargé de cours université Ibn –kahldoun, Tiaret

M^{me}. BENCHAIB FATIMA ; chargé de cours université Ibn –khaldoun, Tiaret

Remerciements

Au terme de ce mémoire, je remercie tout d'abord le bon dieu de m'avoir donné la force et la patience pour pouvoir réaliser ce modeste travail.

Qu'ils nous soit permis de remercier mes chers parents ainsi que tous ceux et celles qui de près ou de loin ont contribué à sa réalisation.

Je tiens à remercier Monsieur AGGAD HEBIB, mon directeur de thèse.

Je tiens également à remercier Monsieur HAMMOUDI SI MOHAMED, mon Codirecteur de thèse pour sa confiance, pour ces judicieux conseils, surtout de sa disponibilité, de sa qualité humaine et scientifique. Qu'il trouve ici le témoignage de ma plus vive gratitude. Qu'il sache à tout jamais, je lui en suis profondément reconnaissant.

Un merci particulier à mon professeur Monsieur KHIATI BAGHDAD pour m'avoir fait bénéficier de son expérience, de son esprit élevé de compréhension et d'analyse, qu'il en soit vivement remercié.

Mes remerciements vont également à :

Monsieur KIHAL MABROUK, Professeur à l'Université ES-SENIA D'ORAN, qui nous a toujours servi de modèle de rigueur scientifique, de son extrême disponibilité malgré ses lourdes tâches, qu'il soit remercié d'avoir accepté de juger et présider le jury de ce modeste travail.

Nous sommes très reconnaissant à Monsieur ABDELHADI SI AMEUR. Chargé de cours à l'université IBN KHALDOUN DE TIARET. D'avoir accepté de juger ce travail, nous le remercions pour sa disponibilité, sa générosité et bienveillance, nous le remercions également pour la simplicité et la facilité avec laquelle il nous a toujours accueilli. Qu'il en soit vivement remercié.

Que Madame BENCHAIIB FATIMA, Chargé de Cours à l'Université IBN KHALDOUN de Tiaret, soit remercié pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail, de son sérieux dans l'accomplissement de ces tâches, sa gentillesse, sa compréhension et son souci de toujours mieux faire et qui nous a toujours réservé un accueil chaleureux ; d'avoir accepté de participer à ce jury. Nos hommages les plus respectueux.

C'est très sincèrement que je remercie Monsieur BERRANI KADI pour l'aide précieuse qu'il m'a apportée durant toute la période de réalisation de ce mémoire.

Un merci spécial pour ma soeur KHADIDJA AMMAM pour tous qu'elle a fait pour moi.

Je tiens également à témoigner ma profonde reconnaissance à ma chère soeur DR BOUMEDIEN DJALILA pour son soutien dans les moments difficiles qu'elle en soit vivement remerciée.

Mes vifs remerciements vont à mes amis : DJILLALI, MIMOUN, KARIM, MESLEM, SLIMANI, SAIDA et son mari HOUARI, ROBA, AMEL, FAIZA.

Que les personnes dont les noms non pas été mentionnés, veuillent trouver sur cette page l'expression de ma reconnaissance.



DEDICACES

JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL :

❖ MES PARENTS.

❖ TOUTE LA FAMILLE AMMAM ET PARTICULIEREMENT
MA SŒUR KHADIDJA.

❖ MES CHERS PROFESSEURS MONSIEURS HAMMOUDI
M ET KHIATI B.

❖ MES AMIS.

ABREVIATIONS

B.A.: Berger allemand
E.L. I. S.A : Enzyme Linked Immuno Essay
g : Gramme
Gr : Grossissement
I.F.I. : Immunofluorescence indirecte
J: jour
Kg : Kilogrammes
L.C.: Leishmaniose cutanée
L.V.: Leishmaniose viscérale
min : Minutes
ml : Millilitre
W.L. : Witness *leishmania*.
µg : micro gramme
UI : Unité International
Ht : hématocrite
♂ : Male
♀ : Femelle
L : Litre
h : heure
Mg : milligramme
µm : Micromètre
FNS: Formule Numérique Sanguine.
GB: Globule Blanc.
GR: Globule rouge.
LFG: Leuco formol-gelification.
MGG: May Grunwald Giemsa.
N°: numéro.
VS: Vitesse de sédimentation.
%: pour cent.
mm : millimètre
cm : centimètre
ADN : Acide Désoxyribonucléique

SIDA : Syndrome d'Immunodéfécience humaine.

SRE : système reticuloendoplasmique.

PCR : polymérase chaîne réaction.

Can.L : leishmaniose canine.

ARN : Acide ribonucléique

SC : sous cutanés

IV : intraveineuse

EDTA: Ethyle Di Nitro Titra Acyle.



PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

LISTE DES FIGURES :

<u>FIGURE 01:</u> Statuette découverte au Pérou.....	04
<u>FIGURE 02:</u> Répartition mondiale des zones d'endémies des leishmanioses cutanées, mucocutanées et viscérales.	15
<u>FIGURE 03:</u> Vecteur de leishmaniose "petit moucheron bossu"	19
<u>FIGURE 04:</u> Extrémités du mâle et de la femelle.....	21
<u>FIGURE 05:</u> Les deux formes de parasite.	27
<u>FIGURE 06:</u> La forme amastigote dans des différents stades.....	24
<u>FIGURE 07:</u> Un amas de parasites "rosette".....	25
<u>FIGURE 08:</u> Schéma du cycle de vie de leishmania.....	27

LISTE DES PHOTOS :

<u>PHOTO 1 :</u> enfant atteint d'une leishmanioses viscérale.....	07
<u>PHOTO 2 :</u> enfant présentant une lésion de la leishmaniose cutanées.....	08
<u>PHOTO 3 :</u> amaigrissement.....	10
<u>PHOTO 4 :</u> furfures.....	12
<u>PHOTO 5 :</u> chancre d'inoculation.....	12

PARTIE PRATIQUE

LISTE DES TABLEAUX

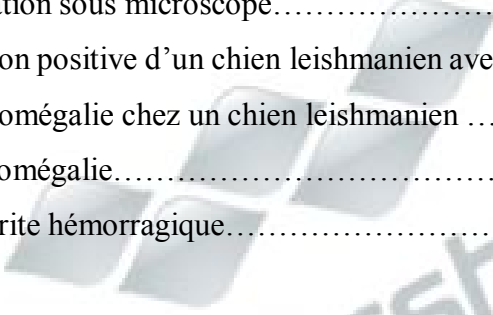
<u>TABLEAU 1</u> : Les différentes races de chiens prélevés.....	47
<u>TABLEAU 2</u> : distribution des animaux en fonction de leurs ages.....	48
<u>TABLEAU 3</u> : les principaux symptômes observés chez les chiens leishmaniens	59
<u>TABLEAU 4</u> : comparaison des symptômes chez des chiens Leishmaniens.....	65
<u>TABLEAU 5</u> : Incidence de la leishmaniose selon le sexe.....	66
<u>TABLEAU 6</u> : La fréquence de la leishmaniose canine selon l'age des chiens.....	68
<u>TABLEAU 7</u> : qualité du test de LFG par rapport au test de MGG.....	71
<u>TABLEAU 8</u> : récapitulatifs des différents paramètres étudiés chez les chiens positifs avec les valeurs d'un chien normal.	74
<u>TABLEAU 9</u> la sensibilité et la spécificité du diagnostic clinique.....	75
<u>TABLEAU 10</u> récapitulatif des sensibilités et spécificité des test utilisés	77

LISTE DES FIGURES

<u>FIGURE 1</u> : repartition des chiens selon la race.....	48
<u>FIGURE 2</u> : répartition des chiens selon l'age.....	49
<u>FIGURE 3</u> : Dépôt de l'échantillon pour le test W.L.....	55
<u>FIGURE 4</u> : Dépôt de la solution tampon.....	56
<u>FIGURE 5</u> : Résultat négatif	57
<u>FIGURE 6</u> : Résultat positif.....	57
<u>FIGURE 7</u> : fréquence des signes cliniques de la leishmaniose.....	60
<u>FIGURE 8</u> : repartition de la leishmaniose selon le sexe.....	66
<u>FIGURE 9</u> : répartition de la leishmaniose canine selon l'age.....	69
<u>FIGURE 10</u> : la sensibilité et la spécificité de chaque test utilise.....	77

LISTE DES PHOTOS

<u>PHOTO 1</u> : amaigrissement marqué chez un chien leishmanien cas	61
<u>PHOTO 2</u> : signes de lunette cas	61
<u>PHOTO 3</u> : néphropathie (douleur a la mixions)	62
<u>PHOTO 4</u> : Onychogriphose	62
<u>PHOTO 5</u> : affections oculaire	63
<u>PHOTO 6</u> : affections de la peau	63
<u>PHOTO 7</u> : réactions de LFG formation de gel.....	70
<u>PHOTO 8</u> : hématocrite d'un chien leishmanien (40%).....	72
<u>PHOTO 9</u> : coloration de MGG.....	73
<u>PHOTO 10</u> : observation sous microscope.....	74
<u>PHOTO 11</u> : réaction positive d'un chien leishmanien avec le witness test.....	76
<u>PHOTO 12</u> : hépatomégalie chez un chien leishmanien	71
<u>PHOTO 13</u> : splénomégalie.....	71
<u>PHOTO 14</u> : Néphrite hémorragique.....	72


wondershare™

MATERIEL ET METHODES

I.MATERIEL :

I.1 Région d'étude :

L'étude menée, a duré huit mois (de novembre 2007 à juin 2008).

Les différents prélèvements, ont été effectués, au niveau de la clinique de l'institut des sciences vétérinaire de Tiaret où les animaux consultés proviennent de divers endroits de la willaya.

Cette clinique est structurée de la manière suivante :

- une salle de consultation : pour l'examen général de l'animal ainsi que les prélèvements (sang, urine, ponction gonglionnaire, etc.).
- une salle de chirurgie : utilisée pour les différentes interventions chirurgicales et pour les autopsies.
- un bloc de laboratoires (microbiologie, biochimie, parasitologie) ; où les prélèvements subissent certaines préparations (centrifugations, colorations des coupes histologiques), des tests microscopiques et autres analyses des échantillons (urine, sang, selles, etc.).

I.2 Effectif canin :

Parmi les 185 chiens étudiés, (104) soit **56.16%** étaient de sexe masculin.

I.3 Races : Le tableau suivant récapitule la répartition des races canines

TABLEAU N°1 : Différentes races de chiens prélevés.

Races	chiens		male		femelle	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Berger Allemand	59	31.89	37	35.57	22	21.15
Commune	32	17.29	18	17.30	14	13.46
Croisée	26	14.04	16	15.38	10	9.61
Chien de chasse	19	10.26	11	10.57	08	7.69
Caniche	09	4.87	03	2.88	06	5.76
Braque allemand	08	4.32	05	4.80	03	2.88
Berger Belge	07	3.79	05	4.80	02	1.92
Doberman	07	3.79	03	2.88	04	3.84
Braque français	06	3.24	01	0.96	05	4.80
Epagneul	04	2.16	01	0.96	03	2.88
Pit bull	03	1.62	00	00	03	2.88
Rotweiller	03	1.62	02	1.92	01	0.96
pointer	01	0.54	01	0.96	00	00
Cetair	01	0.54	01	0.96	00	00

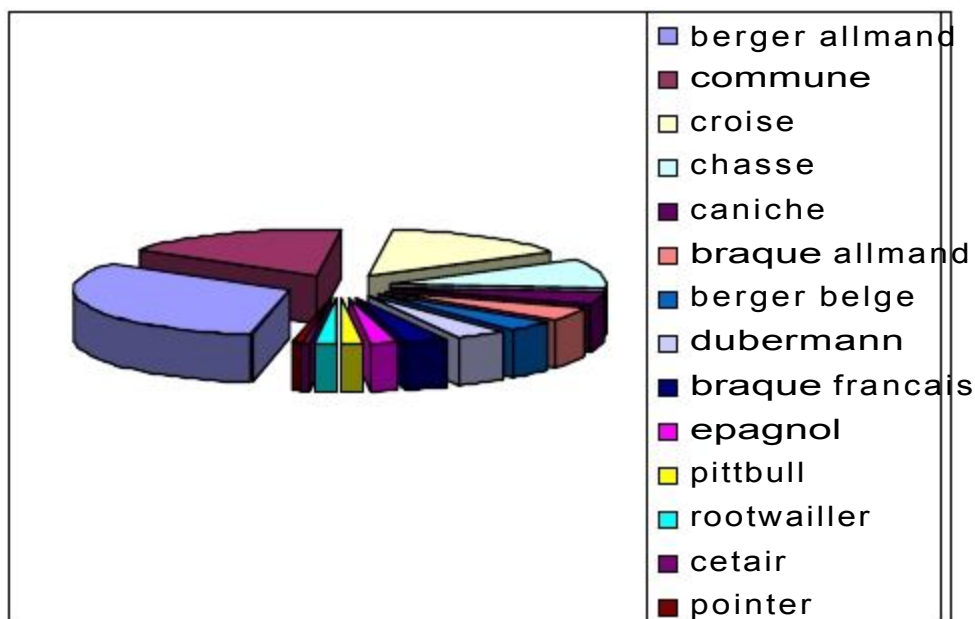


FIGURE N° 1 : Répartition des chiens selon la race.

14 races sont comptabilisées ; la race Berger Allemand et la race commune sont prédominantes avec 31,39 % et 17,29 % respectivement

I.4 Classe d'âge :

Nous avons réparti les individus en huit (08) tranches d'âge (tableau 02)

TABLEAU N° 02 : distribution des animaux en fonction de leur âge

Classes d'âge	Nombre de chien
[0..... 6 mois]	26
] 6 mois..... 1an]	29
]1an 2ans]	25
] 2 ans3ans]	41
] 3ans.....4ans]	33
] 4 ans 5ans]	18
] 5 ans et plus	13
Total	185

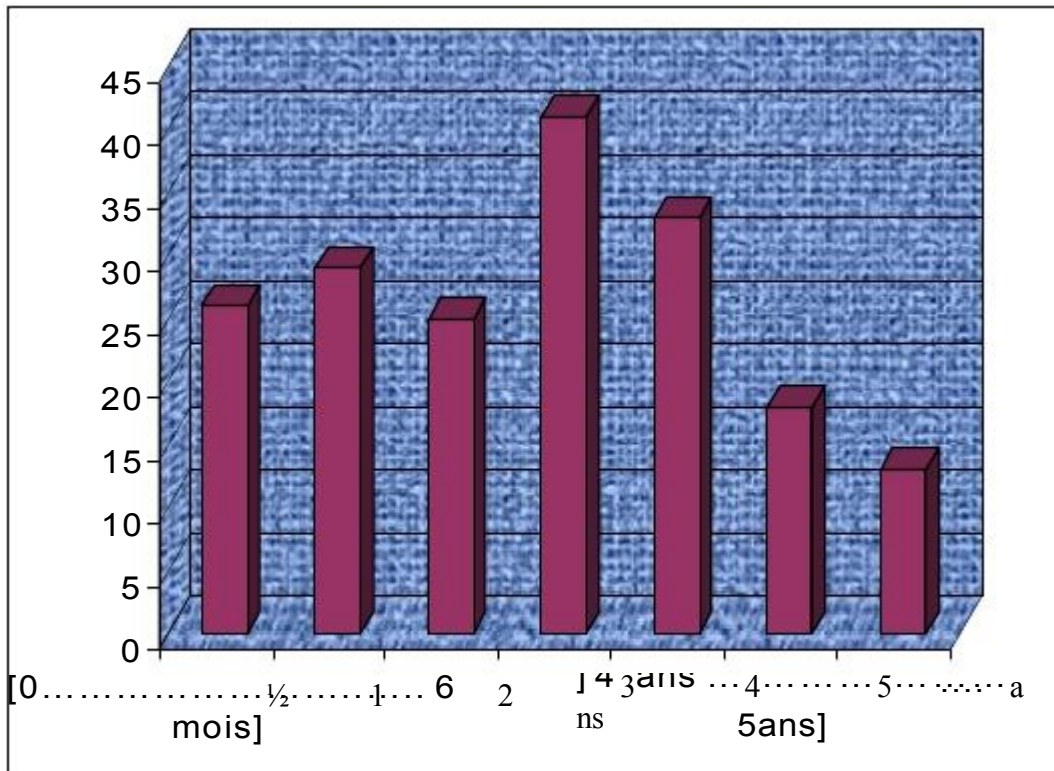


FIGURE N° 2 : répartition des chiens selon l'âge.

II.METHODOLOGIE :

Pour mettre en évidence l'existence de la maladie, nous avons eu recours à certaines méthodes de laboratoires utiles de réalisation simple.

Notre démarche méthodologique était la suivante :

*** II.1 EXAMEN CLINIQUE**

Lors des consultations, l'ensemble des commémoratifs concernant les animaux est enregistré : race, âge, sexe, localisation, mode de vie, signes généraux (amaigrissement, anémie, fatigabilité), (modifications comportementales, modifications de l'appétit, vomissements, etc.

Par la suite, un examen clinique détaillé est réalisé.

*** II.2 PRELEVEMENT DE SANG :**

Le prélèvement de sang effectué au niveau de la veine céphalique de l'avant bras du chien et recueilli dans (2) tubes stériles (tube sec et tube a EDTA). Une ponction gonglionnaire est pratiquée lors d'hypertrophie de poplité.

***II.3 TEST DE LABORATOIRE** : orientation au laboratoire pour les tests suivants «LFG, FNS, MGG). Le test "Witness Leishmania" a été appliqué dans certains cas.

II.3.1 Diagnostic de laboratoire:

II.3.1.1. test d'orientation du diagnostic de la leishmaniose (réaction de leuco-formol-gelification) « LFG »

Principe de test :

- 5 ml de sang dans un tube à anticoagulant centrifugé à la vitesse de 3000 tours /mn,
- 2 ml de sérum obtenu avec formol 40%.
- La formation d'un gel indique après 20 mn une réaction positive.

Un test positif indique un taux élevé de globulines avec chute de l'albumine.

II.3.1.2 Vitesse de sédimentation (VS) :

Le sang est recueilli dans un tube gradué jusqu'à 0 mm et on le fixe verticalement, laissé sédimenter dans le support approprié. Puis on fait 2 lecture : la 1^{re} à 30mn et la 2^{eme} à 60mn
La VS est mesurée par la hauteur (mm) / heure (Delmare, 1992).

La chute des globules rouges au sein de plasma invitro lorsque le sang a été rendu incoagulable. La VS sert a ; apprécier le nombre d'hématies, déceler un hyper leucocytose et

d'indiquer l'existence du processus inflammatoire ; Valeur normales de la VS chez le chien: 1-2 mm à la 1 heure. 2-4 mm à la 2 heures et 8-15 mm à 24 heures.

Lors d'infection la vitesse de sédimentation est accélérée. (Niemand, 1992).

II.3.1.3 Hématocrite (HC) : c'est le pourcentage de volume globulaire en particulier d'hématies par rapport au volume sanguin total (valeur normale chez le chien 44 à 57 %).

On fait remplir un tube capillaire en plaçant dans le tube a EDTA, on ferme le tube par de mastic d'un coté, puis on le place dans la centrifugeuse de l'hématocrite pendant 3 mn à 12000 tours ; la lecture se fait sur la plaque de l'hématocrite.

II.3.1.4 FNS (FORMULE DE NUMERATION SANGUINE)

La Numération sanguine consiste à compter le nombre des éléments figurés du sang (Globules). Le résultat s'exprime en éléments par mm³ (millimètre cube).

La Formule sanguine donne la proportion de chacun des types de globules blancs.

Polynucléaires neutrophiles
Polynucléaires éosinophiles
Polynucléaires basophiles
Lymphocytes (Petits + Grands)
Monocytes

Les FNS sont habituellement effectuées par des automates de laboratoire, mais l'étude fine des Formules sanguines se fait au microscope après coloration au May- Gründwald -Giemsa (MGG).

La confirmation du diagnostic de la leishmaniose par examen direct après coloration au May- Gründwald-Giemsa (MGG) est très utilisée (Niemand et Suter, 1992 ; Ambroise et Thomas , 1990 ; Groulade et al ; 1979 ; Bachi et al ; 1997 ; Belkaid et al ; 1992).

PROTOCOLE :

PRÉLÈVEMENT.

Le prélèvement au laboratoire ou en clinique se fait au vacutainer ou seringue stérile sur sang veineux avec anticoagulant (EDTA)

FROTTIS :

Le frottis peut se pratiquer sur lame ou sur lamelle.

FROTTIS SUR LAME. (Annexe N° 03)

- Déposer une goutte de sang de taille moyenne à 1.5 cm du bord droit d'une lame dégraissée,
- Étaler par capillarité la goutte au contact de l'arête d'une deuxième lame rodée tenue à 45 degrés,
- Pousser rapidement la deuxième lame vers la gauche de la première lame en entraînant le sang qui s'étale en une couche mono cellulaire (Frottis).
Si la goutte de sang est de taille convenable, le frottis doit se terminer à 1 cm environ du bord gauche de la lame.
- Variante: on peut remplacer la deuxième lame par une lamelle couvre objet.

DESSICCATION.

Le frottis est séché rapidement à l'air à l'abri des poussières.

COLORATION au MGG.

2. Coloration sur lame

- Déposer 10 à 15 gouttes de May-Grünwald sur le frottis et couvrir pour éviter l'évaporation. Pendant 3 mn. C'est la Fixation.
- Déposer 10 à 15 gouttes d'eau tamponnée et mélanger par rotation de la lame. 1 mn
- Égoutter
- Recouvrir de Giemsa dilué 15 mn. C'est la coloration.
- Égoutter
- Laver à l'eau neutre.
- Sécher au papier Joseph.

EXAMEN.

Examen à l'objectif 40 X à hématologie ou

Examiner à l'immersion 100 X et oculaires faibles

Déplacer la lame en faisant des "créneaux" pour ne pas repasser au même endroit.

Compter 100 leucocytes (ou mieux 200) ce qui donne immédiatement le résultat.

CONSERVATION DES FROTTIS.

Les frottis après examen à l'immersion sont couverts d'huile qui a tendance d'abord à ramasser poussières et fibres puis à sécher. De ce fait un ré-examen ultérieur de la lame est rendu difficile. Son nettoyage au xylène n'est pas satisfaisant.

Une bonne habitude consiste à déposer une grosse goutte d'huile de cèdre sur le frottis et de poser par dessus une ou deux grosses lamelles contiguës.

Au bout de quelques jours le frottis est transformé en préparation permanente qui se conserve indéfiniment. La présence de lamelle malgré son épaisseur ne nuit pas la mise au point lors d'un futur examen à l'immersion.

NUMERATION

Pour la numération on utilise surtout la cellule de Malassez. Nous comptons quatre carrés de la cellule au fort grossissement. Ces carrés contiennent chacun seize petits carrés que nous comptons en zigzag nous additionnons les leucocytes des petits carrés.

Pour le calcul (nombre de leucocytes par litre) nous multiplions le nombre de cellules dans quatre carrés par 50.10.

OBSERVATION : (Annexe N° 04)

Polynucléaire Neutrophile :

Description:

- Taille: 12-14 μ arrondi.
- Noyau: Polylobé 2-6 lobes (2-3 les plus nombreux)
- Cytoplasme: clair acidophile

Granulations: neutrophiles violettes régulières tes fines et nombreuses

Polynucléaire Eosinophile :

Description:

- Taille: 12-14 μ arrondi.
- Noyau: 2-3 lobes
- Cytoplasme: clair, acidophile presque pas visible recouvert par les granulations

Granulations: acidophiles, roses, rondes, nombreuses

Polynucléaire Basophile :

Description:

- Taille: 11-13 μ arrondi
- Noyau: 2-4 lobes denses
- Cytoplasme: acidophile clair

Granulations: très nombreuses pouvant recouvrir le noyau anguleuses bleu-violet foncé.

Les Lymphocytes :

Description:

- Taille: 10-15 μ Arrondi déformable (les bords épousent la forme des cellules mitoyennes).
- Noyau: rond ovale ou en drapeau
- Cytoplasme: bleu très clair

Granulations: quelques rares granulations azurophiles en paquet

Le Monocyte :

Description:

- Taille: 18-21 μ arrondi très déformable
- Noyau: rond ou encoché
- Cytoplasme: basophile clair

Granulations: très fines et très nombreuses azurophiles

II.3.1.5 Witness *Leishmania* :

Principe du test :

Le test witness *leishmania* est un test de réalisation simple, basée sur une immuno-migration rapide.

L'échantillon à tester contenant les anticorps anti-*leishmania* (sang total, sérum, ou plasma) est mis en contact avec des particules d'or colloïdal sensibilisées. Le complexe ainsi formé migre sur une membrane avant d'être capturé sur une membrane réactive, au niveau de laquelle sa concentration provoque la formation d'une bande de couleur rose clairement visible. Une bande de contrôle, située à l'extrémité de la membrane, permet de s'assurer que le test a été réalisé correctement.

Ce test peut être réalisée sur du sang total, du sérum ou du plasma. Pour le sang total, l'échantillon doit être prélevé sur anticoagulant (citrate ou héparine)

Réalisation du test et résultats :

A - Préparation de l'échantillon :

- La plaquette test (1) est retirée de son etui, et placée sur une surface plane.
- L'échantillon est déposé grâce à la pipette fournie en la maintenant verticalement.
- 2 fois 5 microlitres sont répartis dans le puit échantillon. (Fig.3)



FIGURE N° 3 : Dépôt de l'échantillon pour le test W.L.

B - Répartition de la solution tampon :

S'assurer que l'échantillon a bien diffusé dans la membrane.

4 gouttes de la solution tampon (flacon) maintenue verticalement est répartie dans le puit échantillon.



FIGURE N° 4 : Dépôt de la solution tampon.

Laisser la membrane s'imprégner entre chaque goutte.

La plaquette test est laissée bien à plat durant tout le temps de la migration du complexe échantillon / réactif sur la bandelette, à savoir 10 minutes maximum.

C - Lecture du test :

Au terme de 10 minutes, on recherche la présence ou l'absence de bandes de couleur rose dans les fenêtres, (2) et (3) (Fig.6).

D - Résultats :

- **Validation** : Le test est validé si une bande est présente dans la fenêtre de lecture au niveau du repère correspondant (3).

- Interprétation :

- Absence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (2) et apparition d'une bande au niveau du repère (3) : **Négatif en anticorps anti - leishmania.**

- Présence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (3) : **Positif en anticorps anti - leishmania.**



FIGURE N° 5 : Résultat négatif (présence d'une seule bande au niveau du repère n° 3)



FIGURE N°6 : Résultat positif (présence de deux bandes au niveau des repères 2 et 3)

REMARQUES

- il est possible de conclure la lecture du test avant 10mn si deux bandes de couleur rose (correspond respectivement a la bande test (2) et a la bande témoin (3) sont nettement apparues
- l'absence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (3) rend le test invalide.

*** II.4 AUTOPSIE :**

Les autopsies consistent à explorer les tissus et organes, externes et internes, après le décès de l'animal. Le but principal d'une autopsie est de chercher des modifications de ces organes. Une autopsie est composée grossièrement de deux parties, une partie d'examen macroscopique (visible à l'oeil nu) et une partie de coupes histologiques suivies d'examens histo-pathologiques (examen microscopique). A cela se rajoute des analyses de germes, bactériologiques, parasitaires, virales, etc. Si toutes ses observations peuvent apporter un diagnostic post-mortem, cela n'est toutefois pas toujours le cas, en particuliers lors de modifications peu spécifiques ou fréquemment observés. Cette difficulté de poser parfois un diagnostic certain peut se révéler frustrante pour le propriétaire de l'animal qui n'est pas satisfait avec les hypothèses non confirmées.

Les autopsies sont normalement réalisées en cas de mort subite, d'euthanasie ou d'évolution fatale de la maladie,

Des autopsies ne peuvent être pratiquées que sur un corps réfrigéré. Si le corps est resté plusieurs heures à l'extérieur au chaud, les phénomènes d'autolyse seront trop importants et empêcheront tout examen post-mortem sérieux. La congélation détruit également les cellules et est à proscrire.

Importance.

C'est souvent le vétérinaire ou la clinique qui aura intérêt à mieux connaître les modifications pathologiques macroscopiques ou histo-pathologiques de la maladie ayant entraîné la mort, voire d'une pathologie annexe. Dans ces cas, le vétérinaire devra demander l'autorisation aux propriétaires de l'animal. L'autopsie lui permettra éventuellement de confirmer son diagnostic pré-mortem, ou d'observer les lésions associées à la pathologie diagnostiquée ou de mieux comprendre la cause de décès.

Après l'autopsie, le corps sera de préférence incinéré, de la même manière que sans autopsie, L'autopsie peut donc s'avérer très intéressante et utile si on est conscient de ses limites.

RESUME

La leishmaniose est une zoonose parasitaire, transmissible à l'homme et au chien par la piqûre infectante d'un vecteur ; phlébotome femelle.

La leishmaniose canine est en perpétuelle recrudescence dans notre pays. Cette affection cantonnée il y a une vingtaine d'années dans la région de la Kabylie, (Tizi Ouzou), sévit actuellement dans d'autres wilayas, notamment Tiaret.

Dans la région de Tiaret, des cas ponctuels de leishmanioses canines ont été diagnostiqués, durant ces dernières années,

Notre étude se propose de déterminer la séroprévalence de la leishmaniose canine dans la wilaya de Tiaret, et pour cela, des prélèvements effectués sur un total de « 185 » chiens, ont été réalisés au niveau de la clinique de l'institut des sciences vétérinaire ; « 11 » cas se sont avérés positifs et cela par le biais de la méthode de coloration MGG.

MOTS CLES : Leishmaniose canine, Tiaret, séroprévalence, méthode MGG.

SUMMARY:

Leishmaniasis is a zoonotic parasite, transmitted to humans and dogs by the bite of an infective vector; female sandfly.

Canine leishmaniasis is constantly increasing in our country. This condition is confined twenty years in the region of Kabylie (Tizi Ouzou), currently raging in other willayas, including Tiaret.

In the region of Tiaret, specific cases of canine leishmaniasis have been diagnosed, in recent years,

Our study aims to determine the seroprevalence of canine leishmaniasis in the wilaya of Tiaret, and therefore, drawn from a total of "185" dogs have been achieved in the clinic of the institute of veterinary sciences; "11" cases were positive and that through the method of coloring MGG.

KEY WORDS: canine Leishmaniasis, Tiaret, seroprevalence, MGG method.

موجز:

الليشمانيا مرض طفيلي ينتقل الى الانسان و الحيونا عن طريق لدغة انثى دبابه الرمال. ليشمانيا الكلاب تتزايد باستمرار في بلادنا، هذا المرض الذي اقتصر مند عشرين عاما على منطقة القبائل (تيزي وزو) ظهر حاليا في عدة مناطق خاصة ولاية تيارت. في منطقة تيارت تم تشخيص حالات محددة في السنوات الاخيرة. تهدف اردستنا الى تحديد نسبة انتشار هذا المرض في منطقة تيارت و بالتالي اعتمدنا على تحليل عينات مد لما مجموعه "185" كلب ظهر منها 11 حالة ايجابية بواسطة طريقة التلوين MGG. **الكلمات المفتاحية:** ليشمانيا الكلاب- تيارت- طريقة MGG- الانتشار المصلي.

Introduction:

Les leishmanioses constituent un groupe de maladies dues à différentes espèces de protozoaires trypanosomatides appartenant au genre *Leishmania*, qui touchent l'homme et d'autres mammifères. Elles présentent diverses formes cliniques (tégumentaires et viscérales). Le cycle hétéroxène des *Leishmania* fait en outre intervenir un hôte invertébré (diptères de la famille des Phlebotomidae appelés phlébotomes). La maladie présente un caractère cosmopolite, Différents facteurs, liés tant à l'activité humaine qu'aux changements climatiques, influent sur sa distribution géographique et expliquent qu'elle soit considérée comme une maladie réémergente. Le chien, qui présente simultanément les signes cutanés et viscéraux, constitue le principal réservoir de certaines espèces de *Leishmania*. Les signes les plus fréquents sont les affections cutanées (dermatite exfoliative, ulcères, alopecie péri-orbitale et onychogribose). Les signes oculaires (kérato-conjonctivite et uvéite) ainsi que les lymphoadénopathies sont fréquents. Le diagnostic clinique reste difficile à établir en raison de la grande diversité des manifestations cliniques apparaissant dans les formes symptomatiques. Il doit être confirmé par des méthodes parasitologiques, sérologiques et faisant appel à la biologie moléculaire. Différentes stratégies de prophylaxie ont été mises en oeuvre, parmi lesquelles le traitement des animaux infectés. Toutefois, les rechutes sont fréquentes et il existe un risque de voir se développer une résistance aux médicaments.

Problématique et objectif de l'étude :

Le chien leishmanien représente un danger pour la population humaine car il est le réservoir principal de cette maladie et en raison du fait que son traitement est long et décevant, le dépistage des chiens symptomatiques et asymptomatiques est très essentiel. L'un des moyens le plus utilisé dans le diagnostic est la coloration au Giemsa.

Face à cette problématique le but principal de cette étude est de :

- Démontrer l'importance du diagnostic de laboratoire dans la confirmation de leishmaniose canine ainsi que le rôle du chien dans la transmission de la pathologie à l'être humain vu qu'il représente un réservoir pour cette parasitose.

Notre étude concerne une enquête sur la prévalence de la leishmaniose dans la wilaya de Tiaret et nous allons présenter les différents moyens et méthodes que nous avons utilisés pour réaliser notre étude séro-épidémiologique de la leishmaniose canine, sur un effectif de 185 chiens.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES LEISHMANIOSES.**1. Définition:**

Les leishmanioses sont des maladies parasitaires résultant de la présence dans l'organisme (sang) d'un protozoaire flagellé parasite qui nécessite deux hôtes pour effectuer son cycle de développement : un hôte vertébré (homme, chien, rongeur) dans lequel il acquiert sa forme "amastigote" (sans flagelle) ou leishmania, et un hôte invertébré, la plus souvent un diptère du genre Phlébotome où il prend sa forme "promastigote" (avec flagelle) ou leptomonas. Cet insecte Phlébotome est nocturne et crépusculaire, ressemble à un moustique, mais sa taille n'excède pas 2 mm. On le trouve l'été dans les zones tempérées de mai à octobre, toute l'année dans les zones tropicales. C'est un Diptère (il a 2 ailes), Nématocère, Psychodidé et seule la femelle est hématophage. Les leishmanies sont hébergées par des chiens, des rongeurs, et sont transmises à l'homme par les piqûres de phlébotomes qui prélèvent les parasites sur ces animaux. Les formes de Leishmania sont nombreuses (cutanée, cutanéomuqueuse, infantile, viscérale) et induisent des pathologies différentes. Environ 17 espèces du genre Leishmania sévissent dans 88 pays répartis sur les cinq continents.

Les statistiques de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) frappent : 500 000 nouveaux cas et 80 000 décès chaque année. Il y aurait présentement 12 millions de personnes atteintes des trois formes de leishmanioses. La forme bénigne cause des lésions cutanées permanentes. La forme intermédiaire, qui attaque la peau et les muqueuses, défigure les malades à vie. La forme viscérale, si elle n'est pas traitée, cause la mort à tout coup. La maladie frappe là où vivent les mouches des sables, ce qui signifie que 350 millions de personnes pourraient l'attraper.

2. Historique:

Parmi toutes les parasitoses, les leishmanioses sont une des premières décrites au moins dans leur forme cutanées, comme en témoigne le nom sanscrit de Kala-azar (fièvre noire) qui désigne la leishmaniose viscérale indienne. En effet, la constatation des lésions cutanées bien évidente remonte à la plus haute Antiquité aussi bien dans l'ancien que dans le nouveau monde (Fig.01), alors que l'individualisation des formes viscérales et la mise en évidence des

agents pathogènes n'ont pu se faire qu'au -avec des parasites, vecteurs, et réservoirs, a interpellé de nombreux observateurs, ce qui explique la fréquence des descriptions de cette parasitose.

Ainsi, les leishmanioses tégumentaires de l'ancien monde, sont des affections dermatologiques connues depuis très longtemps.

En effet, une tablette d'argile du palais de Ninive (700-600 av. J.-C.) transcription d'un écrit akkadien du deuxième ou troisième millénaire, étudiée par Boissier dès 1894 évoque une ulcération indolore de la face.

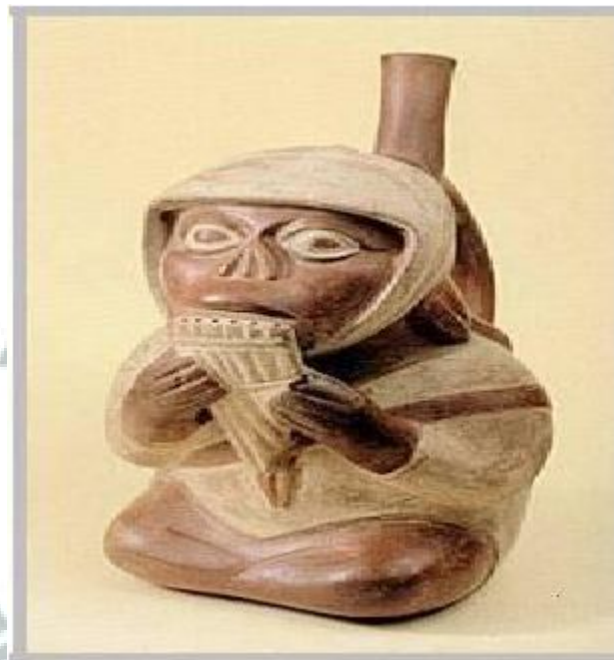


FIGURE N° 01: Statuette découverte au Pérou (époque précolombienne : lésion mutilante du nez caractéristique. (Musée Rietberg Zurich)

Al Boukhari, médecin arabe du Xème décrivit incontestablement cette affection cutanée, et Avicenne (mort en 1034) l'attribuait à une piqûre de moustique.

La première description clinique moderne est celle de McNaught en 1882 et c'est Cunningham en 1885 qui découvrit les parasites dans un prélèvement de « bouton d'Orient ».

En 1898, en Ouzbékistan, le médecin militaire Borovsky mentionna un protozoaire dans des prélèvements d'ulcère, sans en déterminer le statut taxonomique. Ce même parasite fut étudié en 1903 par Wright chez un enfant arménien vivant à Boston, il fut considéré comme une microsporidie et reçut le nom de *Helcosoma tropicum*.

La même année les leishmanies sont également mises en évidence par Marchand dans la rate d'un sujet mort de kala-azar. La première culture fut obtenue par Nicolle & Sicre en 1908, ils comparèrent les organismes de la peau avec ceux de la rate découverts en 1903, et Conclurent : « La presque identité au point de vue morphologique du parasite de Leishman-Donovan est de celui de Wright n'est pas contestable. »

La même année, Nicolle et Comte découvrent les mêmes protozoaires chez le chien, puis chez le cheval et le chat. Ils font ainsi de cette affection une maladie commune à l'homme et aux autres mammifères et ouvrent la voie aux recherches épidémiologiques.

En 1921, les frères Sergent et leurs collaborateurs établissent le rôle de vecteurs des phlébotomes en réussissant la transmission du « bouton d'Orient » par application de broyats de ces insectes sur des scarifications cutanées. Mais la transmission par la piqûre ne fut prouvée qu'en 1941 par Adler et Ber. Knowles, en 1924, l'établit pour le kala-azar, Parrot et Donatien le fait pour la leishmaniose canine en 1930.

De plus, l'école soviétique, avec Latyshev et Kriukova, attire l'attention sur le rôle des rongeurs en tant que réservoirs de virus sauvages des leishmanioses. Tous ces travaux, et les découvertes qui ont suivies permettent de se faire une idée de ce qu'est le cycle épidémiologique de ces protozooses transmissibles.

3. Principales types de leishmaniose:

Il existe trois espèces de leishmanies, correspondant à trois maladies distinctes. Le parasite se développe surtout au sein du « système réticulo-endothélial », un ensemble de cellules réparties dans tout le corps et dont la fonction est d'épurer l'organisme des particules étrangères (microbes, déchets d'autres cellules). Ces cellules sont des macrophages ou des cellules voisines. Les principales atteintes seront celles de la peau, des muqueuses ou de la rate, du foie et des ganglions.

Les parasites sont transmis par un petit insecte, le phlébotome, et colonisent les macrophages du patient où ils se multiplient. Chiens, renards et rongeurs sont contaminés au même titre que l'homme et favorisent la dissémination.

Ont distingue :

- ❖ *Leishmania donovani* est l'agent du Kala-Azar ou leishmaniose viscérale.
- ❖ *Leishmania brasiliensis* provoque la leishmaniose cutanéomuqueuse du Nouveau Monde.
- ❖ *Leishmania tropica* est responsable de la leishmaniose cutanée de l'Ancien Monde, ou bouton d'Orient (Encyclopédie Médicale Pratique, 1997).

3.1 La leishmaniose viscérale:

Dans cette forme de leishmaniose, le responsable, transmis par piqûre d'un insecte du genre Phlébotome, est un parasite protozoaire flagellé : *Leishmania donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*. Les pays concernés sont l'Inde, le Népal, la Chine de l'Ouest, le Moyen Orient, le Soudan, l'Éthiopie, le Kenya, l'Afrique de l'Est, le Centre de l'Asie, le pourtour méditerranéen, l'Amérique du Sud.

Synonymes de la leishmaniose viscérale : kala azar indien, leishmaniose infantile, fièvre d'Assam, fièvre noire, fièvre doum-doum, maladie de Sahib.

Quelques semaines à plusieurs mois après la piqûre du Phlébotome et à partir du point d'inoculation, le parasite gagne les ganglions lymphatiques qui peuvent s'hypertrophier et devenir douloureux. Le malade devient pâle, se fatigue très vite. Autres symptômes : essoufflement, amaigrissement et fièvre irrégulière avec des pics pouvant atteindre 40 à 41°C, hypertrophie du foie et de la rate (hépatomégalie et splénomégalie), diarrhées et, en fin d'évolution, apparition de taches cutanées sombres. Les éléments figurés du sang (globules rouges ou hématies, globules blancs ou leucocytes, plaquettes ou thrombocytes) voient leur nombre diminuer sévèrement. Les médicaments sont les mêmes que pour les autres formes de leishmaniose : antimoniate de méglumine (® Glucantime), Lomidine et amphotéricine B. Actuellement, la Lomidine relativement toxique est remplacée par l'iséthionate de Pentamidine (® Pentacarinat).

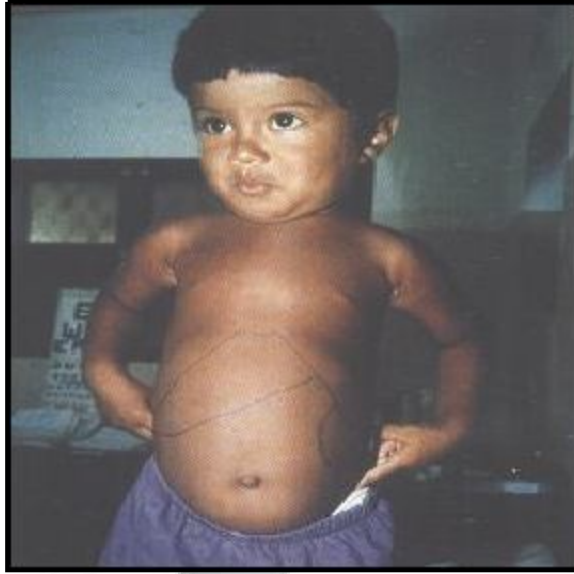


PHOTO N° 1 : Un enfant atteint d'une leishmaniose viscérale (hépatosplénomégalie et pâleur) (Davidson, 1999).

3.2 La leishmaniose cutanée:

Comme pour les autres leishmanioses, le responsable est un parasite protozoaire flagellé du genre *Leishmania*. Les synonymes de la leishmaniose cutanée sont très nombreux selon les régions : bouton d'Alep, bouton de Baghdad, bouton de Biskra ou clou de Biskra, fièvre noire, bouton de Bouchir, bouton de Bouma, chancre du Sahara, bouton de Delhi, bouton du Nil, bouton d'Orient, entre autres. La forme cutanée sévit essentiellement sur le pourtour méditerranéen, le Maghreb, le Moyen Orient, l'Asie Centrale, l'Afrique de l'Est l'Amérique centrale et le bassin amazonien, les Guyanes et l'Inde. Parmi les différentes souches responsables, citons *Leishmania tropica*, *L. major*, *L. aethiopica*, *L. mexicana*, *L. guyanensis* et *L. donovani*.

Au point d'inoculation (piqûre par un phlébotome) apparaît d'abord une ou plusieurs papules indurées indolores, qui se transforment progressivement en une ou plusieurs lésions arrondies mesurant de 1 à 10 cm de diamètre. Ces lésions s'ulcèrent ensuite puis se recouvrent d'une croûte. Les bords sont enflammés, très riches en parasites. Une forme particulière, dite "Ulcère des chicleros" atteint spécifiquement le cartilage de l'oreille. La guérison nécessite plusieurs mois et laisse une cicatrice indélébile, fréquemment hyperpigmentée.

Le traitement repose sur l'antimoniote de méglumine (® Glucantime), la Lomidine et l'amphotéricine B. Actuellement, la Lomidine relativement toxique est remplacée par l'iséthionate de Pentamidine (® Pentacarinat). La cryothérapie peut aussi être utilisée avec beaucoup de précautions, pour limiter les cicatrices indélébiles.



PHOTO N°2 : Enfant présentant une lésion de la leishmaniose cutanée du Nord de l'Algérie. (Belazzoug, 1985)

3.3 La leishmaniose cutanéomuqueuse:

Dans cette forme de leishmaniose, le responsable, transmis par piqûre d'un insecte du genre Phlébotome, est un parasite protozoaire flagellé : *Leishmania braziliensis* (ou *brasiliensis*). Dans la leishmaniose cutanéomuqueuse (ou cutanéomuqueuse), ce sont essentiellement les muqueuses et la peau du visage qui sont atteintes. Comme pour la leishmaniose cutanée, les synonymes sont nombreux : bouton de Bahia, espundia, leishmaniose forestière sud-américaine, pian-bois, ulcère des gommiers, des chicleros, entre autres. Les pays les plus concernés sont ceux de l'Amérique Centrale et du Sud. Après une phase cutanée primitive silencieuse, une ou plusieurs lésions apparaissent à la face ou aux membres à partir du point d'inoculation. Ces lésions s'ulcèrent puis guérissent spontanément en laissant des cicatrices indélébiles. Dans de nombreux cas cependant, les lésions sont envahissantes, perforent les cloisons et entraînent des mutilations parfois importantes et très invalidantes. La guérison n'est pas spontanée et les risques de surinfection sont importants. Le traitement repose sur les mêmes produits que ceux utilisés pour la forme cutanée. Parfois, les médecins les injectent directement dans les lésions, pour réduire les séquelles et les cicatrices.

4. Base de la distinction en espèces:

Les parasites du genre leishmania présentent deux formes au cours de leur cycle évolutif:

Chez l'hôte vertébré, une forme amastigote, arrondie, possédant un noyau, un kinétoplaste et une ébauche de flagelle qui ne sort pas de la cellule;

Dans le tube digestif de l'insecte, une forme promastigote, allongée, possédant un noyau central, un kinétoplaste situé dans la partie antérieure du parasite et un flagelle libre, sans membrane ondulante.

Les caractères morphologiques très uniformes des espèces appartenant au genre leishmania ne permettent pas de les distinguer les uns aux autres.

Pourtant, les comportements de se parasite au cour de sa multiplication chez l'homme et l'animal sont très variés.

Ces variations portent essentiellement sur trois points:

- ❖ L'extériorisation clinique.
- ❖ la distribution géographique.
- ❖ La liste des animaux réceptifs dans la nature (réservoir animal)

Depuis quelques années, les laboratoires ont développé des techniques de comparaison des iso-enzymes métaboliques, d'étude de l'ADN ainsi que la description plus précise du comportement chez le vecteur. Ceci procure une base plus objective à la taxonomie et permet de regrouper les isolats faits à partir de l'homme ou d'animaux dans n'importe quelle région géographique, en deux sous-genres (*leishmania* et *viannia*) et six complexes d'espèces (*Leishmania donovani*, *tropica*, *major*, *aethiopica*, *mexicana*, *L. (V) braziliensis*

5. ETUDE CLINIQUE DE LA LEISHMANIOSE CANINE :

Maladie à évolution lente et chronique chez le chien se caractérise par une apparition progressive de plusieurs symptômes, essentiellement débutant par un amaigrissement progressif avec conservation de l'appétit.

5.1. Symptômes :

5.1.1 Symptômes généraux:

Le chien malade présente un amaigrissement marqué d'installation progressive, bien que l'appétit soit conservé et même augmenté, responsable d'un état d'asthénie et de faiblesse.

Cet amaigrissement se caractérise par une amyotrophie qui est particulièrement marquée au niveau de la face et des muscles.



PHOTO N° 03 : Amaigrissement marqué.

5.1.2 Symptômes cutanéomuqueux:

- Hyperkératose
- Dépigmentation et dépilation, classiquement périorbitaire (signes de lunettes), mais pouvant également intéresser d'autres régions du corps (bord des oreilles, les flans, arrière-train, queue, points d'appui au niveau des pattes).
- Présence de pellicules due à une desquamation amiantacée particulièrement évidente lorsque l'on caresse le chien avec dermite furfuracée.
- Des ulcérations sont également fréquentes, au niveau du crâne, du bord des oreilles, des points d'appui des coussinets plantaires et de la truffe.
- L'Onychogryphose est un signe très fréquemment retrouvé.
- Des ulcérations des muqueuses nasales, associées à la thrombopénie, sont responsables d'épistaxis.
- Les lésions de l'œil affectant les paupières (granulome), la conjonctive (hyperhémie et conjonctivite), la cornée (kératite), uvéite.

wondershare™



PHOTO N° 4 : furfur



PHOTO N° 5 : Chancre d'inoculation

5.1.3. Symptômes viscéraux et biologiques:

- Au niveau des organes profonds, hépato-splénomégalie et adénopathies (généralisées) sont fréquentes.
- Les ulcérations intestinales sont fréquentes avec atteinte des plaques de Payer généralement.
- Les signes de l'anémie (pâleur des muqueuses, cyanose).
- L'hypergammaglobulinémie liée à l'activation poly clonal entraîne une inversion du rapport albumine / globuline.

Selon ces lésions diverses la leishmaniose canine a trois formes cliniques:

- ❖ La forme Viscérale a dominance des lésions viscérales organiques.
- ❖ La forme cutanée.
- ❖ La forme cutanée muqueuse.

Remarque : Il est important de souligner que dans la majorité des cas le chien développe une leishmaniose sous une forme mixte ou on retrouve une forme cutanée ou cutanéomuqueuse associée a une forme viscérale. (Encyclopédie Médicale Pratique, 1997).

6 Répartition géographique et importance:

Les différents types de Leishmanioses sont retrouvés dans les régions tropicales et subtropicales du globe (Fig.02).

On distingue deux grandes situations géographiques, l'Ancien Monde (Sud de l'Europe, Afrique, Proche-Orient et Asie) et le Nouveau Monde (Amérique du Nord, du Sud et Centrale).

Les différentes manifestations cliniques sont observées dans les deux mondes mais elles ne sont pas causées par les mêmes espèces de Leishmania, propagés par différents genres et espèces de phlébotomes selon la région. Par contre, le sous-genre Viannia ne se retrouve qu'en Amérique. (Audbert F 2003).

Les pays les plus durement touchés par la leishmaniose viscérale sont le Bangladesh, le Brésil, l'Inde, le Népal et le Soudan : on y retrouve 90 % des nouveaux cas annuels.

Quant à la leishmaniose cutanée 90 % des nouveaux cas se situent en Afghanistan, au Brésil, en Iran, au Pérou, en Arabie saoudite et en Syrie. (Audbert F. 2003).

On estimait à 12 millions le nombre de personnes infectées par les différentes espèces de Leishmania en 2000 avec une incidence annuelle mondiale d'environ 600 000 cas déclarés (on estime qu'ils seraient plutôt 1,5 à 2 millions, dont seulement 500 000 cas de leishmanioses viscérales) dans 88 pays. (Audbert F 2003).

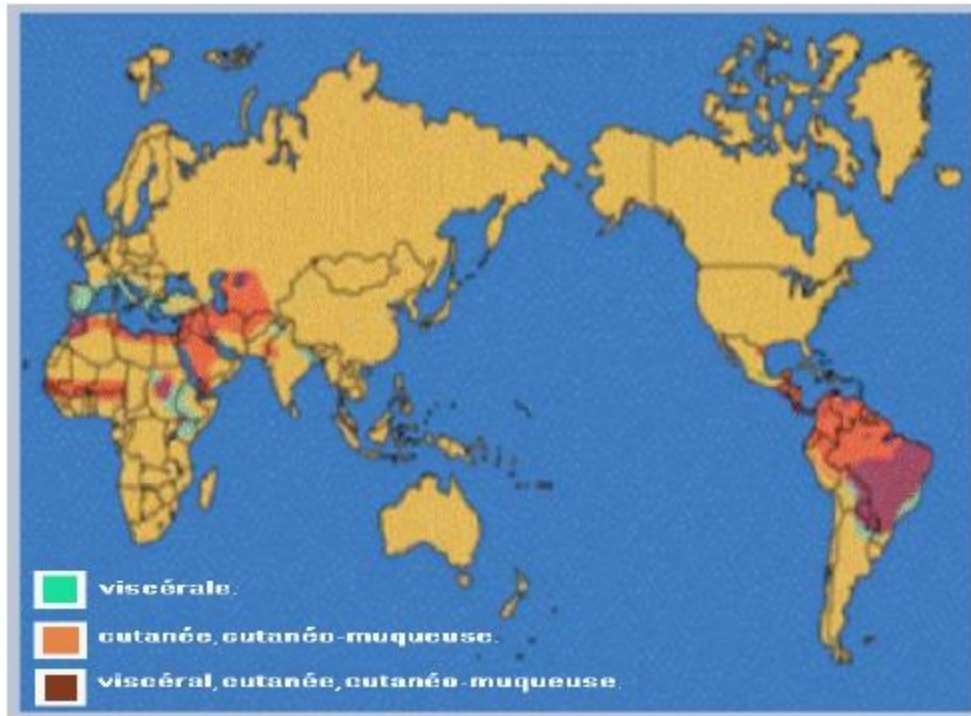


FIGURE N° 02: Répartition mondiale des zones d'endémies des leishmanioses cutanées, mucocutanées et viscérales. (Handman, 2001).

Pour le bassin méditerranéen Dans le cas des leishmanioses cutanées, la présence de *Leishmania infantum*, est révélée par des cas de leishmanioses canines et de plus rares cas de leishmanioses viscérales humaines.

En ce qui concerne le cas des leishmanioses viscérales, le pourtour méditerranéen est également touché essentiellement au sein d'écosystèmes zoonotiques plus ou moins stables dominés par les mammifères sauvages et/ou péri domestiques . (Murray, 1999).

Cette situation a d'autant plus d'importance que les co-infections *Leishmania*-VIH sont fréquentes dans plusieurs régions surtout dans le bassin méditerranéen (Espagne, Italie, France et Portugal) et au Brésil, mais aussi de plus en plus en Afrique. Chez ces patients immunodéprimés ou ayant le SIDA, les leishmanioses sont bien moins contrôlées et la leishmaniose viscérale, de son côté, accélère le Développement du SIDA et diminue l'espérance de vie des patients. (Murray, 1999).

CHAPITRE II : ETUDE DU PARASITE.1. ETIOLOGIE:1.1 Classification :

Sous-régne:	Protozoa	Coldfuss, 1817.
Phylum:	Sarcomastigopora	Honigberg ET Balamth, 1963.
Sous-phylum:	Mastigophora	Diesing, 1865.
Classe:	Zomastigopora	Calkins, 1909.
Ordre:	Promastigida, (syn.kinitoplastida)	Honigberg, 1963.
Famille:	Trypanosomatidae	Doflein, 1901.
Genre:	Leishmania	Ross, 1903.

Remarque: Le genre *Leishmania* comprend deux sous-genres:

- le sous genre *Leishmania* Ross, 1903.
- le sous genres *Viannia* (Lainson et Shaw, 1987).

Sous genre leishmania:

a) Leishmaniose du l'ancien monde transmis par phlebotomus.

- 1 *L.donovani* : complexe de 13 zymodèmes.....Laveran et Mesnil, 1903.
L.archibaldi.....Castellani et Chalmers, 1919.
- 2 *L.infantum* : complexe de 18 zymodèmes.....Nicolle, 1908.
L.chagasi :.....Cunha et Chagas, 1937.
- 3 *L.tropica* : complexe de 28 zymodeme.....Wright, 1903.
L.killicki.....Rioux,Lamotte et Protlong,1986.
- 4 *L.major* : complexe de 12 zymodezYakimoff et Schokhor, 1914.
- 5 *L.aethiopica* : complexe de 3 zymodeme.....Ashford et Bray, 1973.

b) Leishmania du nouveau monde transmis par lutzomyia:

- 6 *L. mexicana* : complexe de 3 zymodème. Biagi, 1953.
L. amazonensis.....Lainson et Shaw, 1972.
L. venezuelensis.....Bonfante-Garrido 1980.

Espèce non encore classée:

- L. vénézuélensis*.....Bonfante-Garrido 1980.

Sous genre Viania Lainson et Show, 1987.

- 7 *L. braziliensis*: complexe de 2 zymodème.
L. braziliensis.....Viania, 1911.
L. peruviana.....Velez, 1913.
- 8 *L. guyanensis*.....Floch, 1954.
L. panamensis.....Lainson et Shaw, 1972.
L. showi.....Lainson et al, 1989.

9. complexe *L. lainson*

10. complexe *L. naiffi*.

- L. naiffi*.....Lainson et Shaw, 1989.

11. Espèces non classées

- L. clombiensis*.....Krentzer et al, 1992.

- L. eauqtorensis*..... Grimaldi et al, 1992.

(Nozaisetal 1996).

1.2 Espèces animales réceptives:

On distingue les leishmanioses anthroponosiques, causées par des parasites infectants pour l'homme uniquement et les leishmanioses zoonosiques dont les parasites sont infectants pour l'homme et certains animaux. (Michel G 1995).

Combinaison de caractères:

La classification épidémiologique suivante provient de l'amalgame des caractères "hôtes" et " localisation chez l'homme " :

Abréviation Caractères

A **Anthroponosique.**

C **Cutanée.**

L **Leishmaniose.**

V **Viscéral.**

Z **Zoonosique.**

LVA.....*L.donovani.*

LVZ.....*L.infantum et chagasi.*

LCA.....*L.tropica.*

LCZ.....*L.major,*
L.aethiopica,
L.mexicana,
L.pifanoi,
L.amazonensis,
L.braziliensis,
L.peruviana,
L.guyanensis.

1.3 Hôtes des leishmanies:

1.3.1 Hôtes vertébrés:

Les hôtes réservoirs principaux sont: Le chien, le rat des champs, et autres canidés sauvages (chacal, loup, renard).

1.3.2 Hôtes invertébrés:

Le vecteur des leishmanioses est le phlébotome (moustique), décrit comme un petit moucheron bossu (la tête, le thorax, et l'abdomen font en effet un angle donnant l'aspect d'un insecte faisant le gros dos). Seul la femelle est hématophage et joue le rôle d'un vecteur. Son activité est maximale la nuit, à la tombée du jour.

Le phlébotome est un petit insecte de 2 à 5 mm de long, constitué au sein de la famille des psychodidae la sous-famille des phlebotominae qui comporte environ 700 espèces actuellement décrites. Au corps et aux ailes très velus. Son vol est silencieux. Il vit principalement dans les régions de collines entre 100 et 500 m d'altitude. Dans la journée, il reste à l'abri dans des fissures de mur, Des terriers de rongeurs, le plus souvent à proximité d'une zone humide (source, ruisseau, puits, fontaine...etc.) il s'active dès le crépuscule et pratiquement toute la nuit très attiré par la lumière artificielle diffuse, il pénètre dans la maison et surtout les dépendances (cave, appentis, garage, chenil) où règne une certaine humidité. La femelle elle seule pique. (fig.04) (Michel G 1995).



FIGURE N° 03 : Vecteur de leishmaniose "petit moucheron bossu" aux ailes poilues, pendant son repas. (Michel G 1995).

Les vecteurs piquent dans les habitations (endophage) ou en dehors (exo phage).selon les régions ils piquent de préférence l'homme (anthropophile) ou les animaux (zoophile).

Deux genres appartenant à la famille des phlébotominae sont les principaux vecteurs. Ce sont, pour l'ancien monde, le genre phlebotomus et, pour le nouveau monde, les genres lutzomyia et Psychodopygus.

Ils cherchent, pour se nourrir, un animal à sang chaud. On ne sait pour quelle raison, mais elle est très fortement attirée par le chien qu'elle pique plusieurs fois au niveau du museau et de la face interne de l'oreille .le sang ainsi absorbe lui permet d'effectuée son développement et de pondre. (Leger N ; 1999).

1.3.3 Classification des phlébotomes:

Il existe plus de 600 espèces de phlébotomes, parmi elles 70 sont vecteurs de maladies humaines.

Embranchement : -----Arthropodes.

Sous embranchement:-----Mandibulates.

Classe:-----Insectes.

Sous classe:-----Ptérigotes.

Ordre:-----Diptères.

Sous ordre:-----Nematocers.

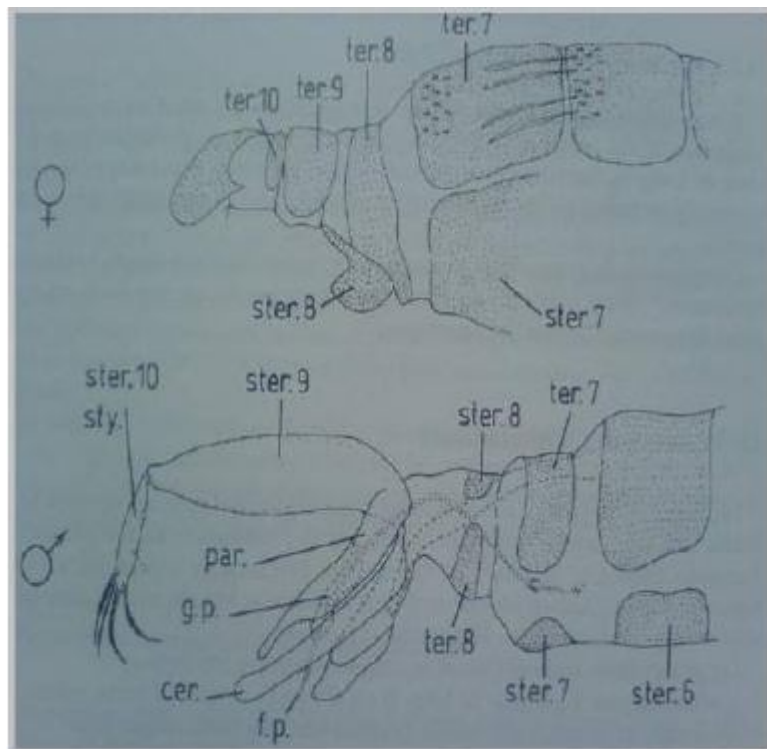
Famille:-----Psycodidae.

Sous famille:-----Phlebotominae.

Genre:-----Phlébotomus.

1.3.4. Distinction entre mâle et femelle :

La distinction du sexe est faite à partir de la précision de l'extrémité abdominale de l'insecte adulte. (fig.07)



cer: cerque, **fp:** filament pénien, **gp:** gaine du pénis, **par:** paramère,

Stern: sternite, **ter:** tergite, **sty:** style, **ster 9:** sternite ou coxite.

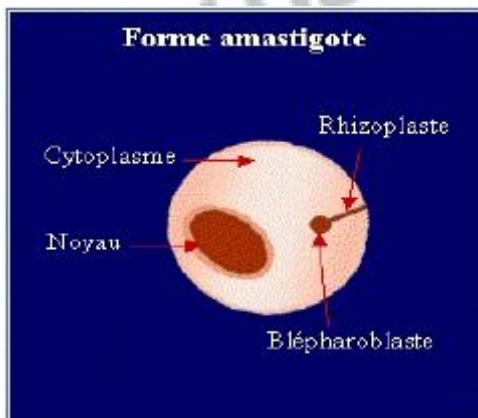
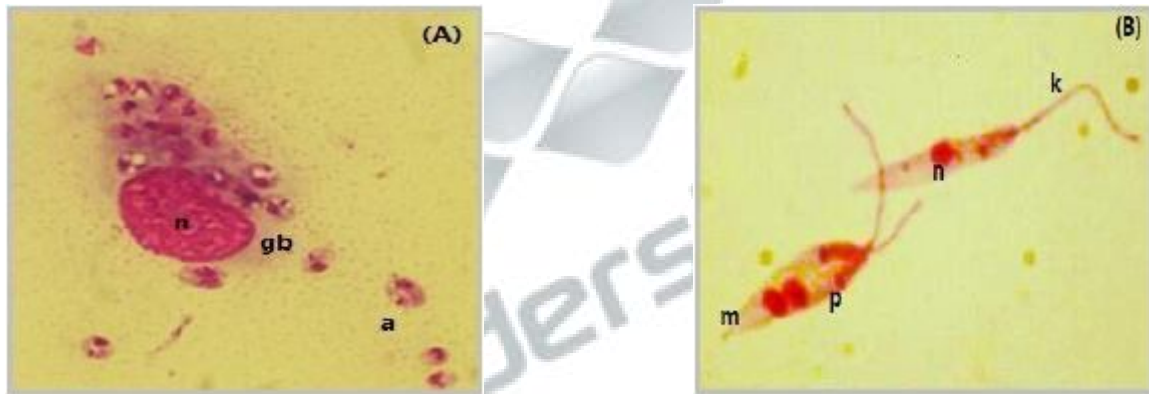
FIGURE N° 04: Extrémités du mâle et de la femelle.

1.4 Le protozoaire :

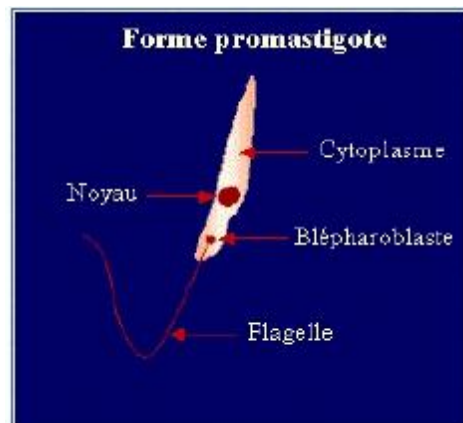
1.4.1 Cycle évolutif du parasite et caractères biologiques:

Les leishmanias sont des protozoaires parasites dont l'origine est très ancienne, elles se présentent à leurs hôtes successifs sous deux stades morphologiques principaux:

Les promastigotes et les amastigotes (fig.08) Ceux là sont des parasites extracellulaires mobiles vivant dans le tube digestif de diptères hématophages piqueurs, connus sous le terme générique de phlébotomes. Ils présentent un corps plus ou moins fuselé de longueur et de 1 à 4µm de largeur prolongé par un flagelle qui peut atteindre jusqu'à 20µm de longueur et qui émerge de leur pôle Antérieur. (Antoine J.C; 1999).



A. forme amastigote.



B. forme promastigote.

a. amastigote. gb. Globule blanc. (Monocyte) k. kinétoplaste m. membrane cellulaire. n. noyau. p.promastigote.

FIGURE N° 05: les deux formes de parasite. (Christian R 1999)

Dans ces formes parasitaires, le kinétoplaste, une position spécialisée du compartiment mitochondrial qui contiens l'ADN de cet organisme. Est situé entre le noyau et la base de flagelle. Quand aux amastigotes, ils nichent à l'intérieur de macrophages de mammifères, au sein de vacuoles dites parasitophores (VP).

À ce stade, les leishmania présentent un corps beaucoup plus ramassé d'environ 4µm de long et 2µm de large.

Contrairement à ce que leur nom pourrait conduire à penser, les amastigotes sont également munis d'un flagelle mais celui-ci est très court et ne dépasse pas le corps cellulaire.

Le kinétoplaste de ces formes est le plus souvent juxtaposé. Il est identifié principalement au niveau du pharynx et aussi au niveau de l'intestin postérieur et rarement dans l'intestin médian des phlébotomes infectés.

Ces stades sont ramassés (5 à 6µm de long sur 2 à 6µm de large), munis d'un flagelle court et montrent un kinétoplaste juxtaposé nucléaire la position de son morphotype dans le cycle biologique des leishmania n'est pas claire.

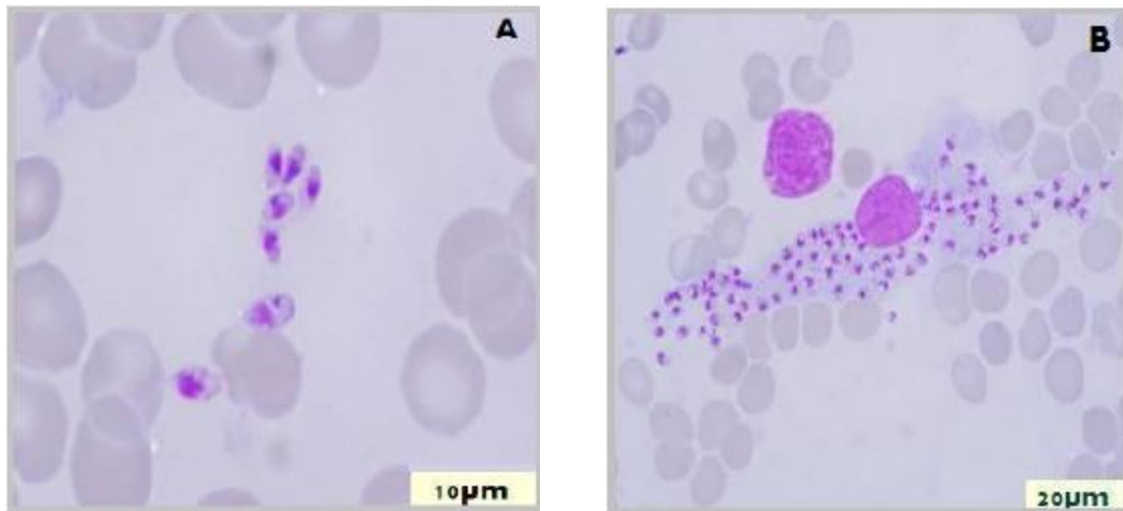
Les paramastigotes n'ont pas été clairement identifiés dans les cultures *in vitro* de leishmania, culture qui essaient de reproduire quelques unes des conditions rencontrées dans le tube digestif des diptères (température, présence de sang, d'hémoglobine ou de produits de dégradation de l'hémoglobine) et aboutissent à la génération de promastigotes dites métacycliques très infectieux pour les mammifères). (Antoine J.C, et al 1999).

a) Chez l'Hôte vertébré:

Le parasite (injecté par l'insecte) se retrouve dans les macrophages, histiocytes, monocytes de différents organes où il se multiplie sous forme amastigote.

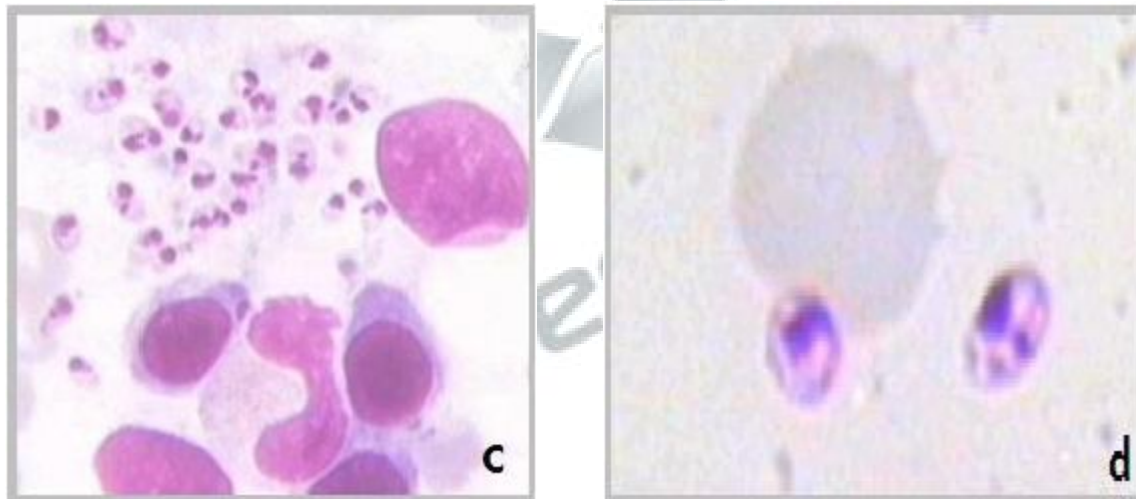
La destruction de la cellule hôte provoque la dissémination dans le sang et la lymphe des parasites qui seront phagocytés par de nouvelles cellules réticulo-endothéliales (fig.09).

(Christian R A 1999).



a. Amastigotes libres en frottis

b. Amastigotes dans un macrophage et éparpillés dans la préparation.



c. Macrophage parasité montrant les éléments constitutifs des amastigotes

d. forme amastigote

FIGURE N° 06: la forme amastigote dans des différents stades (observation microscopique).

(Michel G,1995).

La prolifération des parasites viscérotropes cause une hyperplasie du SRE et celle des parasites dermatropes cause l'apparition d'un histiocytome cutané. C'est lorsqu'ils se trouvent dans le sang et le derme que les parasites sont repris par l'hôte invertébré, le phlébotome.

b) Chez l'Hôte invertébré:

Les parasites sont entraînés avec le repas sanguin jusque dans la partie postérieure de l'estomac de l'insecte ou ils se transforment en promastigotes.

Des le premier jour, on les retrouve dans l'intestin moyen jusqu'au pylore chez le sous-genre *leishmania* et occupant déjà la totalité du tube digestif (y compris l'intestin postérieur) chez le sous-genre *Viannia*.

A partir du 2^{ème} jour, les parasites ayant résisté aux enzymes digestifs de l'insecte entament une migration vers la partie antérieure. On les retrouve alors dans la partie moyenne de l'estomac. (Michel G 1995).

Du troisième au cinquième jour, la multiplication sous forme promastigote très rapide dans la partie antérieure de l'estomac et dans le pro ventricule aboutit au stade de "rosette" amas de parasites restés accolés après la division (fig. 10).

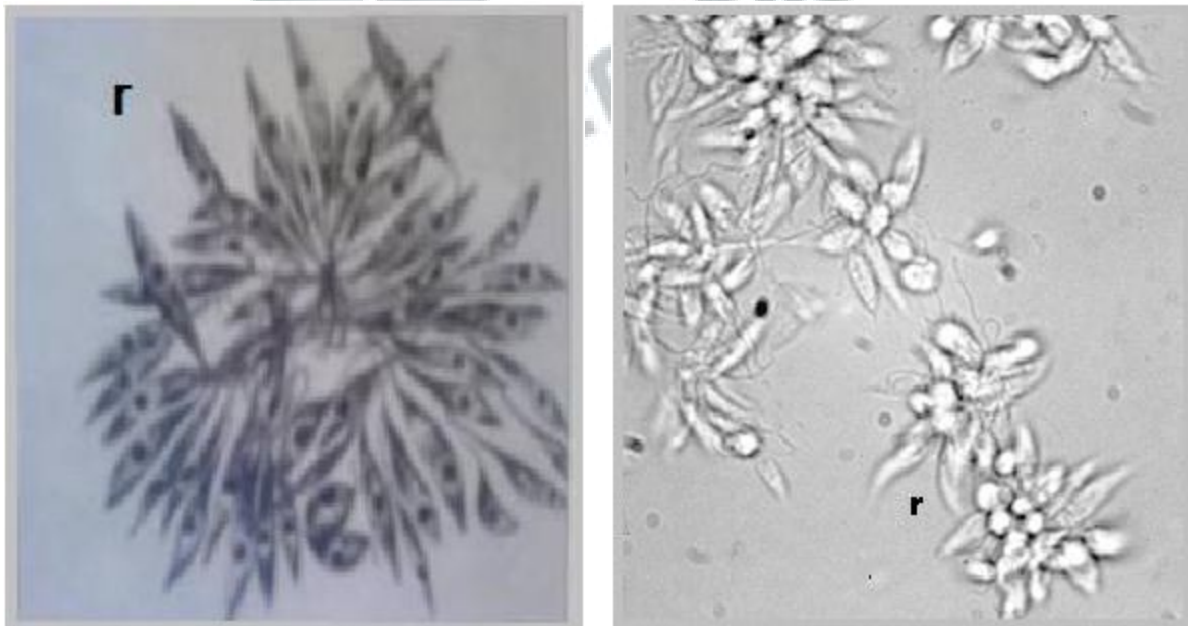


FIGURE N° 07: Un amas de parasites "rosette".

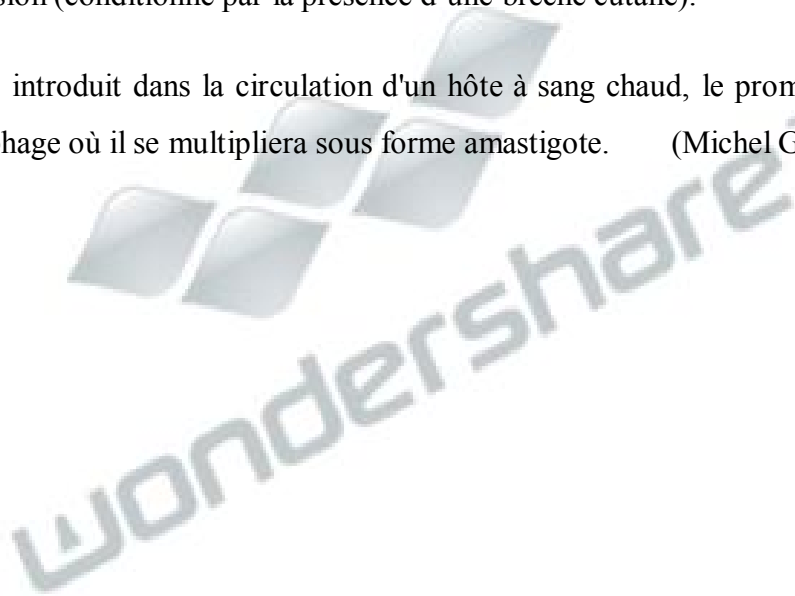
Il faut attendre le neuvième et dixième jour après le repas infectant pour voir apparaître, en grand nombre, des formes promastigotes dans le pharynx et le pro ventricule que communique avec la trompe.

Ces amas de parasite bloquent l'intestin antérieur de l'insecte, obligent celui ci à produire des efforts de pompage lors du repas sanguin.

Ces efforts favorisent l'injection des parasites à l'hôte vertébré par un mécanisme de régurgitation.

L'écrasement sur la peau d'un insecte porteur de promastigote peut aussi être à l'origine de la transmission (conditionné par la présence d'une brèche cutané).

Une fois introduit dans la circulation d'un hôte à sang chaud, le promastigote est repris par un macrophage où il se multipliera sous forme amastigote. (Michel G 1995).



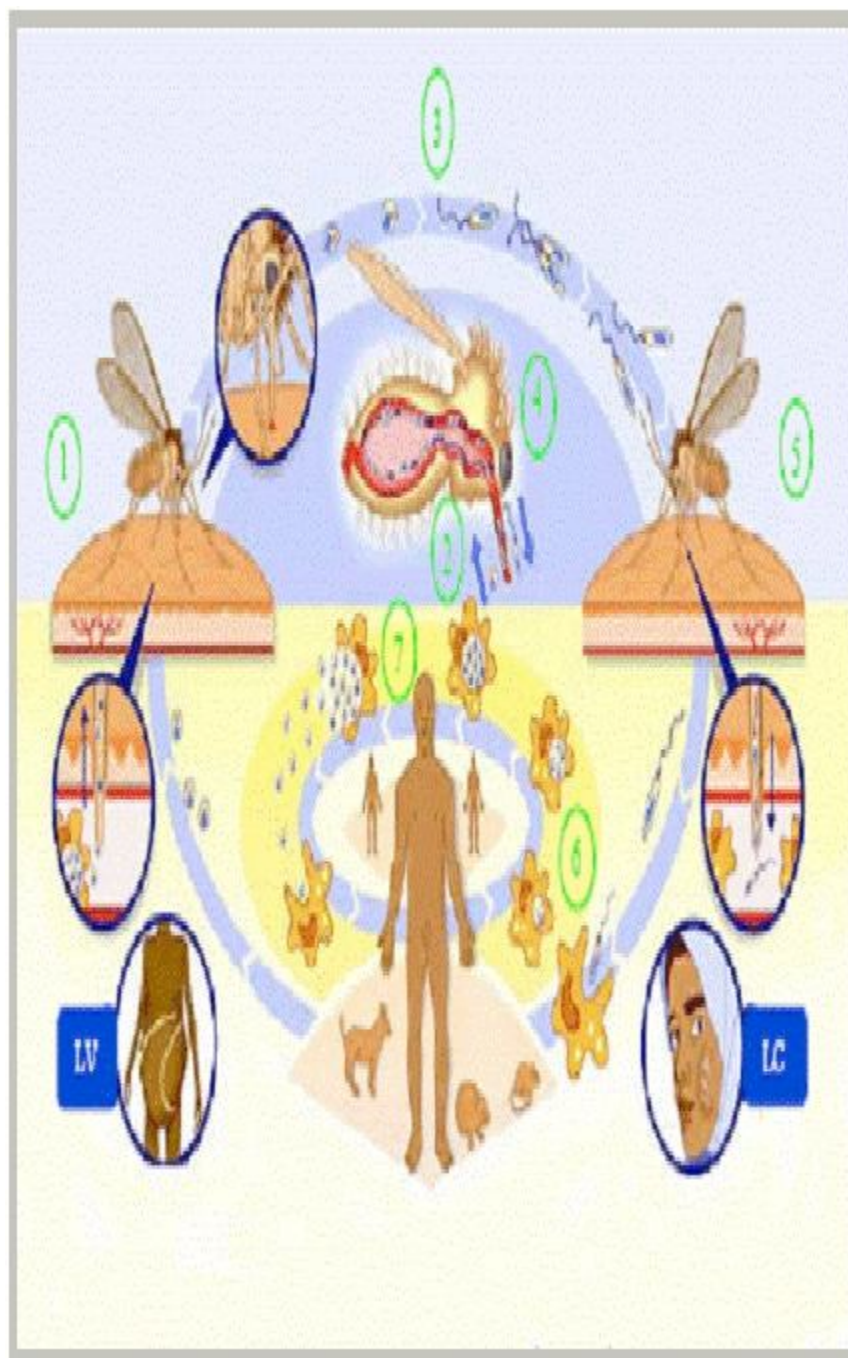


FIGURE N° 08: Schéma du cycle de vie de leishmania.

1.5. Biologie du parasite:

a) Chez l'invertébré:

Les promastigotes de l'estomac sont non infectants pour l'hôte vertébré. Ils acquièrent la capacité d'infection au cours de leur maturation chez l'insecte.

Lorsqu'ils arrivent dans les pièces buccales et la salive, ils ont synthétisé, sur leur membrane externe, des récepteurs qui facilitent leur phagocytose par le macrophage:

Les lipo-phosphoglycane (LPG) et glycoprotéine (gp63) à activité protéinase

Des LPG sont retrouvées à la surface du macrophage qui vient de phagocyter des promastigotes et y restent présentes pendant 2 à 3 jours au stade initial de l'infection.

Ces molécules ont également été tenues pour responsables de la spécificité d'une espèce donnée de *Leishmania* pour son vecteur préféré. Il s'agirait d'une reconnaissance des cellules de l'estomac. (Michel G 1995).

La glycoprotéine gp36, également présente à la surface et différente d'une espèce à l'autre, favoriserait la phagocytose du promastigote par le macrophage, aidant ainsi à l'établissement de l'infection chez l'hôte vertébré. Son rôle ne s'arrête pas là: par son activité protéinase elle inhiberait la libération des radicaux libres supposée détruire les microorganismes phagocytés par les macrophages.

Cette famille de protéines, codées par des gènes répétés, est considérée comme un facteur de virulence, chaque protéine de la famille conférant au parasite qui la porte le caractère de virulence qui le caractérise. (Michel G 1995).

D'autre part, les promastigotes sont résistants à la lyse immunitaire complément-dépendante car ils ne permettent pas à la fraction C9 du complément de se fixer sur leur membrane externe.

L'identification de l'origine des repas sanguins peut être réalisée sur le terrain, à l'aide de tests immuno-enzymatique pratiqués sur bandelettes portant des antisérums dirigés contre le sang d'animaux cible. (Michel G 1995).

D'autre part et à condition d'avoir une présomption de la souche cible, la recherche de l'infection chez les insectes capturés peut se faire par utilisation des anticorps monoclonaux ou des sondes nucléiques auxquelles la technique PCR confère une sensibilité hors du commun. (Michel G 1995).

Ces techniques ont facilité les études sur le pouvoir vectoriel des phlébotomes. (Michel G 1995).

b) Chez l'hôte vertébré:

La phagocytose des amastigotes par les macrophages est également facilitée par la présence à la surface de ce stade parasitaire, des deux protéines signalées chez le promastigote, la LPG et, dans une moindre mesure, la gp63.

Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer la survie des parasites amastigotes à l'intérieur des macrophages ou ils résistent aux mécanismes antimicrobiens oxygéné-dépendants induits par les cytokines.

L'explosion respiratoire n'a pas lieu car:

- ❖ Il y aurait destruction par la protéase leishmanienne gp63, de l'enzyme lysosomal *B*-galactosidase.
- ❖ ce stade parasitaire aurait développé un mécanisme (inconnu) de détoxification des métabolites oxygénés.

Des équilibres très différents existent d'une espèce à l'autre, entre la force de multiplication des parasites et les modalités de la réponse immunitaire des hôtes avec, pour conséquence, une variété considérable d'altérations dégénératives (lésions) résultantes. (Michel G 1995).

CHAPITRE III : DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT.**1. DIAGNOSTIC :****1.1 INTRODUCTION :**

La leishmaniose n'est pas une entité unique, mais elle comprend une variété de syndromes dus essentiellement à 16 espèces et sous espèces de *Leishmania* aux moins. Les chiens sont communément affectés par *L. infantum* et *L. chagasi* (maintenant considérés comme des synonymes), mais des infections avec *L. tropica*, *L. major* et *L. braziliensis* ont été rapportées. Chez l'homme, le spectre clinique s'étend d'infections asymptomatiques à celles avec une mortalité élevée, avec 3 formes distinctes classiquement décrites : viscérale (VL), cutanée (CL) et mucocutanée (MCL). Les vecteurs de ces maladies sont les moustiques phlébotomine appartenant au genre *Phlebotomus* et *Lutzomyia*.

1.2 Identification de l'agent pathogène :

Quand les signes cliniques et les lésions caractéristiques sont présents chez l'homme et l'animal affectés, la démonstration des parasites dans les frottis colorés de rate, moelle osseuse et aspirations des noeuds lymphatiques, dans les raclages de la peau, et dans les biopsies de tissu donne un diagnostic positif. Si l'infection est de faible niveau, la détection des parasites est possible seulement par essai d'isolement in vitro ou in vivo ou par amplification en chaîne par polymérase (PCR). Comme il y a très peu de différences morphologiques parmi les espèces variées, les leishmanias isolées doivent être identifiées par des méthodes moléculaire, biochimique et/ou immunologique. Plusieurs centres à travers le monde utilisent à l'heure actuelle la caractérisation d'isoenzyme, d'ADN, et d'antigène pour identifier l'agent.

1.3 Épreuves sérologiques :

La sérologie est la méthode préférée pour le diagnostic de la leishmaniose canine et de la VL, même pendant les phases précoces de la maladie. Dans les formes subcliniques, les cas séropositifs sont confirmés par un diagnostic parasitologique ou par PCR. La sérologie a moins de valeur pour la CL et la MCL. Des épreuves sérologiques disponibles, la recherche d'anticorps par immunofluorescence indirecte (IFI) et par réaction immuno-enzymatique (ELISA) sont celles qui conviennent le mieux. Les antigènes pour le sérodiagnostic doivent être préparés dans le laboratoire, bien que des produits commerciaux soient maintenant sous évaluation.

1.4 Épreuve d'hypersensibilité retardée :

L'épreuve cutanée à la leishmanine est utile pour déterminer la distribution des infections humaines, distinguer les cas immuns des non-immuns. L'épreuve est positive dans la CL, MCL et VL après guérison, mais est négative dans la VL active.

Spécifications applicables aux vaccins et aux produits biologiques à usage diagnostique :

À l'heure actuelle, il n'y a pas de vaccin efficace disponible pour l'utilisation chez le chien ou l'homme. La leishmanine, non disponible commercialement, a besoin d'être standardisée.

La leishmaniose est provoquée par le vecteur parasite protozoaire, *Leishmania*. Diverses formes de manifestations cliniques de la leishmaniose humaine ont été décrites (WHO, 1990), qui peuvent être groupées en 3 entités : la leishmaniose viscérale (VL, kala azar), la leishmaniose cutanée (CL, sore oriental, uta, pian bois, ulcère chiclero) et la leishmaniose mucocutanée (MCL, espundia). Dans le Nouveau Monde, les leishmanioses sont provoquées par le complexe *L. braziliensis* (MCL et CL), le complexe *L. mexicana* (CL), *L. peruviana* (CL) et *L. chagasi* (VL et CL) ; dans le Vieux Monde, les leishmanioses sont provoquées par *L. donovani* (VL), *L. infantum* (VL et CL),

L. tropica (CL), *L. major* (CL) et *L. aethiopica* (CL). *Leishmania infantum* et *L. chagasi* ont été trouvées identiques par génotypage biochimique et sont considérées comme des synonymes (Mauricio I.L., et al (2000)). Les maladies sont principalement des zoonoses avec quelques exceptions. La leishmaniose canine (CanL) est une maladie chronique viscère-cutanée causée par *L. infantum* (= *L. chagasi*), pour laquelle le chien joue le rôle de réservoir. Dans certains cas, les parasites appartenant au complexe *L. braziliensis*, *L. major* et *L. tropica* ont été isolés à partir de l'hôte. Rioux J.A. (1986). Les vecteurs des leishmanioses sont les moustiques phlébotomine appartenant au genre *Lutzomyia* (Nouveau Monde) et *Phlebotomus* (Vieux Monde).

1.5 TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC

1.5.1. Identification de l'agent pathogène

L'examen clinique des cas suspects, le diagnostic parasitologique et l'immunodiagnostic sont les méthodes de routine disponibles pour le diagnostic de la leishmaniose. Cependant, la démonstration du parasite est la seule voie pour confirmer la maladie d'une manière concluante (Molyneux D.H. et al. (1983)). Dans VL et CanL, l'isolement et l'identification du parasite à partir des biopsies (noeuds lymphatiques, moelle osseuse, et aspiration de la rate) couplés avec des épreuves moléculaire et immunologique sont recommandés.

Le diagnostic parasitologique est nécessaire pour la confirmation de la CL (par grattage des lésions ou aspiration avec une aiguille sur le bord des lésions) car ni l'examen clinique ni la sérologique ne sont suffisants. Les frottis du matériel de biopsie sont colorés avec le Giemsa et examinés au microscope à un grossissement de x 600-1 000. Le matériel doit aussi être cultivé sur milieux appropriés à 22-26°C.

Les caractéristiques morphologiques des amastigotes (chez les hôtes humains et mammifères) et promastigotes (chez les hôtes invertébrés et dans les cultures) sont les suivantes :

- *Amastigote* : petit organisme intracellulaire de corps arrondi ou ovale, de taille 1,5-3 x 2,5-6,5 μm , trouvé dans les vacuoles du cytoplasme des macrophages. Il n'a pas de flagelle libre. L'organisme a un noyau relativement grand et un kinétoplaste consistant en un corps comme une baguette et un corps basal comme un point ;
- *Promastigote* : organisme extracellulaire allongé, dont le corps a une taille de 15-20 x 1,5-3,5 μm avec un seul flagelle de 15 à 28 μm de long, implantés tout près du kinétoplaste en position antérieure. Le noyau est situé au centre.

Le choix des méthodes d'isolement et de culture dépend des circonstances immédiates et de la capacité techniques et de l'expérience du personnel du laboratoire (U.N.D.P,1989). L'isolement *in vitro* offre certains avantages sur les méthodes *in vivo* : les cultures deviennent positives plus rapidement (5 à 30 jours comparé à des mois pour l'apparition des lésions chez l'animal) et les matériels sont moins coûteux. Cependant, pour l'isolement *in vitro*, les techniques utilisées doivent être exécutées dans des conditions strictes de stérilité ; ainsi, n'est-il pas toujours faisable sur le terrain. Malheureusement, il n'existe pas encore de milieu de culture « universel » dans lequel toutes les différentes leishmania pousseraient facilement, et il est presque impossible de prédire quel milieu sera le meilleur pour la croissance d'un isolat particulier de leishmania. Certains laboratoires ont trouvé le milieu le plus convenable parmi les milieux gélosés au sang biphasique et les milieux de culture de tissu additionné de sérum foetal de veau (EVANS D.A. (1987). Quand l'essai d'isolement primaire d'organismes inconnus est entrepris, un milieu gélosé au sang est utilisé : de préférence au milieu NNN (Novy, McNeil et Nicolle), autrement le milieu gélosé infusion coeur-cerveau (BHI) ou le EMTM (milieu de Tobie modifié par Evan) doivent être utilisés. Il peut être difficile de cultiver les parasites des patients atteints de VL et de MCL. Quelquefois, même quand l'isolement initial est réussi, les parasites peuvent mourir quand une subculture est effectuée. Ceci semble banal surtout quand l'isolement initial a été réalisé dans un milieu riche. Souvent il est possible de surmonter ce problème si les subcultures sont réalisées dans un milieu

nutritionnellement moins riche, tel que le NNN, ou un milieu semi solide tel que « Evans liquide » ou une gélose au sang Locke semi solide.

Le hamster (*Mesocricetus auratus*) est l'animal le plus communément utilisé pour l'isolement *in vivo*. (Rioux J.A. ,1986). Les suspensions de tissu ou les aspirations sont inoculées par voie intradermique dans le nez et/ou les pattes dans le cas de la détection de parasites dermatropes. Quand le matériel est suspecté être infecté par des parasites provoquant la VL, l'inoculation doit de préférence être faite par voie intrapéritonéale. L'infection résultante devient apparente, des semaines ou des mois plus tard, par le développement d'un nodule ou d'un ulcère au point d'inoculation, et dans le cas de parasites viscerotropes, l'infection devient apparente, des mois plus tard, par une infection massive des organes internes. L'examen des frottis colorés par le Giemsa des suspensions/aspirations de tissu de hamster montreront des amastigotes. Les souris BAL/c sont communément utilisées pour le diagnostic de *L. major*.

Plusieurs techniques sont maintenant utilisées dans beaucoup de centres pour identifier les différentes espèces de *Leishmania*, sous-espèces ou souches.

a) La caractérisation des isoenzymes est la méthode la plus utilisée Andrews R.H., et all (1988). ; Hart D.T. (1989), (U.N.D.P,1989). Cette technique exige un grand nombre de parasites ($5 \times 10^9 - 1 \times 10^{10}$). Les principes de l'électrophorèse des enzymes sont les suivantes : les enzymes solubles sont extraites des organismes qui ont poussé dans les milieux pour la culture en masse (milieu BHI, milieu MEM/FCS/EBLB [milieu essentiel minimal/sérum de veau foetal/bouillon de Evans au lysat de sang], milieu *Drosophila* de Schneider). Une petite quantité de l'extrait est ensuite placée dans une substance inerte, la matrice, contenant un tampon à un pH fixé. La matrice est d'habitude un gel d'amidon, mais elle pourrait également être de l'acétate de cellulose absorbant, de l'acrylamide ou de l'agarose. Le pH du tampon dans la matrice est d'habitude choisi de sorte que les enzymes soient négativement chargées. Un courant direct est envoyé dans la matrice dans laquelle les ions du tampon jouent le rôle de conducteur. Quand l'électrophorèse est terminée, la plupart des protéines auront migré dans la matrice vers l'anode, selon la quantité de charge négative. Si la matrice est colorée à cette étape avec un colorant général des protéines, beaucoup de bandes seront visibles. Cependant la spécificité élevée du cofacteur et du substrat des enzymes rend

possible de colorer seulement ces protéines. Désormais, la mobilité électrophorétique d'une enzyme particulière peut être comparée entre plusieurs organismes. La matrice colorée avec sa collection de bandes d'isoenzymes colorées est reconnue comme un zymogramme. Normalement un ou plusieurs extraits à partir des organismes de référence, dans lesquels les profils des bandes d'enzyme sont bien documentés, sont inclus dans le gel pour aider à l'interprétation des résultats. La plupart des enzymes utilisées pour les besoins de la caractérisation sont colorées par des méthodes incorporant une réaction de déshydrogénase. Au moins 12 enzymes seront examinées.

b) La technique des anticorps monoclonaux (AcM) est appliquée à l'analyse et la classification des espèces et des sous-espèces de *Leishmania* du Nouveau et du Vieux Monde (Hart D.T. ;1989), (U.N.D.P,1989). Pour la production des anticorps, des souris BALB/c sont immunisées avec des préparations de membrane à partir soit des promastigotes soit des amastigotes. Les cultures d'hybridome sécrétant les anticorps sont ensuite sélectionnées et clonées par des dilutions limites. La spécificité des souches de *Leishmania* est évaluée grâce à des essais d'immunofluorescence ou d'immunoradiométrie. Cette analyse doit être quantitative, car la quantité du même antigène de surface peut varier parmi les espèces de *Leishmania*. Les anticorps monoclonaux ont aussi été utilisés dans des techniques d'immunohistochimie appliquées sur des biopsies de tissu.

c) L'analyse des endonucléases de restriction de l'ADN des kinétoplastes est basée sur l'analyse, grâce à l'électrophorèse en gélose, de fragments générés par les endonucléases à partir de l'abondant ADN mitochondrial, qui constitue le kinétoplaste (GRAMICCIA M. ;1992 ; Kreier J.P. et al. ;1987). Le profil électrophorétique obtenu, connu comme une « empreinte » de restriction, est un marqueur au niveau du génotype de l'organelle qui permet l'identification et la classification des souches de *Leishmania* dans les schizodermes – populations ayant des séquences d'ADN du kinétoplaste semblables. Cette technique exige aussi un grand nombre de parasites (1×10^{10}).

d) Les sondes d'hybridation de l'ADN sont un outil prometteur dont le principe est de permettre de marquer, des séquences d'ADN du kinétoplaste ou nucléaires simple brin à partir de souches standards bien caractérisées pour trouver et hybrider avec des séquences d'ADN homologues à partir ou dans des isolats de *Leishmania* inconnu (U.N.D.P.1985)

Seules des séquences d'ADN complémentaires formeront de l'ADN double brins, qui peut être détecté par autoradiographie si la sonde est marquée, ou par réaction immunoenzymatique. Ces techniques sont assez sensibles pour identifier $10^2 - 10^3$ organismes repérés sur filtres de nylon. Beaucoup moins de parasites (< 10) sont nécessaires pour l'identification par la technique d'hybridation *in situ*.

e) Les méthodes basées sur la réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) sont maintenant disponibles pour le diagnostic et/ou l'identification des *Leishmania* à partir d'échantillons humain et canin. Essentiellement, les techniques développées soit pour détecter les organismes, frais ou congelés, à partir de biopsies, soit pour identifier des isolats établis de *Leishmania* comprend : (a) la digestion du matériel avec de la protéine K et l'extraction de l'ADN ; (b) l'amplification de la PCR standard utilisant des séquences d'oligonucléotides sélectionnées à partir de petites sous-unités du gène ARNr comme amorces (Mathis A et al; 1995). Des minicercles d'ADN de kinétoplaste (Maarten H.L et al ; 1992). Ou d'autres séquences d'ADN génomique hautement répétitives PIARROUX R., (1993). (c) l'analyse des produits d'amplification par gel d'agarose à 1-2 %. Pour augmenter la sensibilité, une PCR nichée ou semi-nichée utilisant des amorces internes à partir des séquences ci-dessus peut être réalisée. Dans la VL humaine, la PCR a une sensibilité comparable à celle des méthodes basées sur la culture, mais donne des résultats beaucoup plus rapides. Dans la CanL, l'efficacité du diagnostic par la PCR comparée à la sérologie dépend du cours naturel de la maladie, la sensibilité étant la plus élevée brièvement après infection (88 %), déclinant par la suite (50 %) (Quinnell R.J., 2001). Dans la CL et la MCL américaine, la PCR apparaît logiquement plus sensible que n'importe quelle méthode de diagnostic recommandée auparavant Debrujinm.H.L.,(1993) .

1.5.2. Épreuves sérologiques :

Plusieurs épreuves sérologiques sont maintenant utilisées pour détecter les anticorps anti-leishmania (Ashford D.A.,et all 1993); (Sehgal S., et al;1987). Les valeurs de la sensibilité sont rapportées plus loin pour chaque épreuve, cependant, elles sont appliquées seulement aux individus qui ne sont pas immunodéprimés. Un pourcentage élevé de patients atteints de L et co-infectés avec le

virus de l'immunodéficience humaine (VIH), s'est révélé séronégatif pour les anticorps anti-leishmania (Gradoni L. ;1993).

1.5.2.1 Immunofluorescence indirecte

L'épreuve d'immunofluorescence indirecte (IFI) est largement utilisée parce qu'elle est facile à réaliser. L'épreuve est spécifique de genre, bien que des réactions croisées significatives aient été signalées chez des individus infectés avec *Trypanosoma cruzi*. Pour ces sujets, les épreuves sérologiques spécifiques basées sur des antigènes recombinants de leishmania seraient plus appropriées. Dans les régions sans maladie de Chagas, l'épreuve d'IFI pour le diagnostic de la CanL ou de la VL cliniques a une sensibilité de 96 % et une spécificité de 98 %, semblables à celles des réactions immuno-enzymatiques (ELISA). Bien que les amastigotes à partir de sections congelées ou des frottis d'organes infectés puissent être utilisés comme antigène, les promastigotes cultivés représentent la source la plus commune d'antigène.

• Préparation de l'antigène

- i) Récolter 3 à 4 ml du milieu liquide d'une culture vieille de 3 jours montrant une croissance des promastigotes florissante .
- ii) Laver les organismes 3 fois avec une solution physiologique tamponnée au phosphate (PBS), pH 7,2 à 7,4, puis centrifuger à 350 g pendant 15 min à la température du laboratoire.
- iii) Resuspendre le culot cellulaire final dans du PBS et ajuster la concentration des promastigotes à approximativement 4×10^6 /ml à l'aide d'un hémocytomètre.
- iv) Distribuer 30 µl de la suspension de promastigote sur chaque cercle d'une lame multi-spot et laisser sécher à la température du laboratoire.
- v) Fixer les promastigotes dans de l'acétone froid pendant 10 min, puis mettre les lames dans une boîte en plastique et conserver dans un congélateur (-35°C) pendant au maximum 2 à 3 mois.

• Protocole

- i) Laver les lames recouvertes de l'antigène congelé dans du PBS et laisser sécher à la température du laboratoire
- ii) Inactiver le sérum pendant 30 min dans un bain d'eau à 56°C.
- iii) Faire des dilutions en double du sérum à tester de 1/80 à 1/10 240 pour la VL humain, et de 1/40 à 1/5 120 pour la CanL. Les sérums témoins positif et négatif, à des dilutions de 1/80 et 1/160 pour la VL humaine et de 1/40 et 1/80 pour la CanL, sont aussi inclus dans l'épreuve. Il n'y a pas de sérum standard disponible, mais des standards internes sont préparés et titrés.
- iv) Distribuer 30 µl des échantillons de sérums dilués sur chaque cercle de la lame et incubé pendant 30 min à 37°C.
- v) Eliminer les échantillons de sérum par lavages vigoureux dans du PBS, suivi par l'immersion des lames dans du PBS pendant 10 min. Laisser sécher les lames.
- vi) Distribuer 30 µl d'anti-immunoglobuline conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine dilué (FITC pour *Fluorescein Isothiocyanate*) sur chaque cercle de la lame et incubé pendant 30 min à 37°C. Les immunoglobulines anti-humain et anti-chien conjuguées FITC sont disponibles commercialement.
- vii) Répéter l'étape v et monter avec une lamelle dans quelques gouttes de PBS/glycérol (50 % [v/v] de chaque).
- viii) Lire les lames au microscope à fluorescence. La dilution la plus élevée montrant des promastigotes fluorescents est considérée comme le titre de l'anticorps. Pour la VL humain, le titre seuil s'échelonne ordinairement de 1/80 à 1/160, pour la CanL, il s'échelonne de 1/40 à 1/160. Comme les performances de l'épreuve d'IFI peuvent varier dans différents laboratoires, il vaut mieux pour chaque laboratoire de définir son propre titre seuil en utilisant des sérums de référence négatif et positif définis.

1.5.2.3 Méthode immuno-enzymatique

L'ELISA peut être exécuté sur sérum ou sur un volume de sang précis. Le sang est collecté par piqûre avec une aiguille sur des bandes de papier absorbant approprié et laissé à sécher. L'échantillon est élué et testé à une seule dilution déterminée auparavant pour donner une spécificité et une sensibilité acceptables. Cette épreuve peut être utilisée pour des enquêtes séro-épidémiologiques dans les conditions du terrain.

Dans la méthode classique, l'antigène est préparé comme suit : les promastigotes récoltés à partir des cultures sont lavés 4 fois avec du PBS, pH 7,2, centrifugés à 1 000 g pendant 15 min. Les promastigotes du culot sont resuspendus dans 2 fois leur volume d'eau distillée, puis ultrasonnés à une amplitude moyenne dans un bain glacé. La suspension est laissée à 4°C une nuit pour permettre aux protéines de se dissoudre. Après une centrifugation finale à 4 000 g pendant 10 min pour éliminer les débris cellulaires, le surnageant, représentant l'antigène soluble concentré, est distribué dans des flacons et stocké à -20°C jusqu'à la date prescrite. Pour l'utilisation dans l'épreuve, il est reconstitué avec du PBS à une concentration optimale prédéterminée de protéine (environ 20 µg/ml) comme mesuré par la méthode de Lowry. L'ELISA est utile pour le diagnostic des leishmanioses du Vieux et du Nouveau Monde. Il y a peu ou pas de réactions croisées avec d'autres maladies et, selon les souches de *Leishmania* utilisées, la sensibilité peut varier de 86 % à 99 %.

Une version de l'ELISA, appelée épreuve de dépistage Falcon (FAST-ELISA) et utilisant des perles recouvertes d'antigène, est considérée comme étant adaptable au terrain, sensible et spécifique pour la CanL viscérale avec une sensibilité et une spécificité comparable aux épreuves IFI et ELISA. Le sang total ou plasma peut être évalué rapidement sans l'utilisation d'un microscope ou d'un spectrophotomètre (Ashford D.A., et al 1993).

Un antigène promastigote soluble dans un détergent a été utilisé dans l'ELISA au lieu d'un lysat brut, pour le diagnostic de la CanL. Le détergent était du Triton X-100 et l'extrait protéique était protégé par des inhibiteurs de la protéase. En utilisant cette méthode, la sensibilité de l'ELISA augmentait à 99,5 %, tandis que sa spécificité était comparable avec celle de l'épreuve d'IFI (97 %) Mancianti F, 1995).

Les méthodes ELISA décrites ci-dessus reposent toutes sur des préparations antigéniques brutes. Plus récemment, un antigène recombinant à partir d'une protéine clonée de *L. chagasi*, appelée rK39, a été signalé comme étant hautement réactif avec des sérums de cas de leishmaniose viscérale humaine et canine quand il était utilisé dans une formule ELISA. En utilisant 25 à 50 ng d'antigène, une sensibilité et une spécificité de 99 % étaient constamment trouvées pour les patients immunocompétents avec la VL clinique et pour les chiens avec une maladie démontrée parasitologiquement (Badaro R., et al 1996) ; (Scalone A :2002). Chez les patients positifs au VIH, le K39-ELISA montrait une sensibilité plus élevée (82 %) que l'épreuve d'IFI (54 %) (Houghton R.L ;1998) . L'antigène K39, qui montre une stabilité et une reproductibilité remarquables, est maintenant produit commercialement.

1.5.2.4 Épreuve d'agglutination directe

L'épreuve d'agglutination directe (DAT) a été décrite pour le diagnostic de la VL et de la CanL. Après le développement de l'épreuve, le DAT a été validé comme un test sensible et spécifique pour les investigations de terrain (Boelaert M. ; 1999).

Ozbel Y ; (2000). L'antigène consiste en promastigotes récoltés à partir de cultures, lavés dans du PBS, pH 7,2, traités avec de la trypsine à 0,4 % pendant 45 min à 37°C et puis lavés à nouveau, et colorés avec 0,02 % de bleu de Coomassie. Des dilutions en série double de sérum dans du PBS sont faites dans des puits de plaques de microtitrage à fond en V ; 50 µl de préparation antigénique sont additionnés dans chaque puits, puis la plaque est agitée avec soin à la main et laissée pendant 18 h à la température de la pièce. L'épreuve est lue à l'oeil nu contre un fond blanc. Les réactions positives sont indiquées par une tache claire tranchant sur le bleu.

Une DAT modifiée pour la détection d'anticorps anti-leishmania spécifiques chez des hôtes réservoirs canins est considérée hautement appropriée pour des travaux écologique et épidémiologique à grande échelle sur le terrain, et pour le diagnostic de la CanL, ayant une sensibilité de 100 % et de spécificité de 98 %. (Harith A.Eet al ;1988). La fiabilité de l'épreuve a été améliorée en traitant les sérums à tester avec 0,2 M de 2-mercaptoethanol et en les incubant à 37°C.

1.5.2.5 Contre immunoélectrophorèse

Le principe général de cette épreuve est que la migration de la plupart des molécules de protéine se fait vers l'anode, sauf pour les gamma-globulines, qui se déplacent vers la cathode. Cette propriété est utilisée dans l'épreuve de contre-immunoélectrophorèse (CIEP). Les anticorps se déplacent vers la cathode sous le flux électroosmotique et les antigènes chargés négativement se déplacent vers l'anode et précipitent au contact de l'antisérum. La procédure est la suivante : 3 à 5 ml d'agarose sont versés sur des lames et des puits sont perforés quand l'agarose est solidifiée. Le sérum est placé dans les puits à l'anode et l'antigène leishmania, préparé comme pour l'ELISA, dans les puits à la cathode. La lame est placée dans des cuves à électrophorèse remplies avec du tampon barbital, pH 8,2, et connectée aux chambres du tampon avec des bandes de papier filtre. Un courant d'approximativement 8 mAmp (milli-Ampère) est appliqué et après 2 à 3 h la lame est examinée pour les lignes de précipitation. L'épreuve de CIEP est une épreuve de diagnostic fiable et a donné de meilleurs résultats que l'ELISA dans le diagnostic de la CanL.

1.5.2.6 Épreuve d'hypersensibilité retardée

L'hypersensibilité retardée est une caractéristique importante de toutes les leishmanioses humaines et peut être mesurée par le test à la leishmanine, aussi connue comme la réaction de Monténégro MANSON-BAHR P.C. (1987). L'épreuve cutanée à la leishmanine n'a pas de valeur pour le diagnostic de la CanL. La leishmanine est une suspension tuée de promastigotes entiers ($0,5-1 \times 10^7$ /ml) ou détruits (250 µg de protéine/ml) dans une solution saline sans pyrogène contenant du phénol. Une réaction retardée se développe et est lue 48 à 72 h plus tard.

Le taux de réaction faussement positive chez des personnes saines est approximativement de 1 %, mais Il peut être plus élevé dans les régions où existe un contexte de leishmaniose, car dans ce cas, beaucoup de populations saines peuvent présenter un taux de sensibilité assez élevé à la leishmanine. La réactivité croisée entre toutes les souches de *Leishmania* est complète, bien que les antigènes hétérologues donnent souvent des réactions plus petites, et cela peut être la cause de difficulté dans la standardisation. La leishmanine est utilisée dans le diagnostic clinique de la CL et de la MCL. Dans la VL,

elle mesure seulement des infections passées car une anergie complète est observée au cours de la maladie active. Les leishmanines ne sont plus disponibles commercialement.

2. LE TRAITEMENT :

2.1 Pour l'homme :

Dans la majorité des cas, les différentes formes de leishmanioses sont traitées à l'aide d'antimoine pentavalent tel le stibogluconate de sodium (Pentostam; Burroughs Wellcome) et l'antimoniote de méglumine (Glucantime; Aventis Pasteur). Ceux-ci sont administrés par injections intramusculaires ou intraveineuses. Ces traitements ont plusieurs désavantages : ils nécessitent une hospitalisation de plusieurs semaines et ont des effets secondaires marqués. De plus, la qualité n'est pas toujours constante d'un lot à l'autre (Guerin et al., 2002). Mais le problème majeur des médicaments à l'antimoine est l'émergence grandissante de souches de parasites résistants. En effet, dans la province de Bihar en Inde, où la leishmaniose viscérale est endémique, 65% des nouveaux cas d'infection sont dus à ces souches résistantes (Sundar, 2001). Dans le Nouveau Monde, on dénote également des résistances pour les leishmanioses cutanées et mucocutanées (Grogl et al., 1992).

Pour pallier aux échecs de traitement au Pérou, un groupe a testé un immunomodulateur, l'Imiquimod utilisé actuellement contre les verrues génitales causées par des papillomavirus. Il est appliqué sous forme de crème sur l'ulcère accompagné d'injections d'antimoine. Il semble que cette combinaison de traitements soit efficace chez les patients qui n'avaient pas répondu à un premier traitement à l'antimoine seul (Arevalo et al., 2001). Dans les cas de résistance en Inde, on a généralement recours à l'Amphotéricine B comme traitement. Elle est très efficace (97% de guérison) et aucune résistance n'a encore été rapportée (Thakur et al., 1996). Elle est par contre plus coûteuse que les traitements à l'antimoine et les effets secondaires sont importants. Pour diminuer cette toxicité, certaines formulations lipidiques d'Amphotéricine B ont été élaborées, soit les liposomes, dispersions colloïdales ou complexes lipidiques. Les liposomes sont les plus efficaces et les moins toxiques mais les coûts extrêmement élevés de l'ensemble de ces produits ne permettent pas leur usage dans les pays en voie de développement (Guerin et al., 2002).

Finalement, trois nouveaux produits sont encore à l'étude. Tout d'abord, la Miltefosine qui vient tout juste d'être approuvée en Inde. Produite à la base comme traitement anti-cancéreux, la Miltefosine a le grand Avantage d'être administrée oralement. On a observé des taux de guérison de 98% avec des effets secondaires négligeables. Suite aux essais de Phase IV, le gouvernement indien souhaite utiliser la Miltefosine comme traitement de première ligne (Ganguly, 2002). La Paromomycine (un antibiotique avec des effets anti-leishmania) est présentement à l'étude en Inde (Thakur et al., 2000) et en Afrique (Seaman et al., 1996). Elle semble efficace et bien tolérée mais doit être administrée de façon parentérale. Enfin, la Sitamaquine a été développée par GlaxoSmithkline et le Walter Reed Army Institute of Research et s'administre oralement (Sherwood et al., 1994). On ne connaît pas encore les résultats de l'étude menée sur son efficacité.

Autre que ça généralement les leishmanioses cutanées ne requièrent habituellement pas de traitement puisqu'elles guérissent spontanément et immunisent le sujet contre une réinfection. Toute fois les lésions multiples défigurants ou invalidantes exigent un traitement antimoine dans ce cas le traitement préconise est le suivant :

*Traitement général : deux médicament sont retenues

-GLUCANTIME : ampoule de 5ml

Posologie : 5 à 20cg/kg/j selon les cas en intramusculaire

*Traitement local :

GLUCANTINE : si les lésions sont inférieures ou égales a deux infiltration d'une ampoule par semaine en intralésionnel selon les 04 points cardinaux.

Durée : 04 semaines environ.

-CRYOTHERAPIE : application de neige carbonique 1 à 2 fois par semaine seule ou associée au glucantine.

Problèmes spécifiques :

- Les co-infections Leishmania/VIH entraînent des difficultés particulières pour le diagnostic et la thérapie. Les manifestations cliniques habituelles (fièvre, perte de poids, hépatosplénomégalie, adénopathies) ne sont pas toujours présentes. Il arrive également que le diagnostic clinique soit compliqué par des maladies associées, comme la

cryptosporidiose, la cryptococcose disséminée, les infections par le cytomégalo virus ou par les mycobactéries.

- Le diagnostic sérologique est faussement négatif chez 42,6% des sujets co-infectés. Les malades séropositifs pour le VIH ont souvent des difficultés à produire des anticorps contre de nouveaux agents infectieux, en particulier en phase tardive ou lors de rechutes. Il faut donc alors associer au moins deux tests sérologiques et des antigènes fraîchement préparés au laboratoire pour augmenter la sensibilité.
- Bien que les localisations multiples soient fréquentes (sang, peau, tube digestif, poumons, système nerveux central), il arrive que le diagnostic parasitologique soit difficile et devra être recommencé pour orienter le traitement : la ponction de moelle osseuse reste la technique la plus sûre et la plus sensible, mais l'on fait appel également à la ponction de la rate ou à la biopsie du foie. Lorsque la ponction de moelle osseuse est impossible, la recherche des leishmanies peut s'effectuer sur des échantillons de sang périphérique.
- Le traitement des patients co-infectés vise à la guérison clinique et parasitologique et à la prévention des rechutes. Malheureusement, les échecs et les rechutes provoquées par la résistance aux médicaments et leur toxicité sont très courants. Dans le sud-ouest de l'Europe, des études sur les antimonies pentavalents, les mêmes médicaments de première intention que pour la leishmaniose classique, montrent une réponse positive dans 83% des cas. Néanmoins, 52% des malades font une à quatre rechutes dans un délai allant d'un mois à trois ans.
- La pentamidine, l'amphotéricine B et l'amphotéricine B incluse dans des liposomes sont les principaux médicaments de remplacement. L'inclusion de l'amphotéricine B dans des liposomes réduit l'apparition des effets secondaires, mais il y a toujours des rechutes et le médicament reste extrêmement coûteux.

2.2 Pour le chien :

Dans les zones d'enzootie ; si le suivi des malades se révèle impossible, la décision d'euthanasie pourra être conseillée afin d'éviter la dissémination de la maladie.

•Spécifique :

ANTIMONIATE DE N-METHYLGLUCANTINE (GLUCANTINE) :

-Administration par voie intramusculaire, 18à20 injections à 48heures d'intervalle.

-200à300mg/kg soit 1ml/kg de la solution du commerce à30% avec un maximum de20ml.

Débuter la cure avec des doses réduites de moitié.

Les voies SC ouIV peuvent aussi être utilisées

-précaution : les lésions sont parfois aggravées au cours des premiers jours du traitement (stibioréviviscence) : continuer le traitement dans les mêmes conditions.

-le produit est parfois mal supporté (stibiotolérance) : changer de médicament .parfois aggravation chez les insuffisants rénaux.

PENTAMIDINE (Lomidine) :

-Administration par voie intramusculaire profonde uniquement : 15à20 injections à 48heures ou 72 heures d'intervalle.

-Débuter par 2mg/kg soit 0,5ml de la solution du commerce pour 10kg.

-Augmenter progressivement à 3mg (1ml pour 15kg) et à 4mg (1ml pour 10kg).

ALLOPURINOL (Zyloric*) en complément 10 à 30mg/kg par jour..

•Adjuvant

-tonique : antianémique ;

-hépatoprotecteur et diurétique.

Corticothérapie à envisager dans le cas d'affections oculaires ou rénale à médiation immune.

*Suivi de chien leishmanien :

-Evaluation annuelle ou bisannuelle de l'évolution de l'IFI (immunofluorescence indirect).

-Surtout suivi du tracé électrophorétique (normalisation favorable, reprise du traitement en cas de nouvelles anomalies).

MATERIEL ET METHODES

I.MATERIEL :

I.1 Région d'étude :

L'étude menée, a duré huit mois (de novembre 2007 à juin 2008).

Les différents prélèvements, ont été effectués, au niveau de la clinique de l'institut des sciences vétérinaire de Tiaret où les animaux consultés proviennent de divers endroits de la willaya.

Cette clinique est structurée de la manière suivante :

- une salle de consultation : pour l'examen général de l'animal ainsi que les prélèvements (sang, urine, ponction gonglionnaire, etc.).
- une salle de chirurgie : utilisée pour les différentes interventions chirurgicales et pour les autopsies.
- un bloc de laboratoires (microbiologie, biochimie, parasitologie) ; où les prélèvements subissent certaines préparations (centrifugations, colorations des coupes histologiques), des tests microscopiques et autres analyses des échantillons (urine, sang, selles, etc.).

I.2 Effectif canin :

Parmi les 185 chiens étudiés, (104) soit **56.16%** étaient de sexe masculin.

I.3 Races : Le tableau suivant récapitule la répartition des races canines

TABLEAU N°1 : Différentes races de chiens prélevés.

Races	chiens		male		femelle	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Berger Allemand	59	31.89	37	35.57	22	21.15
Commune	32	17.29	18	17.30	14	13.46
Croisée	26	14.04	16	15.38	10	9.61
Chien de chasse	19	10.26	11	10.57	08	7.69
Caniche	09	4.87	03	2.88	06	5.76
Braque allemand	08	4.32	05	4.80	03	2.88
Berger Belge	07	3.79	05	4.80	02	1.92
Doberman	07	3.79	03	2.88	04	3.84
Braque français	06	3.24	01	0.96	05	4.80
Epagneul	04	2.16	01	0.96	03	2.88
Pit bull	03	1.62	00	00	03	2.88
Rotweiller	03	1.62	02	1.92	01	0.96
pointer	01	0.54	01	0.96	00	00
Cetair	01	0.54	01	0.96	00	00

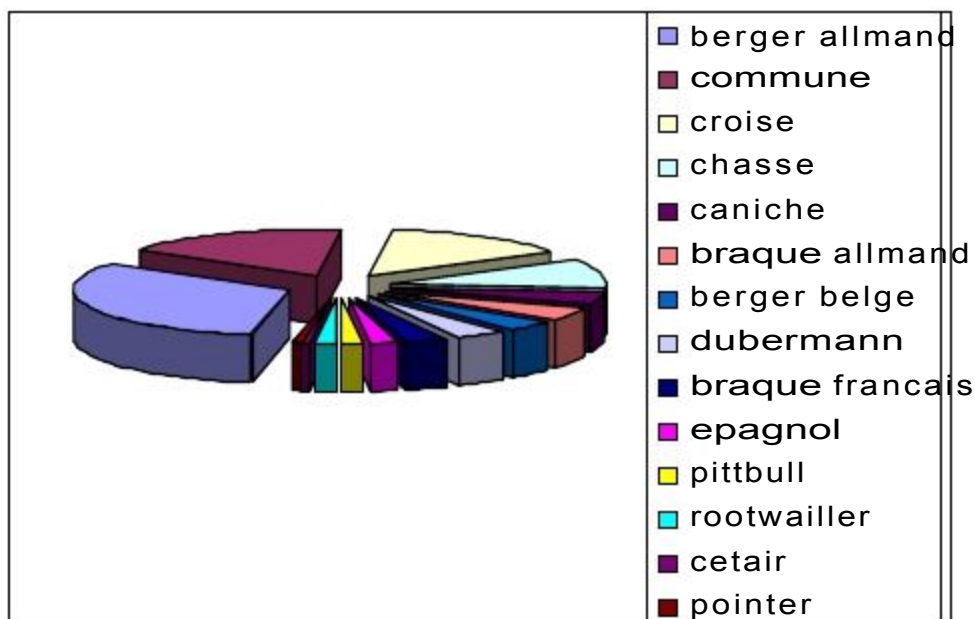


FIGURE N° 1 : Répartition des chiens selon la race.

14 races sont comptabilisées ; la race Berger Allemand et la race commune sont prédominantes avec 31,39 % et 17,29 % respectivement

I.4 Classe d'âge :

Nous avons réparti les individus en huit (08) tranches d'âge (tableau 02)

TABLEAU N° 02 : distribution des animaux en fonction de leur âge

Classes d'âge	Nombre de chien
[0..... 6 mois]	26
] 6 mois..... 1an]	29
]1an 2ans]	25
] 2 ans3ans]	41
] 3ans.....4ans]	33
] 4 ans 5ans]	18
] 5 ans et plus	13
Total	185

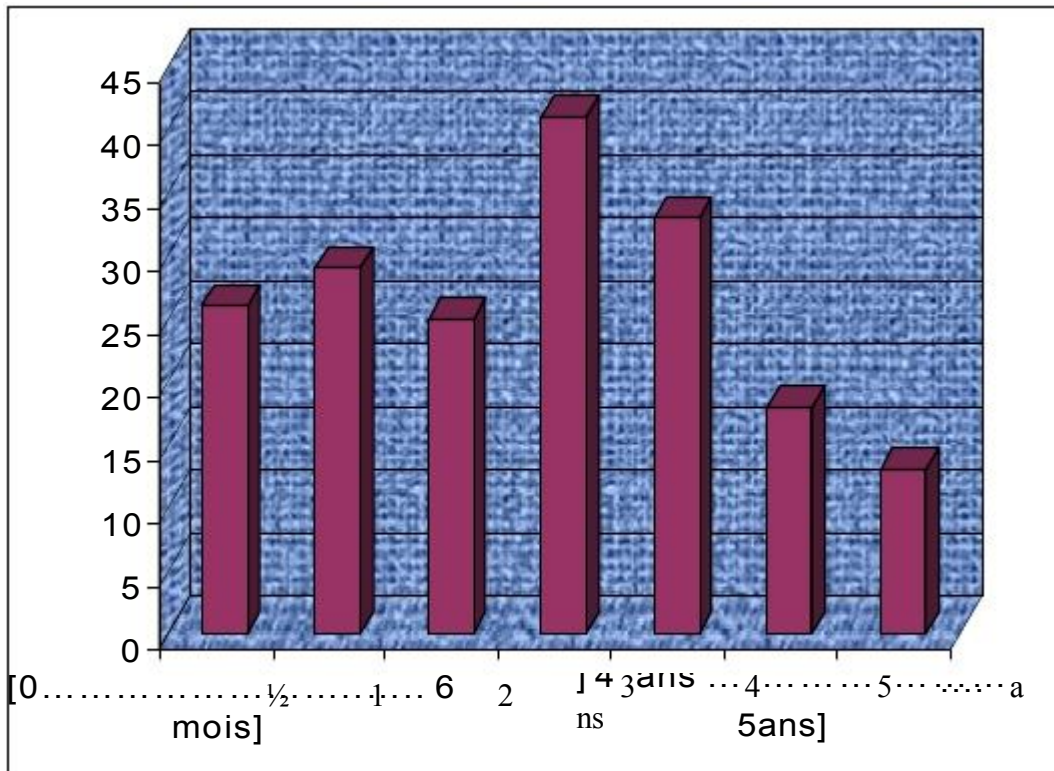


FIGURE N° 2 : répartition des chiens selon l'âge.

II.METHODOLOGIE :

Pour mettre en évidence l'existence de la maladie, nous avons eu recours à certaines méthodes de laboratoires utiles de réalisation simple.

Notre démarche méthodologique était la suivante :

*** II.1 EXAMEN CLINIQUE**

Lors des consultations, l'ensemble des commémoratifs concernant les animaux est enregistré : race, âge, sexe, localisation, mode de vie, signes généraux (amaigrissement, anémie, fatigabilité), (modifications comportementales, modifications de l'appétit, vomissements, etc.

Par la suite, un examen clinique détaillé est réalisé.

*** II.2 PRELEVEMENT DE SANG :**

Le prélèvement de sang effectué au niveau de la veine céphalique de l'avant bras du chien et recueilli dans (2) tubes stériles (tube sec et tube a EDTA). Une ponction gonglionnaire est pratiquée lors d'hypertrophie de poplité.

***II.3 TEST DE LABORATOIRE** : orientation au laboratoire pour les tests suivants «LFG, FNS, MGG). Le test "Witness Leishmania" a été appliqué dans certains cas.

II.3.1 Diagnostic de laboratoire:

II.3.1.1. test d'orientation du diagnostic de la leishmaniose (réaction de leuco-formol-gelification) « LFG »

Principe de test :

- 5 ml de sang dans un tube à anticoagulant centrifugé à la vitesse de 3000 tours /mn,
- 2 ml de sérum obtenu avec formol 40%.
- La formation d'un gel indique après 20 mn une réaction positive.

Un test positif indique un taux élevé de globulines avec chute de l'albumine.

II.3.1.2 Vitesse de sédimentation (VS) :

Le sang est recueilli dans un tube gradué jusqu'à 0 mm et on le fixe verticalement, laissé sédimenter dans le support approprié. Puis on fait 2 lecture : la 1^{re} à 30mn et la 2^{eme} à 60mn
La VS est mesurée par la hauteur (mm) / heure (Delmare, 1992).

La chute des globules rouges au sein de plasma invitro lorsque le sang a été rendu incoagulable. La VS sert a ; apprécier le nombre d'hématies, déceler un hyper leucocytose et

d'indiquer l'existence du processus inflammatoire ; Valeur normales de la VS chez le chien: 1-2 mm à la 1 heure. 2-4 mm à la 2 heures et 8-15 mm à 24 heures.

Lors d'infection la vitesse de sédimentation est accélérée. (Niemand, 1992).

II.3.1.3 Hématocrite (HC) : c'est le pourcentage de volume globulaire en particulier d'hématies par rapport au volume sanguin total (valeur normale chez le chien 44 à 57 %).

On fait remplir un tube capillaire en plaçant dans le tube a EDTA, on ferme le tube par de mastic d'un coté, puis on le place dans la centrifugeuse de l'hématocrite pendant 3 mn à 12000 tours ; la lecture se fait sur la plaque de l'hématocrite.

II.3.1.4 FNS (FORMULE DE NUMERATION SANGUINE)

La Numération sanguine consiste à compter le nombre des éléments figurés du sang (Globules). Le résultat s'exprime en éléments par mm³ (millimètre cube).

La Formule sanguine donne la proportion de chacun des types de globules blancs.

Polynucléaires neutrophiles
Polynucléaires éosinophiles
Polynucléaires basophiles
Lymphocytes (Petits + Grands)
Monocytes

Les FNS sont habituellement effectuées par des automates de laboratoire, mais l'étude fine des Formules sanguines se fait au microscope après coloration au May- Gründwald -Giemsa (MGG).

La confirmation du diagnostic de la leishmaniose par examen direct après coloration au May- Gründwald-Giemsa (MGG) est très utilisée (Niemand et Suter, 1992 ; Ambroise et Thomas , 1990 ; Groulade et al ; 1979 ; Bachi et al ; 1997 ; Belkaid et al ; 1992).

PROTOCOLE :

PRÉLÈVEMENT.

Le prélèvement au laboratoire ou en clinique se fait au vacutainer ou seringue stérile sur sang veineux avec anticoagulant (EDTA)

FROTTIS :

Le frottis peut se pratiquer sur lame ou sur lamelle.

FROTTIS SUR LAME. (Annexe N° 03)

- Déposer une goutte de sang de taille moyenne à 1.5 cm du bord droit d'une lame dégraissée,
- Étaler par capillarité la goutte au contact de l'arête d'une deuxième lame rodée tenue à 45 degrés,
- Pousser rapidement la deuxième lame vers la gauche de la première lame en entraînant le sang qui s'étale en une couche mono cellulaire (Frottis).
Si la goutte de sang est de taille convenable, le frottis doit se terminer à 1 cm environ du bord gauche de la lame.
- Variante: on peut remplacer la deuxième lame par une lamelle couvre objet.

DESSICCATION.

Le frottis est séché rapidement à l'air à l'abri des poussières.

COLORATION au MGG.

2. Coloration sur lame

- Déposer 10 à 15 gouttes de May-Grünwald sur le frottis et couvrir pour éviter l'évaporation. Pendant 3 mn. C'est la Fixation.
- Déposer 10 à 15 gouttes d'eau tamponnée et mélanger par rotation de la lame. 1 mn
- Égoutter
- Recouvrir de Giemsa dilué 15 mn. C'est la coloration.
- Égoutter
- Laver à l'eau neutre.
- Sécher au papier Joseph.

EXAMEN.

Examen à l'objectif 40 X à hématologie ou

Examiner à l'immersion 100 X et oculaires faibles

Déplacer la lame en faisant des "créneaux" pour ne pas repasser au même endroit.

Compter 100 leucocytes (ou mieux 200) ce qui donne immédiatement le résultat.

CONSERVATION DES FROTTIS.

Les frottis après examen à l'immersion sont couverts d'huile qui a tendance d'abord à ramasser poussières et fibres puis à sécher. De ce fait un ré-examen ultérieur de la lame est rendu difficile. Son nettoyage au xylène n'est pas satisfaisant.

Une bonne habitude consiste à déposer une grosse goutte d'huile de cèdre sur le frottis et de poser par dessus une ou deux grosses lamelles contiguës.

Au bout de quelques jours le frottis est transformé en préparation permanente qui se conserve indéfiniment. La présence de lamelle malgré son épaisseur ne nuit pas la mise au point lors d'un futur examen à l'immersion.

NUMERATION

Pour la numération on utilise surtout la cellule de Malassez. Nous comptons quatre carrés de la cellule au fort grossissement. Ces carrés contiennent chacun seize petits carrés que nous comptons en zigzag nous additionnons les leucocytes des petits carrés.

Pour le calcul (nombre de leucocytes par litre) nous multiplions le nombre de cellules dans quatre carrés par 50.10.

OBSERVATION : (Annexe N° 04)

Polynucléaire Neutrophile :

Description:

- Taille: 12-14 μ arrondi.
- Noyau: Polylobé 2-6 lobes (2-3 les plus nombreux)
- Cytoplasme: clair acidophile

Granulations: neutrophiles violettes régulières tes fines et nombreuses

Polynucléaire Eosinophile :

Description:

- Taille: 12-14 μ arrondi.
- Noyau: 2-3 lobes
- Cytoplasme: clair, acidophile presque pas visible recouvert par les granulations

Granulations: acidophiles, roses, rondes, nombreuses

Polynucléaire Basophile :

Description:

- Taille: 11-13 μ arrondi
- Noyau: 2-4 lobes denses
- Cytoplasme: acidophile clair

Granulations: très nombreuses pouvant recouvrir le noyau anguleuses bleu-violet foncé.

Les Lymphocytes :

Description:

- Taille: 10-15 μ Arrondi déformable (les bords épousent la forme des cellules mitoyennes).
- Noyau: rond ovale ou en drapeau
- Cytoplasme: bleu très clair

Granulations: quelques rares granulations azurophiles en paquet

Le Monocyte :

Description:

- Taille: 18-21 μ arrondi très déformable
- Noyau: rond ou encoché
- Cytoplasme: basophile clair

Granulations: très fines et très nombreuses azurophiles

II.3.1.5 Witness *Leishmania* :

Principe du test :

Le test witness *leishmania* est un test de réalisation simple, basée sur une immuno-migration rapide.

L'échantillon à tester contenant les anticorps anti-*leishmania* (sang total, sérum, ou plasma) est mis en contact avec des particules d'or colloïdal sensibilisées. Le complexe ainsi formé migre sur une membrane avant d'être capturé sur une membrane réactive, au niveau de laquelle sa concentration provoque la formation d'une bande de couleur rose clairement visible. Une bande de contrôle, située à l'extrémité de la membrane, permet de s'assurer que le test a été réalisé correctement.

Ce test peut être réalisée sur du sang total, du sérum ou du plasma. Pour le sang total, l'échantillon doit être prélevé sur anticoagulant (citrates ou héparine)

Réalisation du test et résultats :

A - Préparation de l'échantillon :

- La plaquette test (1) est retirée de son etui, et placée sur une surface plane.
- L'échantillon est déposé grâce à la pipette fournie en la maintenant verticalement.
- 2 fois 5 microlitres sont répartis dans le puit échantillon. (Fig.3)



FIGURE N° 3 : Dépôt de l'échantillon pour le test W.L.

B - Répartition de la solution tampon :

S'assurer que l'échantillon a bien diffusé dans la membrane.

4 gouttes de la solution tampon (flacon) maintenue verticalement est répartie dans le puit échantillon.



FIGURE N° 4 : Dépôt de la solution tampon.

Laisser la membrane s'imprégner entre chaque goutte.

La plaquette test est laissée bien à plat durant tout le temps de la migration du complexe échantillon / réactif sur la bandelette, à savoir 10 minutes maximum.

C - Lecture du test :

Au terme de 10 minutes, on recherche la présence ou l'absence de bandes de couleur rose dans les fenêtres, (2) et (3) (Fig.6).

D - Résultats :

- **Validation** : Le test est validé si une bande est présente dans la fenêtre de lecture au niveau du repère correspondant (3).

- Interprétation :

- Absence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (2) et apparition d'une bande au niveau du repère (3) : **Négatif en anticorps anti - leishmania.**

- Présence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (3) : **Positif en anticorps anti - leishmania.**



FIGURE N° 5 : Résultat négatif (présence d'une seule bande au niveau du repère n° 3)



FIGURE N°6 : Résultat positif (présence de deux bandes au niveau des repères 2 et 3)

REMARQUES

- il est possible de conclure la lecture du test avant 10mn si deux bandes de couleur rose (correspond respectivement a la bande test (2) et a la bande témoin (3) sont nettement apparues
- l'absence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (3) rend le test invalide.

*** II.4 AUTOPSIE :**

Les autopsies consistent à explorer les tissus et organes, externes et internes, après le décès de l'animal. Le but principal d'une autopsie est de chercher des modifications de ces organes. Une autopsie est composée grossièrement de deux parties, une partie d'examen macroscopique (visible à l'oeil nu) et une partie de coupes histologiques suivies d'examens histo-pathologiques (examen microscopique). A cela se rajoute des analyses de germes, bactériologiques, parasitaires, virales, etc. Si toutes ses observations peuvent apporter un diagnostic post-mortem, cela n'est toutefois pas toujours le cas, en particuliers lors de modifications peu spécifiques ou fréquemment observés. Cette difficulté de poser parfois un diagnostic certain peut se révéler frustrante pour le propriétaire de l'animal qui n'est pas satisfait avec les hypothèses non confirmées.

Les autopsies sont normalement réalisées en cas de mort subite, d'euthanasie ou d'évolution fatale de la maladie,

Des autopsies ne peuvent être pratiquées que sur un corps réfrigéré. Si le corps est resté plusieurs heures à l'extérieur au chaud, les phénomènes d'autolyse seront trop importants et empêcheront tout examen post-mortem sérieux. La congélation détruit également les cellules et est à proscrire.

Importance.

C'est souvent le vétérinaire ou la clinique qui aura intérêt à mieux connaître les modifications pathologiques macroscopiques ou histo-pathologiques de la maladie ayant entraîné la mort, voire d'une pathologie annexe. Dans ces cas, le vétérinaire devra demander l'autorisation aux propriétaires de l'animal. L'autopsie lui permettra éventuellement de confirmer son diagnostic pré-mortem, ou d'observer les lésions associées à la pathologie diagnostiquée ou de mieux comprendre la cause de décès.

Après l'autopsie, le corps sera de préférence incinéré, de la même manière que sans autopsie, L'autopsie peut donc s'avérer très intéressante et utile si on est conscient de ses limites.

RESULTATS ET DISCUSSION

I.RESULTATS ET DISCUSSION :

De part la fréquence de la leishmaniose cutanée et la gravité de la leishmaniose viscérale, les leishmanioses représentent un problème de santé publique majeur et ont un impact économique certain.

L'intérêt croissant de l'algérien au chien (principal réservoir), peut expliquer la recrudescence de la leishmaniose viscérale et cutanée à l'échelle nationale.

Dans la leishmaniose canine, le premier coup d'oeil sur l'animal nous mène éventuellement à suspecter cette maladie car celui-ci peut présenter des symptômes évocateurs.

I.1 DIAGNOSTIC CLINIQUE DE LA LEISHMANIOSE CANINE

Le diagnostic clinique a révélé une symptomatologie assez variée mais beaucoup d'individus n'ont aucun signe pouvant être rattaché à la leishmaniose.

Le tableau suivant récapitule les principaux symptômes observés chez les chiens leishmaniens :

TABLEAU N° 3 : principaux symptômes observés chez les chiens leishmaniens

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	%
Amaigrissement	x	x	x	x	x	x	x		x	x	81.81
Néphropathie	x		x		x			x	x	x	54.54
Adénopathie	x	x	x	x	x			x	x	x	72.72
Onychogribose	x	x		x	x						36.36
Affection oculaire	x	x			x					x	36.36
Anémie	x	x	x		x				x	x	54.54
Affection de la peau	x	x		x	x	x		x		x	63.63
Signe de lunette	x	x						x	x		36.36

Ces dix cas présentaient une symptomatologie assez complète suggérant une leishmaniose ; ils ont été confirmés atteints par les tests de laboratoire.

Un autre individu sans aucun symptôme, s'est révélé par la suite positif.

Ceci implique que :

- la leishmaniose canine peut présenter un tableau polymorphe.
- elle peut sévir sans symptômes révélateurs (ainsi beaucoup d'individus porteurs non décelés par la clinique, peuvent passer inaperçus et ils représentent donc un danger majeur car constituent le réservoir du parasite).

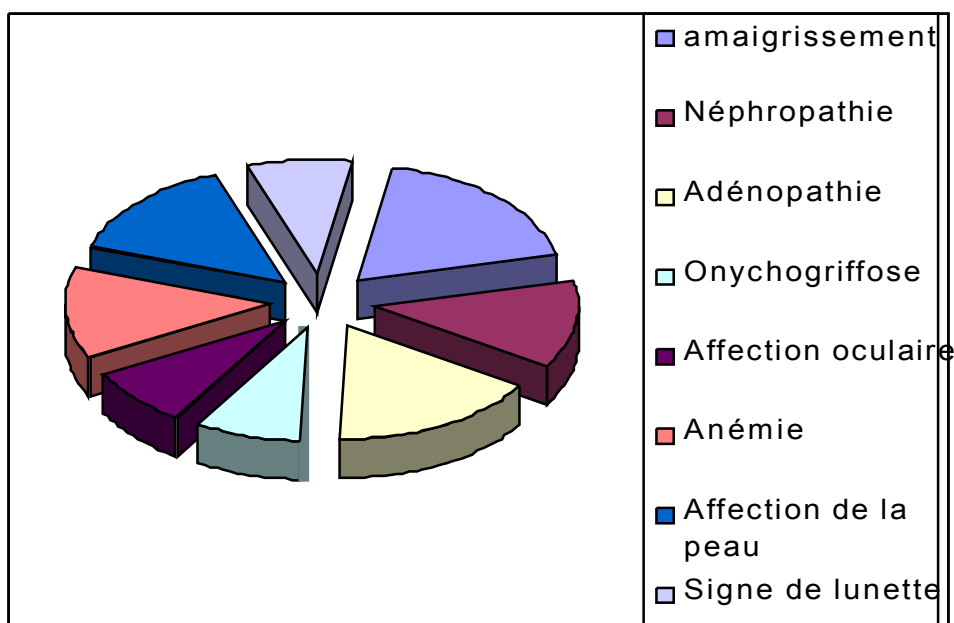


FIGURE N° 7 : Fréquence des signes cliniques de la leishmaniose canine.

Les symptômes relevés chez les individus atteints sont illustrés par les photos suivantes (01 à 06)



PHOTO N° 1 : amaigrissement marqué chez un chien leishmanien .



PHOTO N° 2 : Signe de lunette.
Ce chien présentait une dépigilation périorbitaire



PHOTO N° 03 : néphropathie (douleur à la miction)



PHOTO N° 4 : Onychogriphose (excroissance des ongles) ; signe très évocateur bien que souvent très tardif, est due a l'inflammation du lit des griffes .sa manifestation était notée dans 36,36% des cas.



PHOTO N° 05 : affection oculaire représenté par la conjonctivite, le plus souvent, une kératite avec exulcération entraînant rarement une opacification ; nos animaux malades avaient des signes oculaires se manifestant a une fréquence de 36,36%.



PHOTO N° 06 : affections de la peau.

(Présence de pellicules et des ulcérations au niveau des bords des oreilles, points d'appui des coussinets plantaires et de la truffe).

Certains individus présentaient un seul ou quelques signes cliniques de la maladie.

Cependant, le signe fréquemment observé chez les malades est l'amaigrissement (tableau N° 04) ; il constituait d'ailleurs le principal motif de consultation.

Les autres symptômes :

- symptômes digestifs :

Anorexie surtout au stade finale de la maladie.

- symptômes urinaires :

Hypertrophie rénale ou douleur à la miction.

- Ganglions :

L'hypertrophie ganglionnaire touchant en majorité les poplités.

- La peau :

Des ulcérations, furfures, dépilation surtout autour des yeux signe de lunettes

- Appareil locomoteur :

Parfois boiterie des membres postérieurs.

L'onychogribose et l'épistaxis sont également observés chez quelques chiens

Remarque :

L'atteinte rénale, hépatique et splénique, sera confirmée lors des autopsies.

Tous les renseignements concernant ces animaux ainsi que tous les résultats enregistrés, lors de notre étude étaient consignés par des fiches cliniques (voir annexe N° II).

Chez les 11 chiens malades, 10 soit 90,90 % les symptômes étaient caractéristiques de la maladie.

Pour Gradoni (2002), le diagnostic de la leishmaniose canine basé sur les signes cliniques n'est pas fiable, car, à l'examen clinique, plus de 50% des chiens infectés sont apparemment sains "chiens asymptomatiques" alors que pour Harrat et Belkaid (2002), 30% de chiens leishmaniens n'avaient des signes cliniques. Ce résultat est proche de celui rapporté par Djerbouh A (2006) et par Rami et al. (2003) avec 28 % de chien asymptomatiques.

Ce taux tombe à 25 % (Harrat et Belkaid, 2002).

Blavier et al. (2001), ont rapporté que le tableau clinique de la leishmaniose est polymorphe, d'où un diagnostic clinique impossible.

RESULTATS ET DISCUSSION

Papadopoulou et al. Ont enregistré un pourcentage élevé de 45.4% de chiens asymptomatiques.

Cesbron et Capron (1992) rapportent les résultats de Hipolito et al (1965) avec plus de 30% des chiens infectés au Brésil n'ont pas une symptomatologie apparente.

Rahal 1998 a rapporté un pourcentage de 23.25% de chiens asymptomatiques.

Il est donc important de considérer les chiens asymptomatiques comme un facteur de risque épidémiologique puisque son diagnostic échappe aux vétérinaires cliniciens.

TABLEAU N° 4 : Tableau comparatif des symptômes des chiens leishmaniens

Les symptômes	Rahal (1998) N= 43	Amara et al. (2003) N=18	Djerbouh A (2006) N= 60	Ciaram ella (1997) N=150	Koutinas (1999) N=158	Nos résultats (2007/2008) N=11
Amaigrissement	100	50	67.44	/	/	81.81
Anémie	37.21	27	14	/	/	54.54
Troubles cutanés	95.35	/	/	56	81	63.63
Onychogribose	48.84	44	19	24	30.5	36.36
Adénopathie	95.35	100	72	88.7	65.2	72.72
Signe de lunettes	20.39	33	12	16	24.1	36.36
Kératite	/	33	9	/	/	36.36
Conjonctivite	/	61	12	/	/	/

RESULTATS ET DISCUSSION

I.2 RESULTATS SELON LE SEXE DES CHIENS

Nous remarquons dans notre échantillon canin, la prédominance des mâles « 104 » soit (56.21 %) par rapport aux femelles « 81 » soit (43.78 %).

Donc, nous avons constatées la prédominance de la leishmaniose canine dans le sexe mâle.

Sur 104 males prélevés 8 étaient positif.

Sur 81 femelles prélevées 3 étaient positif.

TABLEAU N° 5 : Incidence de la leishmaniose selon le sexe.

Le sexe	Le nombre total	Le nombre des positifs	Le nombre des négatifs	Pourcentage De chiens leshmaniens (%)
♂	104	8	96	72.72
♀	81	3	78	27.27

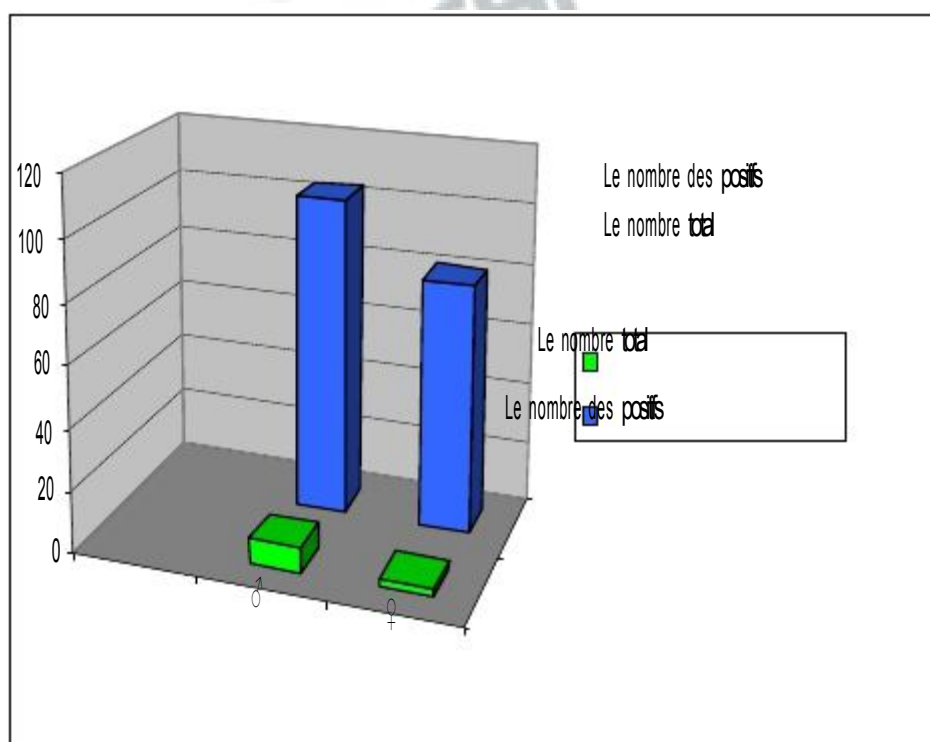


FIGURE N° 8 : Répartitions de la leishmaniose canine selon le sexe.

Zaffaronni et coll, (1999) En Italie, Harrat et al en Algérie (1995), considèrent que les chiens de sexe mâle sont plus sensibles à la leishmaniose, que les femelles.

Rahal (1998) ; 60.47% pour les males et 39.57 % pour les femelles. Ce résultats est proche de celui rapporté par Djerbouh A (2006) 65% males et 35% femelles,et Bellazoug (1985) qui a obtenu une répartition de 65.8% dans le sexe masculin et 34.2% dans le sexe féminin chez l'homme.

Au Maroc, (Rami et al, 2003) ont rapporté qu'il n' y a pas de différence de prévalence de l'infection entre les deux sexes.

Dans notre étude, nous avons obtenus des résultats comparables à ceux de Rahal, Djerbouh A, mais nous pensons que c'est l'importance de l'effectif sexe masculin (104 chiens) qui est largement plus important que l'effectif femelle (81 chiennes). Et non pas a la réceptivité de la maladie.

I.3 RACES DES CHIENS ATTEINTS

Alors que l'effectif étudié est composé de 14 races, seulement 02 races sont apparues atteinte, il s'agit :

- la race berger allemand avec 10 cas sur 11 soit 90%, c'est-à-dire que parmi la totalité des chiens bergers allemands (59), 17 % se sont révélés malades.
- le 11° était un chien de chasse. (asymptomatique).
- La race commune représente (17.29 %) des l'effectif étudié mais aucun cas détecté.

Plus de la moitié de l'effectif étudié étaient représentait par des chiens de races avec une atteinte plus élevé chez le berger allemand (90.90%) nous ne pensons pas que le berger allemand soit une race particulièrement sensible a la leishmanioses nos résultats peuvent alors être interprète de la manière suivante :

- la race de berger allemand est la plus importante en effectif dans notre étude (59/185).
- au sien de notre société le berger allemand est le mieux préfère de toutes les races de chiens.

Nos résultats collaborent avec ceux enregistrés par :

Benrahmoune et al, révèlent une prévalence dominante de la leishmaniose chez les chiens de race Berger Allemand (18,86%). Cette prévalence est liée au fait que cette race est celle qui est la plus importante en effectif (465 Berger Allemand sur un total de 615 chiens testés).

Harrat et collaborateurs ont noté sur un total de 1.223 chiens prélevés, 338 Berger Allemand séropositifs (75,9%).

RESULTATS ET DISCUSSION

Djrbouh A 2006 : sur un total de 305 chiens prélevés 54% étaient de race Berger Allemand, suivi 15% pour la race commune.

Bouratbine et al en 2005, en Tunisie, observent une sensibilité plus élevée chez les chiens européens 81%.

Tandis que ; Rahal 1998 : rapportent que 32.56% des chiens positifs étaient de race berger allemand et 37.21 de race commune sur un effectif de 350 chiens.

I.4 RESULTATS SELON L'AGE DES CHIENS :

Nous avons constaté que le pourcentage le plus élevé de chiens leishmanien était dans la tranche d'âge entre 2 ans et 3 ans (54.54%), suivi de la tranche d'âge 4 ans – 5 ans (18.18%). Aucun cas chez les jeunes chiens de moins de 6 mois (0%).

TABLEAU N° 6 : La fréquence de la leishmaniose canine selon l'âge des chiens.

	age	Effectif total	effectif de chiens leishmaniens	(%)
01	[0-6 mois]	26	0	0
02] 6 mois - 1 an]	29	1	9.09
03] 1 an - 2 ans]	25	1	9.09
04] 2 ans – 3ans]	41	6	54.54
05] 3 ans – 4 ans]	33	0	0
06] 4 ans – 5 ans]	18	2	18.18
07	+ de 5 ans	13	1	9.09

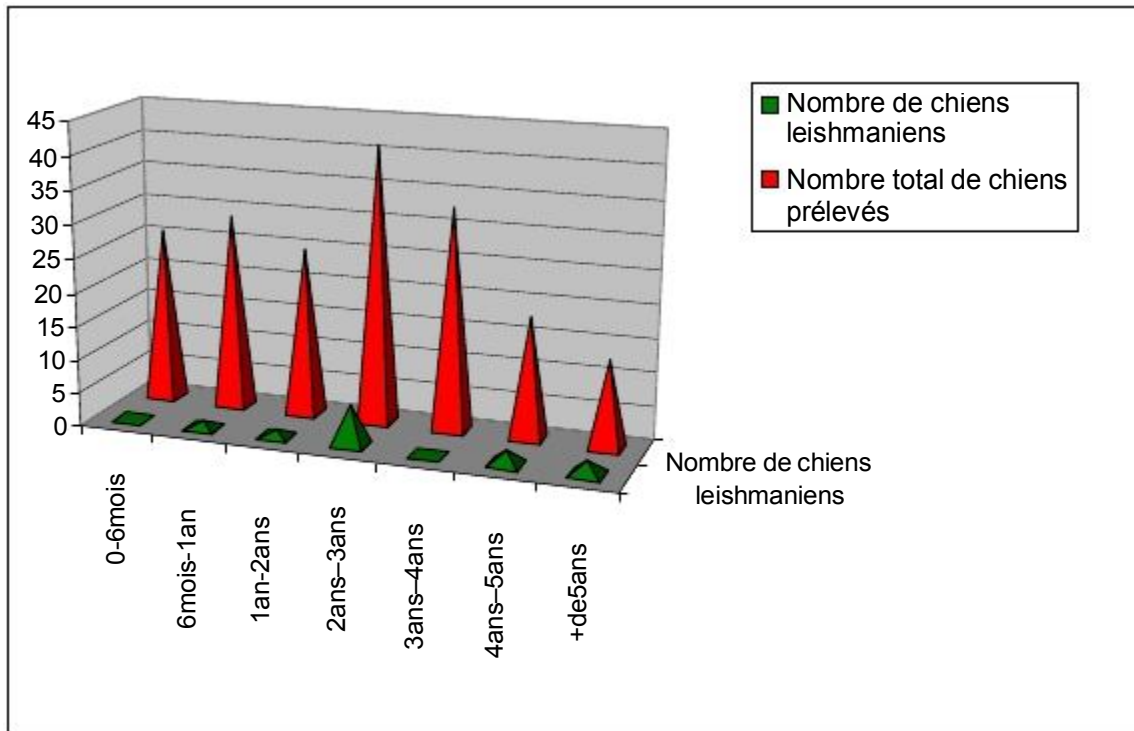


FIGURE N° 9 : répartition de la leishmaniose selon l'âge.

Nos résultats ont révélé l'atteinte des jeunes chiens dont 54.54% étaient dans la tranche d'âge entre 2- 3 ans et 0 % moins de 6 mois.

Harrat et ses collaborateurs, révèlent une plus grande sensibilité chez les chiens âgés entre 2 ans et 3 ans.

Benrahmoune et collaborateurs, ont observé une prévalence de la leishmaniose élevée aussi bien chez les chiens âgés de plus de 3 ans que les chiens âgés de plus de 8 ans (2000 ; 35,96% ; 2002 ; 16,67%) et encore plus élevée (2000 ; 31,27%, 2002 ; 19,65%).

Djrbouh A (2006), la leishmaniose canine est élevée chez les chiens âgés entre 2 et 4 ans (50%), suivis des chiens âgés de 4 à 6 ans (33%).

Rahal F (1998), 34.88% pour les chiens de moins de 2 ans et 30.23 % pour les chiens âgés de 2 à 4 ans.

Au Maroc, Rami et ses collaborateurs en 2003, ont observé que la leishmaniose est significativement élevée chez les chiens âgés de plus de 4 ans.

Bachi (1997), Belkaid et Harrat (1998) rapportent des résultats confirmant l'atteinte des jeunes enfants moins de 5 ans pour la leishmaniose humaine.

Nos résultats collaborent avec ceux obtenus par Djrbouh A et Harrat .

I.5 RESULTATS DU DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE :

I.5.1 Le leuco-formol gélification

Le test de LFG était a 100% positif (sur tout les chiens qui ont présenté des signes évoquant la leishmaniose) et aussi on a noté des réactions positif de test avec des chiens négatifs parce que c'est un test d'orientation il mets en évidence l'existence de parasitose et non spécifiquement leishmanioses.



PHOTO N° 7 : réactions de LFG formation de gel

La positivité de ce test indique un déséquilibre sérique interprétant une augmentation notable d'un taux de globulines qui joint à une chute de l'albumine entraîne une inversion de rapport Albumine/Globuline inférieur a 1.

RESULTATS ET DISCUSSION

Pour juger de la qualité du test LFG (tableau N° 07), nous avons utilisés la méthode de coloration MGG comme test de référence.

TABLEAU N° 7 : Qualité du test de LFG par rapport au test MGG

	Maladie présente (MGG +)	Maladie absente (MGG -)
Test +	A = VP (vrais positifs): Ce sont les individus atteints chez lesquels le signe est présent. 10	B = FP (Faux positifs) Le signe est présent et les individus ne sont pas atteints 166
Test -	C = FN (Faux Négatifs) Ce sont les individus atteints chez lesquels le signe est absent 1	D = VN (Vrais Négatifs) Le signe est absent et les individus ne sont pas atteints 08

La sensibilité : $A / (A+C) = 90\%$

La spécificité : $D / (B+D) = 4.5\%$

Le test de leucoformol gelification est un test d'orientation cites par (Leray D et al 1973; Manson-bahr pc 1987; Marc Wery et al 1995).

- Donatien et lestquard l'appliquent au diagnostic de la leishmaniose canine. (Mahine et al., 1985).

- Ce test à une spécificité de 87% et une sensibilité de 98%. (Bourdeau., 1996).

I.5.2 Hématocrite : chez un chien normal elle est de 44 a 57%.

Après centrifugation on place le tube capillaire sur une lame de lecture de l'hématocrite.

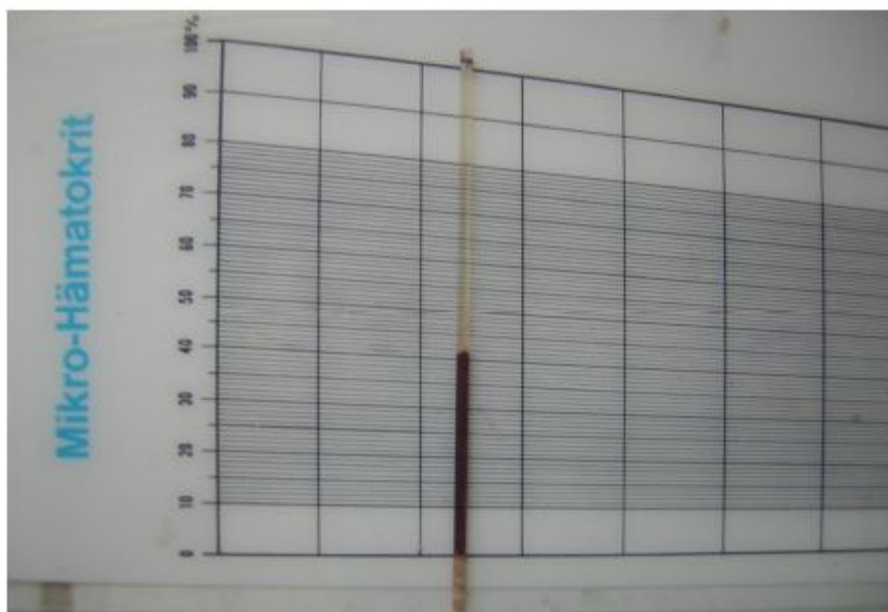


PHOTO N° 8 : hématocrite d'un chien leishmanien (40%)

Dans ce cas l'hématocrite est de 40 et c'est une valeur inférieure à la normale, ce qui confirme l'anémie.

I.5.3 la vitesse de sédimentation (VS) chez un chien normal la sédimentation commence après la 1^{re} heure (elle était accélérée pour tous les cas positifs et aussi pour des cas négatifs qui avaient des infections autres que la leishmaniose). Exemple de premier cas :

- après 6 mn début de la sédimentation.
- après 20 mn sédimentation évidente 22 mm.
- après 1 h, 52 mm la vitesse de sédimentation est accélérée.

RESULTATS ET DISCUSSION

Ce résultat est presque similaire à celui donné par (Groulade, 1979) quia rapporté une VS de 32 mm a 15 mn et 70 mm à 1h.

Cette accélération de la VS est attribuée à la modification du rapport Albumine/Globuline et des protéines plasmatiques, cependant une VS normale n'exclue pas la maladie (Niemand et suter, 1992).

Les résultats de vitesse de sédimentation (VS) et de l'hématocrite pour tous les chiens positifs et négatifs dans l'annexe.I

I.5.4 La coloration MGG :

La coloration MGG nous a permis de mettre en évidence le parasite et de le voir au niveau de certaines cellules (PHOTO N° 09 ; 10) et en même temps d'établir la formule leucocytaire dont les résultats figurent dans le tableau N° 08.



PHOTO N° 9 : coloration de MGG

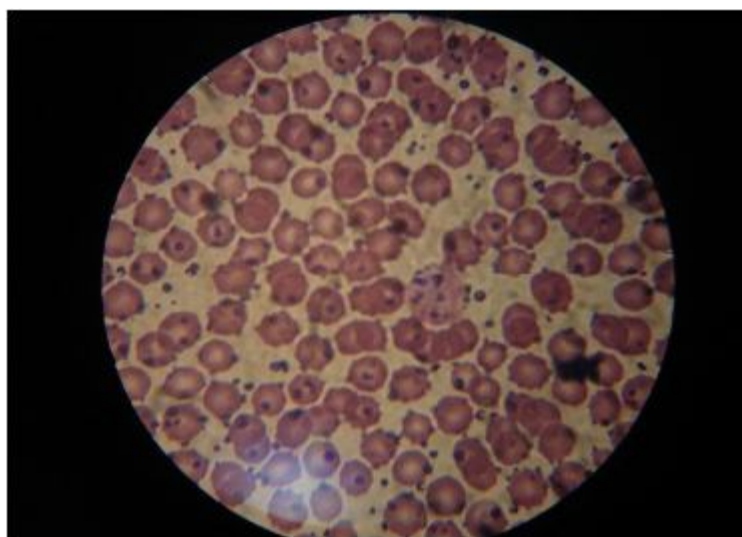


PHOTO N° 10 : observation sous microscope.

TABLEAU N° 8 : récapitulatifs des différents paramètres étudiés chez les chiens positifs avec les valeurs d'un chien normal.

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	Normes (Gregory, 2007)
hématocrite	33	26	37	49	29	44	52	49	31	29	47	44-56 %
hématies	35	28	39	51	31	46	54	51	33	31	49	5.5-8.5x 10⁶/mm³
leucocytes	21	18	22	26	19	33	6	19	16	22	27	6-17 x 10³/mm³
Lymphocytes	53	46	39	41	37	50	49	33	46	51	39	13-30%
monocytes	18	40	9	10	9	11	21	22	14	18	12	0-5%

La diminution du nombre des hématies indique l'existence d'une anémie qui a été confirmée par les valeurs de l'hématocrite.

Niemand et suter (1992) décrivent aussi une anémie normocytaire hypochrome chez les chiens leishmanieus.

Le nombre de leucocytes pour les cas (7) et (9) est de valeur normale par rapport aux autres chiens. Groulade et al (1979) notent un nombre de leucocytes de (7 à 10) 10³ GB/mm³

RESULTATS ET DISCUSSION

pendant les deux premiers mois de la maladie. Arbeiter et al, (1976) ont établi les variations biologiques des leucocytes et ont observé souvent la même évolution en 3 phases : une phase neutrophile de combat, une phase monocytaire de défense ou de victoire et une phase lymphocytaires et éosinophilique de guérison, et ils sont constatés que les jeunes chiens ont plus de lymphocytes que les adultes.

TABLEAU N° 9 : sensibilité et spécificité du diagnostic clinique

	Maladie présente (MGG+)	Maladie absente (MGG -)
Signe présent	A = VP (vrais positifs) Ce sont les individus atteints chez lesquels le signe est présent. 10	B = FP (Faux positifs) Le signe est présent et les individus ne sont pas atteints. 133
Signe absent	C = FN (Faux Négatifs) Ce sont les individus atteints chez lesquels le signe est absent 1	D = VN (Vrais Négatifs) Le signe est absent et les individus ne sont pas atteints 41

La sensibilité : $A / (A+C) = 90\%$

La spécificité : $D / (B+D) = 23\%$

Dans notre étude pour le diagnostic de la leishmaniose par observation de forme amastigotes à l'intérieur de monocytes on a utilisé la coloration de Giemsa.

Bellazoug a utilisé cette technique sur 282 frottis de peau en vue d'un diagnostic de la leishmaniose cutanée chez l'homme et a trouvé une positivité dans 251 frottis soit une sensibilité de 89 %.

L'OMS ; (1984), une sensibilité de 98% en ce qui concerne la mise en évidence du parasites dans la pulpe splénique par coloration de Giemsa. Et de 64% pour le suc gonglionnaire.

RESULTATS ET DISCUSSION

Wery ; (1995) ; a rapporté une sensibilité de 100% sur frottis de la rate quant à l'examen de suc gonglionnaire la sensibilité était de 60%.

Rahal (1998) a trouvé un pourcentage de 88.37 % sur 350 échantillons.

Groulade et al (1979) ; démontrent que la coloration de Giemsa des frottis de la ponction gonglionnaire est une méthode sûre au de but de la maladie moins sûre a la période d'état.

Michel G (1995) ; La sensibilité de l'examen est de pratiquement 100% pour un examen de frottis de la ratte.

I.5.5 Witness *Leishmania* :

Après les tests de LFG et la coloration de MGG on a utilisé des kits de WITNESS TEST chez quelques chiens pour confirmer l'affection lorsque la coloration de MGG fournit des résultats douteux.



PHOTO N° 11 : réaction positive d'un chien leishmanien avec le witness test.
(Présence de deux bandes au niveau des repères 2 et 3)

TABLEAU N° 10 Récapitulatif des sensibilités et spécificité des test utilisés.

	sensibilité	spécificité
LFG	90	4.5
clinique	90	23

En effet, le test SpeedLeish de laboratoire BVT a été utilisé par Bianchi en 2001 et Rivo en 2000. Le premier (Bianchi) à obtenu une sensibilité de 98,8 % et une spécificité de 87 %, et le deuxième (Rivo, 2000) a obtenu une sensibilité 93 % et une spécificité de 97 %. Le résultat est obtenu en 20 minutes.

Djrbouh A (2006) sur (57 sérums tests), a utilisé le test Witness *Leishmania*® a trouve une sensibilité de 75 % et une spécificité de 88.7 %.

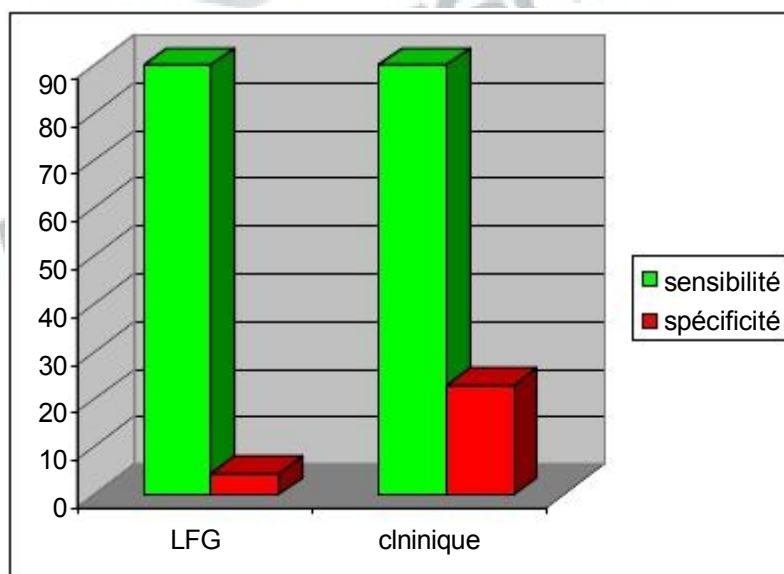


FIGURE N° 10 : La sensibilité et la spécificité de chaque test utilisé

I.6 AUTOPSIE :

Chez les chiens leishmaniens l'hypertrophie de la rate et de foie qui sont les principaux caractères de la leishmaniose viscérale ont été confirmés après l'autopsie ; l'hypertrophie de ces organes confirme de plus en plus l'hyperplasie du système de phagocyte, mononucléaire qui se localise dans ces organes.

Bouree et Belec (1993) rapportent 19 cas d'hépatosplénomégalie sur un effectif de 33 soit 86,36 %.

Bachi et al (1997), Belkaid et al (1992), Belkaid et Harrat (1998), Hireche (1991) ; retrouvent, lors de leurs recherches la triade classique « fièvre – pâleur – splénomégalie ». Rahal (1998) a évalué ces signes chez le chien avec des pourcentages de 97,67% pour la fièvre, 90,70% pour l'adénopathie, 95,35 % pour la splénomégalie et 74,42% pour l'hépatomégalie.

Les lésions sont illustrées dans les photos suivantes.

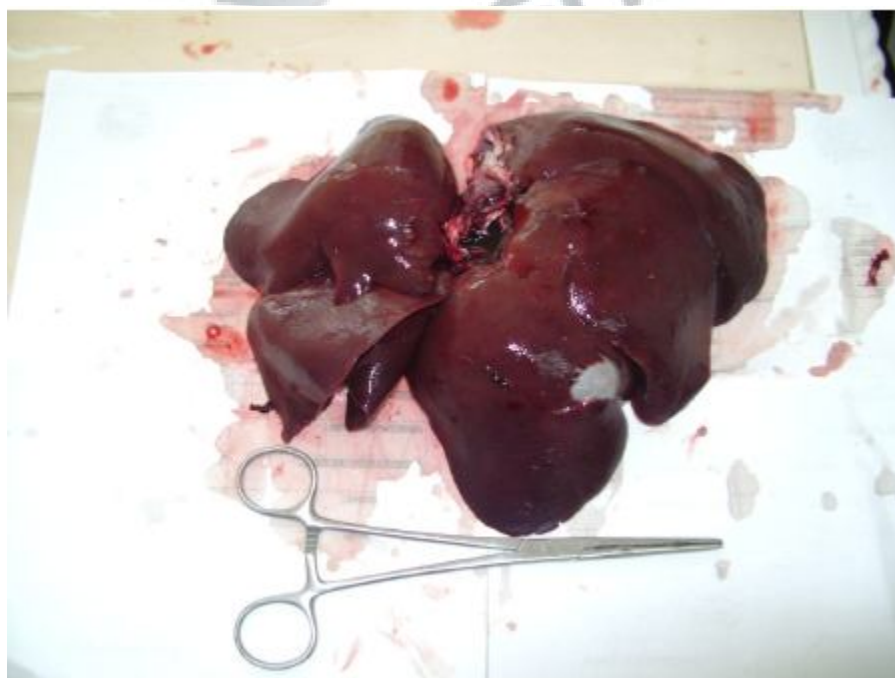


PHOTO N° 12 : hépatomégalie chez un chien leishmanien



PHOTO N° 13 : splénomégalie



PHOTO N° 14 : Néphrite hémorragique

RESULTATS ET DISCUSSION

On conclure :

La séroprévalence de la leishmaniose canine qui était de 37.5% pour 120 sérums testés (Bellazzoug 1987) a Tizi-ouzou , a chuté à 25 % (Belkaid et Harrat ; 1998) foyer de la grande Kabylie puis 23,56% pour 191 sérums testés (Garni ,2001) est nettement supérieur de la prévalence obtenu dans notre étude qui était de 5.94% sur 185 prélèvements mais (Rahal, 1998) a rapporté une prévalence proche de la notre 12.29% et (Otamires et al 2005 , Brésil) ; 12.3% sur 503 prélèvements testés (Djerbouh, 2006) 17.38% pour 305 sérums testés. (Bellazzoug, 1985) a Tlemcen 16.66% « Beni bahdel » et 10.25% beni saf.

Cette baisse peut être liée aux faits suivants :

- 1- facteurs écologiques et le taux d'endemicité de chaque région selon (Bellazzoug 1985) la wilaya de Tizi-ouzou se révèle comme une zone de forte endemicité celle de Media comme d'endemicité moyenne, et par contre a Tlemcen l'endemicité est plus faible. Et a déduit de son étude que c'est l'étage bioclimatique sub humide qui semble offrir les meilleures conditions de circulation de parasites. (la région de Tiaret est caractérisé donc par une endemicité pareille a celle de Tlemcen, toutes les deux étant situées dans le même étage bioclimatique semi aride.
- 2- Une grande sensibilisation des vétérinaires par les différentes journées techniques.
- 3- augmentation de nombre de cabinet vétérinaire privé.

CONCLUSION GENERALE

Au terme de ce travail on peut conclure ce qui suit :

La prévalence de la maladie est importante avec une hétérogénéité de symptôme ce qui a permis d'avoir une idée sur la symptomatologie allant d'un animal asymptomatique à l'animal sévèrement atteint ainsi que sur le mode d'évolution de cette pathologie chez l'espèce canine avec des variations en fonction de sexe, age, race. Un diagnostic de laboratoire doit suivre toute suspicion clinique d'une leishmaniose canine afin de permettre au clinicien d'entreprendre la conduite nécessaire.

La mise en évidence du parasite par la méthode de MGG qui est une technique d'usage courant dans les laboratoires s'est révélé moins spécifique que les méthodes sérologiques. « Witness test ». donc l'emploi de techniques sérologiques et immunologiques serait d'une importance cruciale à définir les autres aspects de la leishmaniose canine.

La recherche du parasite chez d'autres mammifères (Rongeurs, Chats...) pourra préciser la place de chacun dans les complexes pathogènes de *leishmania*.

Nos résultats ont évoqué l'intérêt de poursuivre dans des études épidémiologiques plus approfondie de la leishmaniose dans la wilaya de Tiaret.

Afin d'évaluer avec précision la leishmaniose en Algérie, nous proposons de

*Mettre à la disposition des vétérinaires praticiens un kit (Immuno-migration) leur permettant de poser un diagnostic rapide.

* Le diagnostic parasitologique par la culture du sang et du suc ganglionnaire doit être réalisée de façon systématique afin d'identifier les souches de leishmania (typage iso-enzymatique).

Au terme de cette étude nous pensons avoir participer a éclaircir certains aspects de la leishmanioses canine a Tiaret.

AMARA A., BOUABDALLAH H., HABIBJEMLI M. et REJEB A., 2003

Les manifestations oculaires chez les chiens leishmaniens.

Point Vétérinaire, **34**, 235, p 50-55.

ANDREWS R.H., HANDMAN E., ADAMS M., BEVERSTOCK P.R. & MITCHELL

G.F. (1988). Genetic characterization of *Leishmania* isolates at 37 enzyme loci. *Int. J.*

Parasitol., **18**, 445–452.

ASHFORD D.A., BADARO R., EULALIO C., FREIRE M., MIRANDA C., ZALIS

M.G. & DAVID J.R. (1993). Studies on the control of visceral leishmaniasis: validation of the Falcon assay screening test-enzyme linked immunosorbent assay (FAST-ELISA) for field diagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **48**, 1–8.

AMBROISE –THOMAS P. ET GOLVAN J., 1994.

Les nouvelles techniques en parasitologie et immunologie

Flammarion Médecine – Sciences, p 298.

DJERBOUH. A 2006.

Etude de la leishmaniose canine dans la willaya d'Alger. Mémoire de magister ENVA; 185.

**AOUN K., DIOUANI MF., BENIKHELEF R., BOURATBINE A., BEN HAJALI S.,
HARRAT Z., BELKAID M., KILANI M. ET BENISMAIL R., 2003.**

Leishmania infantum MON -1 : Seul zymodème isolé chez les chiens leishmaniens en Tunisie

Bull. Soc. Pathol. Exot. May, **96**(2),p 77-9.

BACHI F., 2001

Amélioration des moyens de diagnostic des leishmanioses en Algérie

Thèse de Doctorat en médecine de la faculté de Médecine de l'Université d'Alger.

BADARO R., BENSON D., EULALIO M.C., FREIRE M., CUNHA S., NETTO E.M.,

PEDRAL-SAMPAIO D., MADUREIRA C., BURNS J.M., HOUGHTON R.L.,

DAVID J.R. & REED S.G. (1996). rK39: a cloned antigen of *Leishmania chagasi* that predicts active visceral leishmaniasis. *J. Infect. Dis.*, **173**, 758–761.

BOELAERT M., EL SAFI S., JACQUET D., DE MUYNCK A., VAN DER STUYFT P. & LE RAY D. (1999). Operational validation of the direct agglutination test for diagnosis of visceral leishmaniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **60**, 129–134.

BELLAZOUG ; TABET ; DERRAR O 1982 la leishmanioses viscerale en algerie recencements des cas diagnostiques entre 1975 et 1980. *bull.soc.path.ext* ;75,169-173.

BELAZZOUG S., LANOTTE G., MAAZOUN R., PRATLONG F. et RIOUX JA., 1985.

Un nouveau variant enzymatique de leishmania infantum Nicolle, 1908, agent de la leishmaniose cutanée du nord de l'Algérie.

Ann.Parasit. Hum. Comp, **60**, p 1-3.

BELAZZOUG S., 1986 a.

Decouverte d'un *MERiONES SHAWI* (*RONGEUR, GERBILLIDAE*) naturellement infesté par *Leishmania* dans le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de Ksar Chellala (Algérie). *Bull. Soc. Path. Ex*, **79**, p 630-633.

BELAZZOUG S., 1987.

La leishmanie en Algérie

Maghreb Vétérinaire, **3**, p 11-13.

BENRAHMONE A., HARITI W., GACI N., 2003.

Cotribution à une étude épidémiologique et statistique de la leishmaniose canine dans l'Algérois

Mémoire de fin d'études – université Saad Dahleb – Blida

BIANCHI D., 2001.

Evaluation de Speed Leish pour le diagnostic de la leishmaniose canine.

Thèse de Doct vet .lyon

BOURDEAU P., 1996

Elements pratique du diagnostic de la leishmaniose canine.

Point Vet. **15 (72)** : p 4-50

CESBRON J.Y. et CAPRON A 1990. Résistance envers les protozoaires: immunologie animal (PP Pastoret, A.Goovaerts et H.Bazin) Ed Flammarion, Paris,pp 271-272.

CIARAMELLA P., OLIVA G., DE LUNA R., GRADONI L., AMBROSIO R., CORTESE L. SCALONE PERSECHINO A., 1997 .

A retrospective clinical studies of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*.

Veterinary Record, **141**, p 539-943.

DE BRUJIN M.H.L., LABRADA L.A., SMYTH A.J., SANTRIC C. & BARKER D.C.

(1993). A comparative study of diagnosis by the polymerase chain reaction and by current clinical methods using biopsies from Colombian patients with suspected leishmaniasis. *Trop. Med. Parasitol.*, **44**, 201–207.

DUBE A., SHARMA P., SRIVASTAVA J.K., MISRA A., NAIK S. & KATIYAR J.C.

(1998). Vaccination of langur monkeys (*Presbytis entellus*) against *Leishmania donovani* with autoclaved *L. major* plus BCG. *Parasitology*, **116**, 21–221.

EVANS D.A. (1987). Leishmania. *In: In-Vitro Methods for Parasite Cultivation*, Taylor A.E. & Baker J.R., eds. Academic Press, London, UK, 52–75.

GARNI R., 2001.

La leishmaniose canine aspect épidémiologique et caractérisation iso –enzymatique de la souche de *leishmania* isolée de chiens dans l'algérois

U.S.H.T.B.

GRADONI L., 2002.

Diagnostic : les nouvelles techniques-

L'action vétérinaire n° 1579.

GROULADE P., 1977.

Hématologie et biologie clinique dans la leishmaniose

Prat. Med. et Chir. de l'Anim de Comp ; 121-128.

GROULADE P ; ANDRAL L ; LESCURE F ; GAMET A et MEYNARD J.A. 1979

clinique canine : medecine biologie clinique petite chirurgie .2eme édition .Maloine S.A ; pp 65-71.

GREGORY 2007 détermination des valeurs usuelles biochimiques et hématologiques chez le chien thèse de doctorat. Faculte de medecine de Creteil.

GRADONI L. (2001). An update on antileishmanial vaccine candidates and prospects for a canine *Leishmania* vaccine. *Vet. Parasitol.*, **100**, 87–103.

GRADONI L., SCALONE A. & GRAMICCIA M. (1993). HIV-*Leishmania* co-infections in Italy: serological data as an indication of the sequence of acquisition of the two infections. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **87**, 94–96.

GRAMICCIA M., SMITH D.F., ANGELICI M.C., READY P.D. & GRADONI L. (1992). A kinetoplast probe diagnostic for *Leishmanis infantum*. *Parasitology*, **107**, 509–517.

HARRAT Z., HAMRIOUI B., BELKAID M., ET Tabet DERRAZ, 1995b.

Point actuel sur l'épidémiologie des leishmanioses en Algérie.

Bull. Soc. Pathol. Exot., **88**, p. 180-184.

HARRAT Z., PRATLON G., BENIKHEF R., CHAFFA N., LAMI P., LEFEBVRE M., MARTINI A., ROUQUAINOL C., BENDALI BRAHAM S., BELKAID M., ET DEDET JP., 1995c.

Identification isoenzymatique de 58 isolats de *Leishmania* d'origine humaine et canine obtenue en Algérie.

Arch. Inst. Pasteur Algérie. **60**, p. 167-175

HARRAT Z., ET BELKAID M., 2002.

Les leishmanioses dans l'algérois, donnée épidémiologiques.

6^e congrès international francophone de médecine tropicale "santé et urbanisation en Afrique " (Dakar, octobre ,2002)

HARITH A.E., KOLK A.H.J., LEEUWENBURGH J., MUIGAI R., HUIGEN E., JELSMA T. & KAGER P.A. (1988). Improvement of a direct agglutination test for field studies of visceral leishmaniasis. *J. Clin. Microbiol.*, **26**, 1321–1325.

HARITH A.E., SLAPPENDEL R.J., REITER I., VAN KNAPEN F., KORTE P.D., HUIGEN E. & KOLK A.H.J. (1989). Application of a direct agglutination test for detection of specific anti-*Leshmania* antibodies in the canine reservoir. *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 2252–2257.

HART D.T. (1989). Leishmaniosis. The Current Status and New Strategies for Control. NATO ASI Series. Ser. A: Life Sciences, Vol. 163. Plenum Press, New York, USA, 1041 pp.

HOUGHTON R.L., PETRESCU M., BENSON D.R., SKEIKY Y.A.W., SCALONE A., BADARO R., REED S.G. & GRADONI L. (1998). A cloned antigen (recombinant K39) of *Leishmania chagasi* diagnostic for visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus type 1 patients and a prognostic indicator for monitoring patients undergoing drug therapy. *J. Infect. Dis.*, **177**, 1339–1344.

IZRI M A., BELAZZOUG S., BOUDJEBLA Y., DEREURE J., PRATLONG S., DELALBRE –BELMONTE ET RIOUX JA ., 1990
Leishmania infantum MON -1 isolé de *phlebotomus perniciosus* ,en Kabylie Algerie
Ann,parasitol,Hum .Comp .**65**,151-152.

IZRI MA. ET BELAZZOUG S., 1993
Phlebotomus larrousius perfiliew naturally infected with dermatropic Leishmania infantum at Tenes , Algeria .
Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.,**87**, p.399.

KOUTINAS AF., POLIZOPOULOU Z., SARIDOMICHELAKIS M.N., ARGYRIADIS D., FYTIANO. A., PLEVRAKI J.G., 1999.
Clinical considerations of canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996).
JAAHA, **35**, p. 376 -383.

KREIER J.P. & BAKER J.R. (1987). Parasitic Protozoa. Allen & Unwin, Boston, USA, 49–59.

MAARTEN H.L., DE BRUJIN M.H.L. & BARKER D.C. (1992). Diagnosis of New World leishmaniasis: specific detection of species of the *Leishmania braziliensis* complex by amplification of kinetoplast DNA. *Acta Trop.*, **52**, 45–58.

MANCIANTI F., FALCONE M.L., GIANNELLI C. & POLI A. (1995). Comparison between and enzyme-linked immunosorbent assay using a detergent-soluble *Leishmania infantum* antigen and indirect immunofluorescence for the diagnosis of canine leishmaniosis. *Vet. Parasitol.*, **59**, 13–21.

MANSON-BAHR P.C. (1987). Diagnosis. *In: The Leishmaniasis in Biology and Medicine. Vol. II. Clinical Aspects and Control*, Peters W. & Killick-Kendrick R., eds. Academic Press, London, UK, 703–729.

MATHIS A & DEPLAZES P. (1995). PCR and *in vitro* cultivation for detection of *Leishmania* spp. in diagnostic samples from humans and dogs. *J. Clin. Microbiol.*, **33**, 1145–1149.

MAURICIO I.L., STOTHARD J.R. & MILES M.A. (2000). The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasitol. Today*, **16**, 188–189.

MAYRINK W., GENARO O., FRANCA SILVA J.C., DA COSTA R.T., TAFURI W.L., PEIXOTO TOLEDO V.P.C., DA SILVA A.R., BARBOSA REIS A., WILLIAMS P. & DA COSTA C.A. (1996). Phase I and II open clinical trials of a vaccine against *Leishmania chagasi* infections in dogs. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **91**, 695–697.

MOLYNEUX D.H. & ASHFORD R.W. (1983). The Biology of *Trypanosoma* and *Leishmania*. Parasites of Man and Domestic Animals, Taylor & Francis, London, UK, 185–250.

MICHEL GUILLOU (1995): *Protozoologie Médicale*, collection Universités francophones. PP: 123 -128.

NIEMAND H.G et SUTER P.F 1992 ; pratique de la clinique canine .Ed . Vigot, Paris,pp 218-219.

OZBEL Y., OSKAM L., OZENSOY S., TURGAY N., ALKAN M.Z., JAFFE C.L. & OZCEL M.A. (2000). A survey on canine leishmaniasis in western Turkey by parasite, DNA and antibody detection assays. *Acta Trop.*, **74**, 1–6.

ORGANISATION MONDIALE DE SANTE 1984 les leishmanioses série de rapport techniques n 701, Geneve.

PIARROUX R., AZAIEZ R., LOSSI A.M., REYNIER P., MUSCATELLI F., GAMBARELLI F., FONTES M., DUMON H. & QUILICI M. (1993). Isolation and characterization of a repetitive DNA sequence for *Leishmania infantum*: development of a visceral leishmaniosis polymerase chain reaction. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **49**, 364–369

PAPADOPOULOU C., KOUSTOULA., DIMITRIOU D., PANAGIOU A., BOBOJIANNI C., AND ANTONIADES G., 2005

Human and canine leishmaniasis in asymptomatic and symptomatic population in Northwestern Greece.
J. Infect., **50**, p.53-60.

QUINNELL R.J., COURTENAY O., DAVIDSON S., GARCEZ L., LAMBSON B., RAMOS P., SHAW J.J., SHAW M.A. & DYE C. (2001). Detection of *Leishmania infantum* by PCR, serology and cellular immune response in a cohort study of Brazilian dogs. *Parasitology*, **122**, 253–261.

RAHAL.F ; 1998

Incidence de la leishmanioses canine sur la santé humaine dans la willaya de Tiaret (étude clinique et hematologique). Mémoire de magister I.S.V.T ; 88.

RAMI M., ATATHOUCH T., SABRI M., CADI SOUSSI M., BENAZZOU T., AND DAKKAK A., 2003

Canine leishmaniasis in the Rif mountains (Moroccan Mediterranean): a seroepidemiological survey
Parasite, Mars ; 10(1): p.79-85.

RIOUX J.A. (1986). Leishmania. Taxonomie – Phylogénèse. IMEEE, Montpellier, France, 537 pp.

RIVO G., POGGI M, MIGONE W et MANCIANTI F ., 2000.

Immunomigrazione della diagnosi sierologica della leishmaniosi canina : prova comparative con l'immunofluorescenza indiretta .
Veterinaria ;anno 14 n° 2, agosto: p.61-64.

SCALONE A., DE LUNA R., OLIVA G., BALDI L., SATTI G., VESCO G., MIGNONE W., TURILLI C., MONDESIRE R.R., SIMPSON D., DONOGHUE A.R., FRANK G.R. & GRADONI L. (2002). Evaluation of the *Leishmania* recombinant K39 antigen as a diagnostic marker for canine leishmaniasis and validation of a standardized enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet. Parasitol.*, **104**, 275–285.

SEHGAL S., MITTAL V. & BHATIA R. (1987). Manual on Laboratory Techniques in Leishmaniosis. National Institute of Communicable Diseases, Delhi, India. 30. SHARIFI I., FEKRI A.R., AFLATONIAN M.R., KHAMESIPOUR A., NADIM A., MOUSAVI M.R., MOMENI A.Z., DOWLATI Y., GODAL T., ZICKER F., SMITH P.G. & MODABBER F. (1998). Randomised vaccine trial of single dose of killed *Leishmania major* plus BCG against anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Bam, Iran. *Lancet*, **351**, 1540–1543.

UNITED NATIONS DEVELOPMENT PROGRAMME/WORLD BANK/WORLD HEALTH ORGANIZATION (1984). Genes and Antigens of Parasites. A Laboratory Manual, Morel C.M., ed. Fundaao Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, 93–135.

UNITED NATIONS DEVELOPMENT PROGRAMME/WORLD BANK/WORLD HEALTH ORGANIZATION (1985). Characterization of *Leishmania* spp. by DNA Hybridization Probes. A Laboratory Manual, D.C. Barker, ed. WHO, Geneva, Switzerland, 1–57.

UNITED NATIONS DEVELOPMENT PROGRAMME/WORLD BANK/WORLD HEALTH ORGANIZATION (1989). Handbook on Isolation, Characterization and Cryopreservation of *Leishmania*, Evans D., ed. WHO, Geneva, Switzerland, 1–45, pp.

WERY et PASKOFF S.1995

Le genre leishmania. Les leishmanioses : « protozoologie medicale ». Agence francophone pour l'enseignement et la recherche de Boek Universite, n 11,123-136

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (1990). Control of leishmaniasis. Technical Report Series 793. WHO, Geneva, Switzerland, 1–158.

WHO ., 2000.


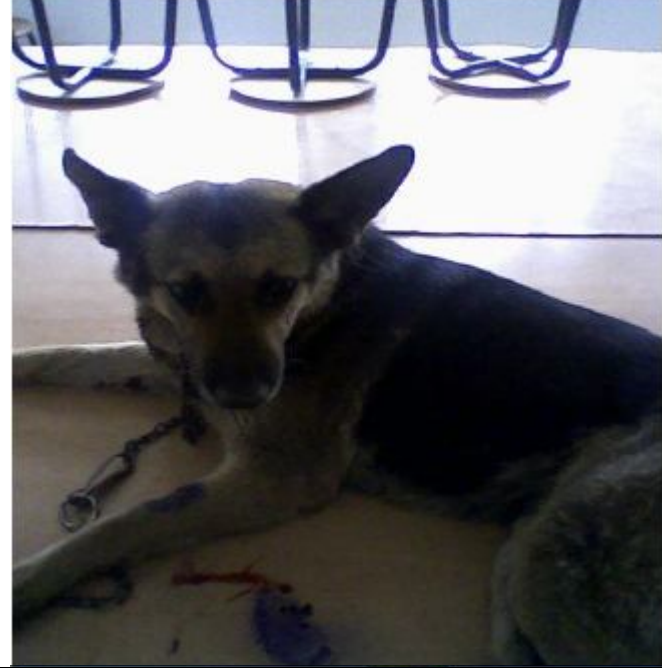

Leishmania and HIV co-infection.

Lepr .Rev .,71 ,1, p.104

**FICHE D'EXAMEN CLINIQUE DES CHIENS DE NOTRE ETUDE
AVEC LES PARAMETRES ETUDIES :**

SYMPTOMES OBSERVEES/ MOTIF DE CONSULTATION		RESULTATS DES TESTS
	<p>Amaigrissement signes oculaires chute de poils onycogriffose adénopathie <u>Autopsie</u> Splénomégalie Hépatomégalie</p>	<p>HC=33 VS =6 GR =35 GB=21 LY=53 MO=18</p>
	<p>Amaigrissement Onycogriffose Chute de poil adénopathie</p>	<p>HC=26 VS =24 GR =28 GB=18 LY=46 MO=40</p>

	<p>Amaigrissement Adénopathie Ulcères</p>	<p>HC=37 VS =42 GR =39 GB=22 LY=39 MO=9</p>
	<p>Amaigrissement Adénopathie Onychogribose ulcères</p>	<p>HC=49 VS =41 GR =51 GB=26 LY=41 MO=10</p>
	<p>Amaigrissement Adénopathie Onychogribose Chute de poil</p>	<p>HC=29 VS =9 GR =31 GB=13 LY=37 MO=31</p>




	<p>Amaigrissement Chute de poil</p>	<p>HC=44 VS =30 GR =46 GB=33 LY=50 MO=11</p>
	<p>amaigrissement</p>	<p>HC=52 VS =26 GR =54 GB=29 LY=49 MO=9</p>
	<p>Adénopathie Affection oculaire Chute de poil</p>	<p>HC=49 VS =40 GR =51 GB=13 LY=33 MO=22</p>




	<p>Affection oculaire Adénopathie amaigrissement</p>	<p>HC=31 VS =12 GR =33 GB=27 LY=46 MO=14</p>
	<p>Amaigrissement Adénopathie Signe oculaire Chute de poil</p>	<p>HC=29 VS =36 GR =31 GB=22 LY=51 MO=18</p>
	<p>Asymptomatique Motif de consultation : vaccination</p>	<p>HC=47 VS =48 GR =49 GB=27 LY=39 MO=12</p>

CHIENS DE L'ETUDE INDEMNES SYMPTOMES OBSERVEES/ MOTIF DE CONSULTATION		RESULTATS DES TEST
	vaccination	HC=50 VS = 66 GR =52 GB=7 LY=15 MO=2
	Diarrhée	HC=51 VS = 60 GR =53 GB=15 LY=13 MO=5
	Ingestion de corps étranger	HC=48 VS = 63 GR =50 GB=13 LY=28 MO=3

	<p>Rappel vaccinal</p>	<p>HC=54 VS =75 GR =56 GB=15.5 LY=20 MO=5</p>
	<p>Luxation de membre postérieur</p>	<p>HC=51 VS =58 GR =53 GB=6 LY=25 MO=5</p>
	<p>vaccination</p>	<p>HC=50 VS =74 GR =52 GB=16 LY=29 MO=3</p>

	<p>Anorexie vomissement</p>	<p>HC=48 VS = 63 GR =50 GB=16 LY=13.5 MO=4</p>
	<p>vaccination</p>	<p>HC=52 VS = 51 GR =54 GB=6.5 LY=15.3 MO=5</p>
	<p>Bronchite Chute de poil</p>	<p>HC=49 VS = 57 GR =51 GB=15.6 LY=14 MO=2.6</p>

	<p>Vaccination</p>	<p>HC=44 VS = 80 GR =46 GB=6.5 LY=27.6 MO=2.8</p>
	<p>Visite pour l'orientation à la chirurgie otectomie</p>	<p>HC=47 VS = 78 GR =49 GB=15.3 LY=14.2 MO=3</p>
	<p>Parasitisme externe tiques</p>	<p>HC=46 VS = 66 GR =48 GB=12.5 LY=19.6 MO=4.6</p>

	<p>Constipation</p>	<p>HC=52 VS = 60 GR =54 GB=6.8 LY=15.6 MO=2.1</p>
	<p>Visite pour orientation a la chirurgie</p>	<p>HC=52 VS = 58 GR =54 GB=14.2 LY=13.5 MO=1</p>
	<p>vaccination</p>	<p>HC=44 VS =69 GR =46 GB=16.4 LY=15.6 MO=2.3</p>

	<p>Anorexie Affection oculaire</p>	<p>HC=50 VS =70 GR =52 GB=7 LY=15 MO=2.4</p>
	<p>Traitement d'une plaie morsure</p>	<p>HC=49 VS =66 GR =51 GB=16.7 LY=16.6 MO=2.8</p>
	<p>Luxation</p>	<p>HC=51 VS =58 GR =53 GB=15.7 LY=15 MO=3</p>

	<p>vaccination</p>	<p>HC=56 VS =66 GR =58 GB=15.6 LY=15.7 MO=4.3</p>
	<p>vaccination</p>	<p>HC=46 VS =60 GR =48 GB=7.5 LY=14.6 MO=5</p>
	<p>Approche de mise bas (vitaminothérapie)</p>	<p>HC=55 VS =74 GR =57 GB=8.4 LY=27 MO=4</p>

	<p>vaccination</p>	<p>HC=54 VS =62 GR =56 GB=12.4 LY=15.8 MO=3</p>
	<p>caudectomie</p>	<p>HC=48 VS =59 GR =50 GB=8 LY=15 MO=2</p>
	<p>caudectomie</p>	<p>HC=46 VS =69 GR =48 GB=5.8 LY=19 MO=2</p>

	<p>vaccination</p>	<p>HC=46 VS =65 GR = 48 GB=8 LY=16 MO=5</p>
	<p>amaigrissement</p>	<p>HC=50 VS =60 GR =52 GB=17 LY=27 MO=5</p>
	<p>Traitement de morsure</p>	<p>HC=50 VS =71 GR =52 GB=16 LY=28 MO=4</p>

	<p>vitaminothérapie</p>	<p>HC=54 VS =60 GR =56 GB=8 LY=15 MO=4</p>
	<p>vaccination</p>	<p>HC=54 VS =65 GR =56 GB=15 LY=14 MO=3</p>
	<p>Affection urinaire</p>	<p>HC=52 VS =75 GR =54 GB=14 LY=25 MO=4</p>

	<p>Chute de poil</p>	<p>HC=44 VS =62 GR =46 GB=15 LY=23 MO=4</p>
	<p>vitaminothérapie</p>	<p>HC=46 VS =58 GR =48 GB=11 LY=16 MO=1</p>
	<p>caudectomie</p>	<p>HC=55 VS =60 GR =57 GB=15 LY=22 MO=4</p>

REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN TIARET

FACULTE DES SCIENCES AGRONOMIQUE ET VETERINAIRES

DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES



Fiche d'examen clinique

Etudiant :

Date:

Année :

N°:

<i>Animal</i>					
NOM:	Espèce:	Race:	Age:	Robe:	Sp :

<i>Anamnèses et commémoratif</i>	
	Etat général:
	Tégument:
	Température:
	Muqueuses:
Appareil digestif:	Œil et vision:
Appareil respiratoire:	Orteil et audition:
Appareil cardio-vasculaire:	Reins et appareil urinaire:
Système nerveux:	Appareil locomoteur
Appareil génital:	Ganglions explorables:
Sang :	Urines:
Autre:	Fèces:
Diagnostique:	Pronostic:

MATERIEL ET METHODES

I.MATERIEL :

I.1 Région d'étude :

L'étude menée, a durée huit mois (de novembre 2007 à juin 2008).

Les différents prélèvements, ont été effectués, au niveau de la clinique de l'institut des sciences vétérinaire de Tiaret où les animaux consultés proviennent de divers endroits de la willaya.

Cette clinique est structurée de la manière suivante :

- une salle de consultation : pour l'examen général de l'animal ainsi que les prélèvements (sang, urine, ponction gonglionnaire, etc.).
- une salle de chirurgie : utilisée pour les différentes interventions chirurgicales et pour les autopsies.
- un bloc de laboratoires (microbiologie, biochimie, parasitologie) ; où les prélèvements subissent certaines préparations (centrifugations, colorations des coupes histologiques), des tests microscopiques et autres analyses des échantillons (urine, sang, selles, etc.).

I.2 Effectif canin :

Parmi les 185 chiens étudiés, (104) soit **56.16%** étaient de sexe masculin.

I.3 Races : Le tableau suivant récapitule la répartition des races canines

TABLEAU N°1 : Différentes races de chiens prélevés.

Races	chiens		male		femelle	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Berger Allemand	59	31.89	37	35.57	22	21.15
Commune	32	17.29	18	17.30	14	13.46
Croisée	26	14.04	16	15.38	10	9.61
Chien de chasse	19	10.26	11	10.57	08	7.69
Caniche	09	4.87	03	2.88	06	5.76
Braque allemand	08	4.32	05	4.80	03	2.88
Berger Belge	07	3.79	05	4.80	02	1.92
Doberman	07	3.79	03	2.88	04	3.84
Braque français	06	3.24	01	0.96	05	4.80
Epagneul	04	2.16	01	0.96	03	2.88
Pit bull	03	1.62	00	00	03	2.88
Rotweiller	03	1.62	02	1.92	01	0.96
pointer	01	0.54	01	0.96	00	00
Cetair	01	0.54	01	0.96	00	00

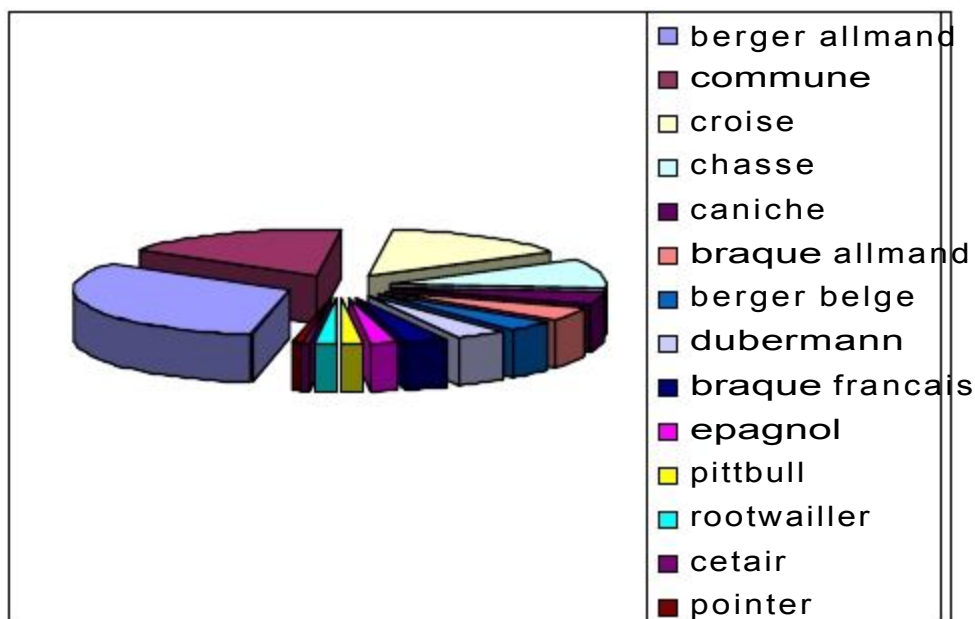


FIGURE N° 1 : Répartition des chiens selon la race.

14 races sont comptabilisées ; la race Berger Allemand et la race commune sont prédominantes avec 31,39 % et 17,29 % respectivement

I.4 Classe d'âge :

Nous avons réparti les individus en huit (08) tranches d'âge (tableau 02)

TABLEAU N° 02 : distribution des animaux en fonction de leur âge

Classes d'âge	Nombre de chien
[0..... 6 mois]	26
] 6 mois..... 1an]	29
]1an 2ans]	25
] 2 ans3ans]	41
] 3ans.....4ans]	33
] 4 ans 5ans]	18
] 5 ans et plus	13
Total	185

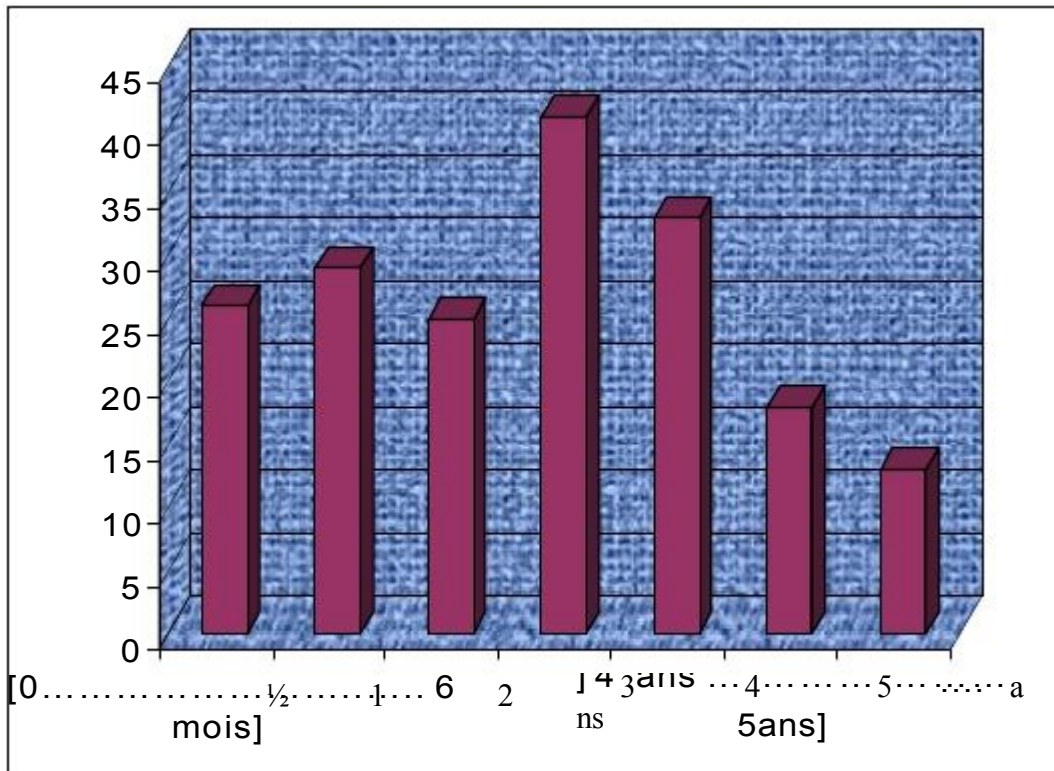


FIGURE N° 2 : répartition des chiens selon l'âge.

II.METHODOLOGIE :

Pour mettre en évidence l'existence de la maladie, nous avons eu recours à certaines méthodes de laboratoires utiles de réalisation simple.

Notre démarche méthodologique était la suivante :

*** II.1 EXAMEN CLINIQUE**

Lors des consultations, l'ensemble des commémoratifs concernant les animaux est enregistré : race, âge, sexe, localisation, mode de vie, signes généraux (amaigrissement, anémie, fatigabilité), (modifications comportementales, modifications de l'appétit, vomissements, etc.

Par la suite, un examen clinique détaillé est réalisé.

*** II.2 PRELEVEMENT DE SANG :**

Le prélèvement de sang effectué au niveau de la veine céphalique de l'avant bras du chien et recueilli dans (2) tubes stériles (tube sec et tube a EDTA). Une ponction gonglionnaire est pratiquée lors d'hypertrophie de poplité.

***II.3 TEST DE LABORATOIRE** : orientation au laboratoire pour les tests suivants «LFG, FNS, MGG). Le test "Witness Leishmania" a été appliqué dans certains cas.

II.3.1 Diagnostic de laboratoire:

II.3.1.1. test d'orientation du diagnostic de la leishmaniose (réaction de leuco-formol-gelification) « LFG »

Principe de test :

- 5 ml de sang dans un tube à anticoagulant centrifugé à la vitesse de 3000 tours /mn,
- 2 ml de sérum obtenu avec formol 40%.
- La formation d'un gel indique après 20 mn une réaction positive.

Un test positif indique un taux élevé de globulines avec chute de l'albumine.

II.3.1.2 Vitesse de sédimentation (VS) :

Le sang est recueilli dans un tube gradué jusqu'à 0 mm et on le fixe verticalement, laissé sédimenter dans le support approprié. Puis on fait 2 lecture : la 1^{re} à 30mn et la 2^{eme} à 60mn
La VS est mesurée par la hauteur (mm) / heure (Delmare, 1992).

La chute des globules rouges au sein de plasma invitro lorsque le sang a été rendu incoagulable. La VS sert a ; apprécier le nombre d'hématies, déceler un hyper leucocytose et

d'indiquer l'existence du processus inflammatoire ; Valeur normales de la VS chez le chien: 1-2 mm à la 1 heure. 2-4 mm à la 2 heures et 8-15 mm à 24 heures.

Lors d'infection la vitesse de sédimentation est accélérée. (Niemand, 1992).

II.3.1.3 Hématocrite (HC) : c'est le pourcentage de volume globulaire en particulier d'hématies par rapport au volume sanguin total (valeur normale chez le chien 44 à 57 %).

On fait remplir un tube capillaire en plaçant dans le tube a EDTA, on ferme le tube par de mastic d'un coté, puis on le place dans la centrifugeuse de l'hématocrite pendant 3 mn à 12000 tours ; la lecture se fait sur la plaque de l'hématocrite.

II.3.1.4 FNS (FORMULE DE NUMERATION SANGUINE)

La Numération sanguine consiste à compter le nombre des éléments figurés du sang (Globules). Le résultat s'exprime en éléments par mm³ (millimètre cube).

La Formule sanguine donne la proportion de chacun des types de globules blancs.

Polynucléaires neutrophiles
Polynucléaires éosinophiles
Polynucléaires basophiles
Lymphocytes (Petits + Grands)
Monocytes

Les FNS sont habituellement effectuées par des automates de laboratoire, mais l'étude fine des Formules sanguines se fait au microscope après coloration au May- Gründwald -Giemsa (MGG).

La confirmation du diagnostic de la leishmaniose par examen direct après coloration au May- Gründwald-Giemsa (MGG) est très utilisée (Niemand et Suter, 1992 ; Ambroise et Thomas , 1990 ; Groulade et al ; 1979 ; Bachi et al ; 1997 ; Belkaid et al ; 1992).

PROTOCOLE :

PRÉLÈVEMENT.

Le prélèvement au laboratoire ou en clinique se fait au vacutainer ou seringue stérile sur sang veineux avec anticoagulant (EDTA)

FROTTIS :

Le frottis peut se pratiquer sur lame ou sur lamelle.

FROTTIS SUR LAME. (Annexe N° 03)

- Déposer une goutte de sang de taille moyenne à 1.5 cm du bord droit d'une lame dégraissée,
- Étaler par capillarité la goutte au contact de l'arête d'une deuxième lame rodée tenue à 45 degrés,
- Pousser rapidement la deuxième lame vers la gauche de la première lame en entraînant le sang qui s'étale en une couche mono cellulaire (Frottis).
Si la goutte de sang est de taille convenable, le frottis doit se terminer à 1 cm environ du bord gauche de la lame.
- Variante: on peut remplacer la deuxième lame par une lamelle couvre objet.

DESSICCATION.

Le frottis est séché rapidement à l'air à l'abri des poussières.

COLORATION au MGG.

2. Coloration sur lame

- Déposer 10 à 15 gouttes de May-Grünwald sur le frottis et couvrir pour éviter l'évaporation. Pendant 3 mn. C'est la Fixation.
- Déposer 10 à 15 gouttes d'eau tamponnée et mélanger par rotation de la lame. 1 mn
- Égoutter
- Recouvrir de Giemsa dilué 15 mn. C'est la coloration.
- Égoutter
- Laver à l'eau neutre.
- Sécher au papier Joseph.

EXAMEN.

Examen à l'objectif 40 X à hématologie ou

Examiner à l'immersion 100 X et oculaires faibles

Déplacer la lame en faisant des "créneaux" pour ne pas repasser au même endroit.

Compter 100 leucocytes (ou mieux 200) ce qui donne immédiatement le résultat.

CONSERVATION DES FROTTIS.

Les frottis après examen à l'immersion sont couverts d'huile qui a tendance d'abord à ramasser poussières et fibres puis à sécher. De ce fait un ré-examen ultérieur de la lame est rendu difficile. Son nettoyage au xylène n'est pas satisfaisant.

Une bonne habitude consiste à déposer une grosse goutte d'huile de cèdre sur le frottis et de poser par dessus une ou deux grosses lamelles contiguës.

Au bout de quelques jours le frottis est transformé en préparation permanente qui se conserve indéfiniment. La présence de lamelle malgré son épaisseur ne nuit pas la mise au point lors d'un futur examen à l'immersion.

NUMERATION

Pour la numération on utilise surtout la cellule de Malassez. Nous comptons quatre carrés de la cellule au fort grossissement. Ces carrés contiennent chacun seize petits carrés que nous comptons en zigzag nous additionnons les leucocytes des petits carrés.

Pour le calcul (nombre de leucocytes par litre) nous multiplions le nombre de cellules dans quatre carrés par 50.10.

OBSERVATION : (Annexe N° 04)

Polynucléaire Neutrophile :

Description:

- Taille: 12-14 μ arrondi.
- Noyau: Polylobé 2-6 lobes (2-3 les plus nombreux)
- Cytoplasme: clair acidophile

Granulations: neutrophiles violettes régulières tes fines et nombreuses

Polynucléaire Eosinophile :

Description:

- Taille: 12-14 μ arrondi.
- Noyau: 2-3 lobes
- Cytoplasme: clair, acidophile presque pas visible recouvert par les granulations

Granulations: acidophiles, roses, rondes, nombreuses

Polynucléaire Basophile :

Description:

- Taille: 11-13 μ arrondi
- Noyau: 2-4 lobes denses
- Cytoplasme: acidophile clair

Granulations: très nombreuses pouvant recouvrir le noyau anguleuses bleu-violet foncé.

Les Lymphocytes :

Description:

- Taille: 10-15 μ Arrondi déformable (les bords épousent la forme des cellules mitoyennes).
- Noyau: rond ovale ou en drapeau
- Cytoplasme: bleu très clair

Granulations: quelques rares granulations azurophiles en paquet

Le Monocyte :

Description:

- Taille: 18-21 μ arrondi très déformable
- Noyau: rond ou encoché
- Cytoplasme: basophile clair

Granulations: très fines et très nombreuses azurophiles

II.3.1.5 Witness *Leishmania* :

Principe du test :

Le test witness *leishmania* est un test de réalisation simple, basée sur une immuno-migration rapide.

L'échantillon à tester contenant les anticorps anti-*leishmania* (sang total, sérum, ou plasma) est mis en contact avec des particules d'or colloïdal sensibilisées. Le complexe ainsi formé migre sur une membrane avant d'être capturé sur une membrane réactive, au niveau de laquelle sa concentration provoque la formation d'une bande de couleur rose clairement visible. Une bande de contrôle, située à l'extrémité de la membrane, permet de s'assurer que le test a été réalisé correctement.

Ce test peut être réalisée sur du sang total, du sérum ou du plasma. Pour le sang total, l'échantillon doit être prélevé sur anticoagulant (citrates ou héparine)

Réalisation du test et résultats :

A - Préparation de l'échantillon :

- La plaquette test (1) est retirée de son etui, et placée sur une surface plane.
- L'échantillon est déposé grâce à la pipette fournie en la maintenant verticalement.
- 2 fois 5 microlitres sont répartis dans le puit échantillon. (Fig.3)



FIGURE N° 3 : Dépôt de l'échantillon pour le test W.L.

B - Répartition de la solution tampon :

S'assurer que l'échantillon a bien diffusé dans la membrane.

4 gouttes de la solution tampon (flacon) maintenue verticalement est répartie dans le puit échantillon.



FIGURE N° 4 : Dépôt de la solution tampon.

Laisser la membrane s'imprégner entre chaque goutte.

La plaquette test est laissée bien à plat durant tout le temps de la migration du complexe échantillon / réactif sur la bandelette, à savoir 10 minutes maximum.

C - Lecture du test :

Au terme de 10 minutes, on recherche la présence ou l'absence de bandes de couleur rose dans les fenêtres, (2) et (3) (Fig.6).

D - Résultats :

- **Validation** : Le test est validé si une bande est présente dans la fenêtre de lecture au niveau du repère correspondant (3).

- Interprétation :

- Absence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (2) et apparition d'une bande au niveau du repère (3) : **Négatif en anticorps anti - leishmania.**

- Présence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (3) : **Positif en anticorps anti - leishmania.**



FIGURE N° 5 : Résultat négatif (présence d'une seule bande au niveau du repère n° 3)



FIGURE N°6 : Résultat positif (présence de deux bandes au niveau des repères 2 et 3)

REMARQUES

- il est possible de conclure la lecture du test avant 10mn si deux bandes de couleur rose (correspond respectivement a la bande test (2) et a la bande témoin (3) sont nettement apparues
- l'absence d'une bande de couleur rose au niveau du repère (3) rend le test invalide.

*** II.4 AUTOPSIE :**

Les autopsies consistent à explorer les tissus et organes, externes et internes, après le décès de l'animal. Le but principal d'une autopsie est de chercher des modifications de ces organes. Une autopsie est composée grossièrement de deux parties, une partie d'examen macroscopique (visible à l'oeil nu) et une partie de coupes histologiques suivies d'examens histo-pathologiques (examen microscopique). A cela se rajoute des analyses de germes, bactériologiques, parasitaires, virales, etc. Si toutes ses observations peuvent apporter un diagnostic post-mortem, cela n'est toutefois pas toujours le cas, en particuliers lors de modifications peu spécifiques ou fréquemment observés. Cette difficulté de poser parfois un diagnostic certain peut se révéler frustrante pour le propriétaire de l'animal qui n'est pas satisfait avec les hypothèses non confirmées.

Les autopsies sont normalement réalisées en cas de mort subite, d'euthanasie ou d'évolution fatale de la maladie,

Des autopsies ne peuvent être pratiquées que sur un corps réfrigéré. Si le corps est resté plusieurs heures à l'extérieur au chaud, les phénomènes d'autolyse seront trop importants et empêcheront tout examen post-mortem sérieux. La congélation détruit également les cellules et est à proscrire.

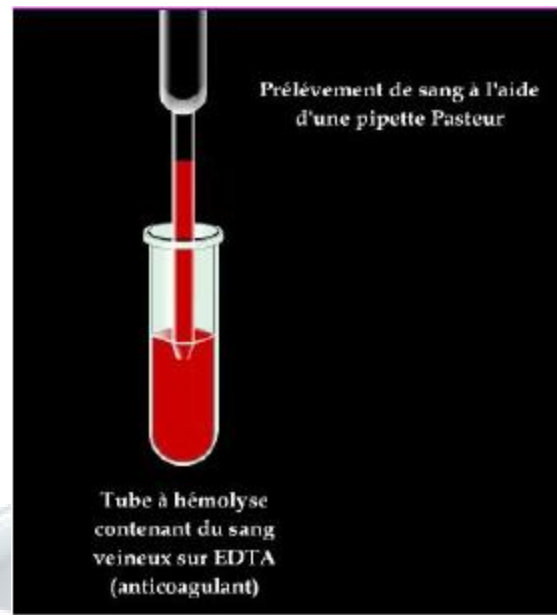
Importance.

C'est souvent le vétérinaire ou la clinique qui aura intérêt à mieux connaître les modifications pathologiques macroscopiques ou histo-pathologiques de la maladie ayant entraîné la mort, voire d'une pathologie annexe. Dans ces cas, le vétérinaire devra demander l'autorisation aux propriétaires de l'animal. L'autopsie lui permettra éventuellement de confirmer son diagnostic pré-mortem, ou d'observer les lésions associées à la pathologie diagnostiquée ou de mieux comprendre la cause de décès.

Après l'autopsie, le corps sera de préférence incinéré, de la même manière que sans autopsie, L'autopsie peut donc s'avérer très intéressante et utile si on est conscient de ses limites.



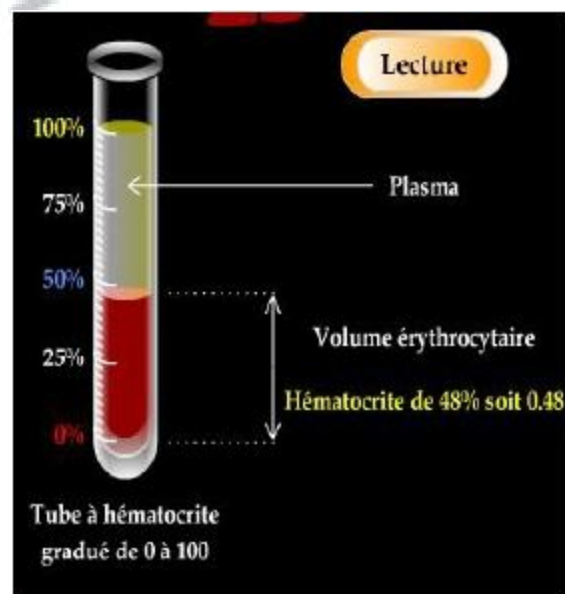
1



2

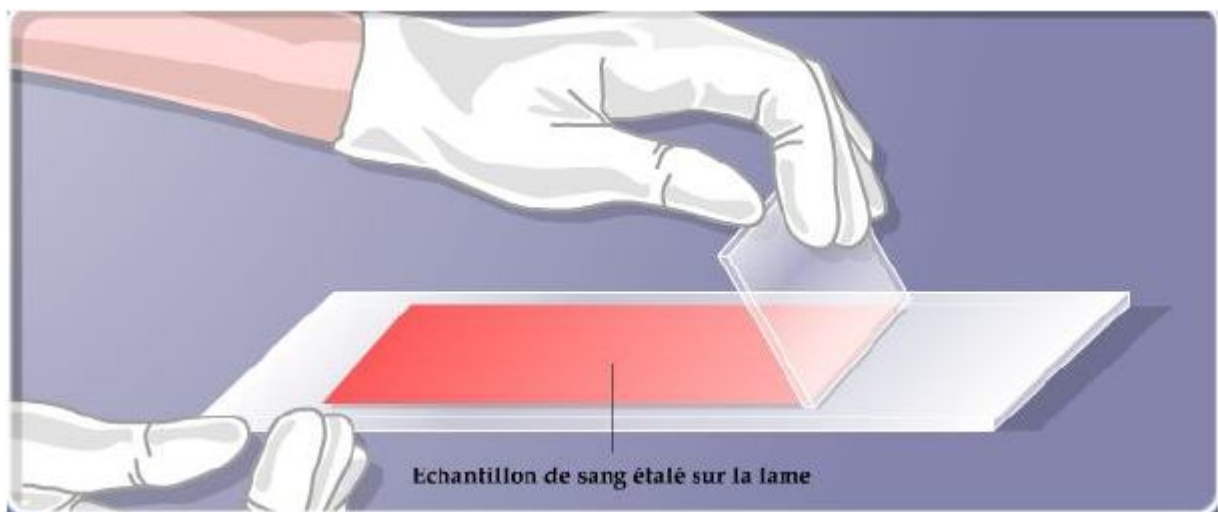
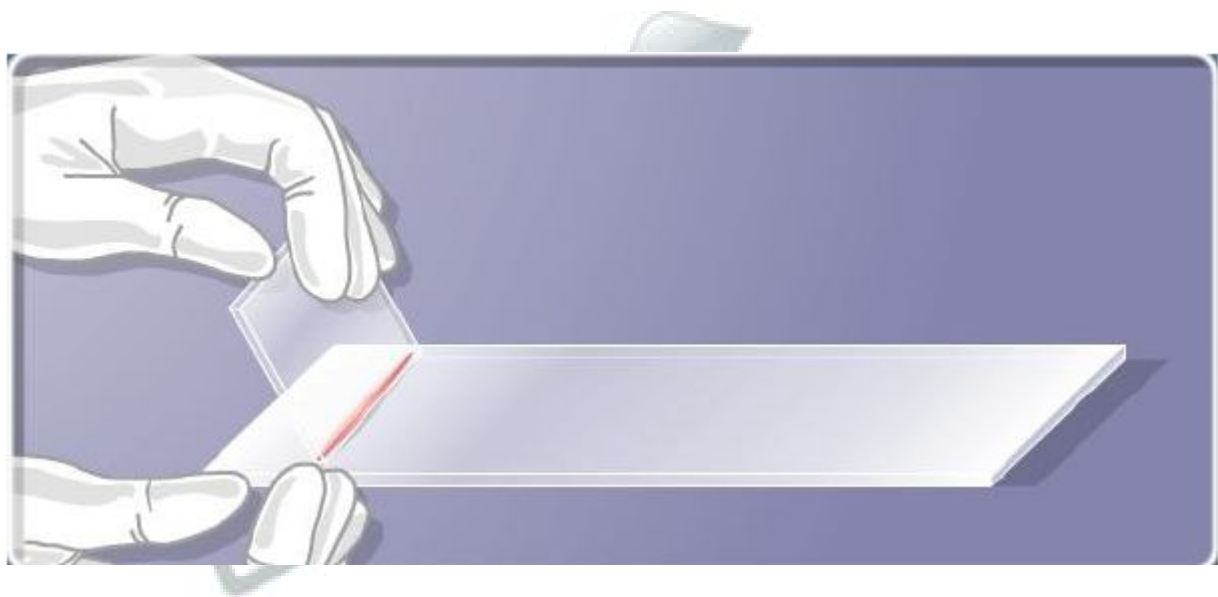


3



4

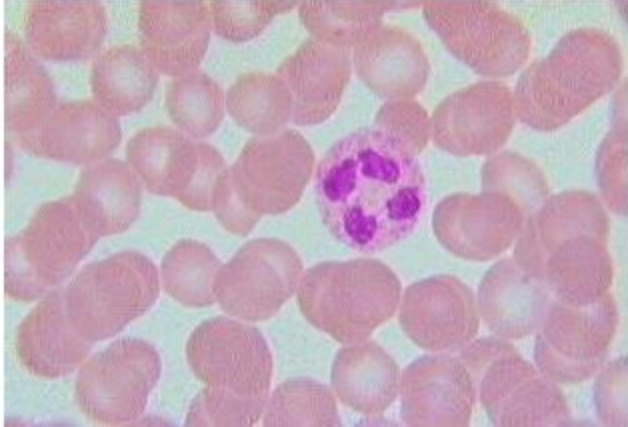
METHODE DE CALCULE DE L'HEMATOCRITE



REALISATION DE FROTTIS SANGUIN

OBSERVATION SOUS MICROSCOPE

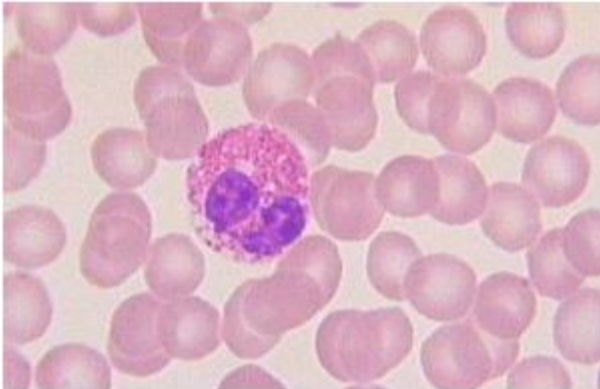
Le Polynucléaire Neutrophile



Description:

- Taille: 12-14 μ arrondi.
- Noyau: Polylobé 2-6 lobes (2-3 les plus nombreux)
- Cytoplasme: clair acidophile
- Granulations: neutrophiles violettes régulières tes fines et nombreuses

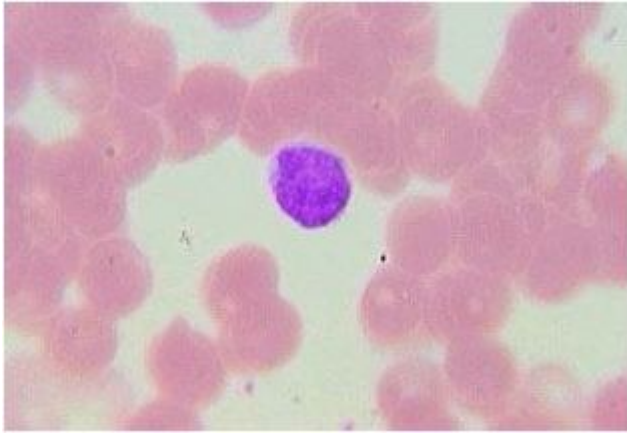
Le polynucléaire Eosinophile



Description:

- Taille: 12-14 μ arrondi.
- Noyau: 2-3 lobes
- Cytoplasme: clair, acidophile presque pas visible recouvert par les granulations
- Granulations: acidophiles, roses, rondes, nombreuses

Le Polynucléaire Basophile

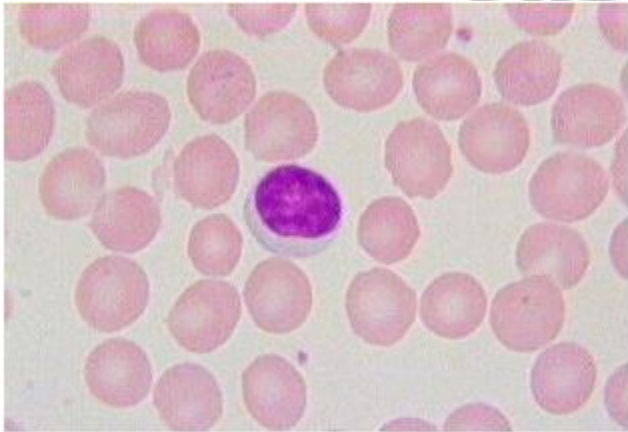


Description:

- Taille: 11-13 μ arrondi
- Noyau: 2-4 lobes denses
- Cytoplasme: acidophile clair
- Granulations: très nombreuses pouvant recouvrir le noyau anguleuses bleu-violet foncé



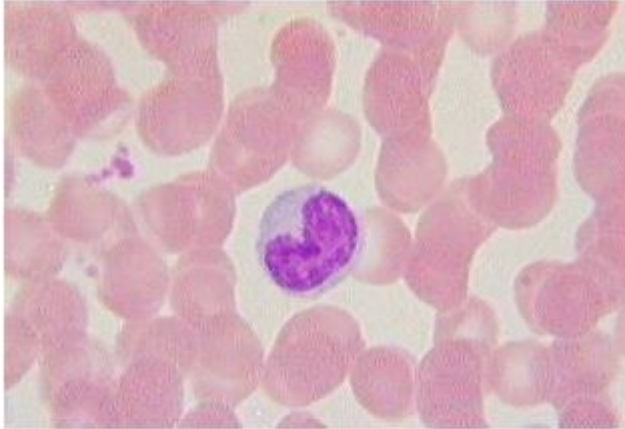
Les Lymphocytes



Description:

- Taille: 10-15 μ Arrondi déformable (les bords épousent la forme des cellules mitoyennes).
- Noyau: rond ovale ou en drapeau
- Cytoplasme: bleu très clair
- Granulations: quelques rares granulations azurophiles en paquet

Le Monocyte



Description:

- Taille: 18-21 μ arrondi très déformable
- Noyau: rond ou encoché
- Cytoplasme: basophile clair
- Granulations: très fines et très nombreuses azurophiles



RESUME EN LANGUE FRANÇAISE.....	I
RESUME EN LANGUE ANGLAISE.....	II
RESUME EN LANGUE ARABE.....	II

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PROBLEMATIQUE ET OBJECTIF.....	2

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA LEISHMANIOSE.

1. Définition	03
2. Historique.....	03
3. principales types de leishmaniose.....	05
3.1; leishmaniose viscérale.....	06
3.2; leishmaniose cutanée.....	07
3.3; leishmaniose cutanéomuqueuse.....	09
4. Base de la distinction en espèces.....	09
5. Étude clinique de la leishmaniose canine	10
5.1. Symptômes	10
5.1.1.Symptômes généraux.....	10
5.1.2.Symptômes cutanéomuqueux.....	11
5.1.3.Symptômes viscéraux et biologiques	13
6. Répartition géographique et importance.....	14

CHAPITRE II : ETUDE DU PARASITE

1. Etiologie:	16
1.1 Classification.....	16
1.2 .Espèces animales réceptives.....	18
1.3. Hôtes des leishmanies.....	19
1.3.1 Hôtes vertébrés.....	19
1.3.2 Hôtes invertébré.....	19
1.4 Classification des phlébotomes.....	20
1.5 Distinction entre male et femelle.....	21
1.6 Le protozoaire.....	22
1.6.1 Cycle évolutif du parasite	22
1.7 .Biologie du parasite.....	28

CHAPITRE III DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT

1.Diagnostic	30
1.2 identification de l'agent pathogène.....	30
1.3.Épreuves sérologiques.....	31
1.4 Épreuve d'hypersensibilité retardée.....	31
1.5 Techniques de diagnostic.....	32
1.5.1 Identification de l'agent pathogène.....	32
1.5.2 Épreuves sérologiques	36
1.5.2.1 Immunofluorescence indirecte	37
1.5.2.2 Méthode immuno-enzymatique.....	39
1.5.2.3 Épreuve d'agglutination directe	40
1.5.2.4 Contre immunoélectrophorèse	41
1.5.2.5 Épreuve d'hypersensibilité retardée	41
2. le traitement :.....	42

2.1 Pour l'homme :	42
2.2 Pour le chien	45

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES	46
I.MATERIEL	46
I.1 La région d'étude	46
I.2 L'effectif canin	46
I.3 Les races	47
I.4 classe d'age	48
II.METHODOLOGIE	50
II.1 examen clinique	50
II.2 prélèvement du sang	50
II.3 tests de laboratoires	50
II.3.1 diagnostic de laboratoire	50
II.3.1.1 test d'orientation du diagnostic de la leishmaniose (LFG)	50
II.3.1.2 La vitesse de sédimentation (vs)	50
II.3.1.3 hématocrite	51
II.3.1.4 FNS (formule de numération sanguine)	51
II.3.1.5 witness leishmania	55
II.4 autopsie	58

RESULTATS ET DISCUSSION

I.1 diagnostic clinique de la leishmaniose canine	59
I.2 Résultats selon le sexe des chiens	66
I.3 races des chiens	67
I.4 Résultats selon l'age des chiens	68
I.5 Résultats du diagnostic de laboratoire	70
I.5.1 Le leuco-formol gelification (LFG)	70
I.5.2 Hématocrite	72
I.5.3 La vitesse de sédimentation	72
I.5.4 La coloration MGG	73
I.5.5 witness leishmania	76
I.6 Autopsie	78

CONCLUSION	81
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	82
ANNEXE I : Résultats des tests de laboratoires.....	91
ANNEXE II : Fiches d'examen cliniques	106
ANNEXE III : Méthode de calcul de HC et préparation de frottis	107
ANNEXE VI : Observation sous microscope.....	109

