

***Leishmania infantum* MON-1 isolé d'un chacal doré (*Canis aureus*) en Grande Kabylie (Algérie)**

***Leishmania infantum* MON-1 isolated from a golden jackal (*Canis aureus*) in Grande Kabylie (Algeria)**

A. Bessad · K. Mouloua · I. Kherrachi · S. Benbetka · R. Benikhlef · G. Mezai · Z. Harrat

Reçu le 31 janvier 2011 ; accepté le 5 juillet 2011
© Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France 2011

Résumé Dans le nord de l'Algérie, *Leishmania infantum* est responsable de deux formes cliniques de leishmaniose, viscérale et cutanée. Le chien est le seul réservoir connu du parasite dans la région. Dans cette étude, les auteurs rapportent l'isolement, pour la première fois, du parasite *L. infantum* chez un chacal doré (*Canis aureus*) capturé dans le village d'Illoulen ou Malou (Grande Kabylie). Deux souches de leishmanies ont été ainsi isolées à partir de la rate et de la moelle osseuse de l'animal, et leur identification par électrophorèse des isoenzymes a révélé l'appartenance du parasite au zymodème MON-1 du complexe *L. infantum*. Le parasite a été également décelé dans une biopsie de la rate par la PCR (*polymerase chain reaction*). Ce canidé sauvage très répandu en Afrique du Nord occupe vraisemblablement une place prépondérante dans les foyers selvatiques de leishmaniose dans cette région et serait responsable de la dissémination du parasite. **Pour citer cette revue : Bull. Soc. Pathol. Exot. 105 (2012).**

Mots clés Leishmaniose canine · Chacal doré · *Leishmania infantum* · Grande Kabylie · Algérie · Afrique du Nord

Abstract In the north of Algeria, *Leishmania infantum* is responsible for two clinical forms of leishmaniasis: visceral and cutaneous leishmaniasis, for which dogs are the only proven reservoir host. In this study, the authors report, for the first time, the isolation of *L. infantum* from a golden

jackal (*Canis aureus*) trapped in the Illoulen ou Malou region (Grande Kabylie). Two isolates were thus obtained from bone marrow and spleen and were identified by starch gel isoenzyme electrophoresis as *L. infantum* MON-1, the widespread zymodeme in the north of the country. Leishmania parasites have also been detected by polymerase chain reaction (PCR) in the biopsy of the spleen. The golden jackal, a prevalent wild canid in Northern Africa, could play a predominant role in the sylvatic foci of leishmaniasis and in the dissemination of the parasite in this region. **To cite this journal: Bull. Soc. Pathol. Exot. 105 (2012).**

Keywords Canine leishmaniasis · Golden jackal · *Leishmania infantum* · Grande Kabylie · Algeria · Northern Africa

Introduction

La région de la Grande Kabylie est connue depuis longtemps comme un foyer très actif de la leishmaniose qui sévit sous deux formes cliniques chez l'Homme : la leishmaniose viscérale endémique et la leishmaniose cutanée sporadique [6,10]. Depuis la découverte du premier cas de kala-azar dans la région, en 1946 [21], plusieurs travaux ont été entrepris afin de comprendre le complexe pathogène de la maladie et de caractériser ce foyer. Le chien domestique a été ainsi retrouvé comme le réservoir par excellence de *Leishmania infantum*, l'espèce la plus fréquemment isolée des cas humains dans la région [3,7,11] (Fig. 1).

Les différentes études menées chez le chien rapportaient une prévalence de la leishmaniose canine variant entre 11 et 37 % [1,4,6,11]. Cependant, le réservoir sauvage a été très peu étudié en Algérie. Dans une enquête antérieure réalisée par Dereure en Grande Kabylie, 13 chacals ont pu être capturés, et ils se sont avérés tous négatifs à la sérologie [7]. Les

A. Bessad (✉) · K. Mouloua
Institut des sciences vétérinaires, université Saad-Dahleb de Blida,
BP 270, 09000 Blida, Algérie
e-mail : socpatex@pasteur.fr

I. Kherrachi · S. Benbetka · R. Benikhlef · G. Mezai · Z. Harrat
Service d'éco-épidémiologie parasitaire et génétique
des populations, institut Pasteur d'Algérie,
route du Petit-Staouéli, Dely-Ibrahim, Alger, Algérie



Fig. 1 *Canis aureus* capturé en Grande Kabylie / *Canis aureus* trapped in Grande Kabylie

auteurs rapportent ici l'isolement, pour la première fois, de *L. infantum* chez un chacal doré dans ce même foyer.

Matériel et méthodes

Dans le cadre d'une enquête sur les réservoirs de la leishmaniose viscérale, menée durant la période de mars 2007 à février 2008, au niveau du sud-est de la wilaya de Tizi Ouzou (Grande Kabylie), deux chacals ont été capturés dans la localité d'Iloulou ou Malou, à 950 m d'altitude. Aucun signe clinique évocateur de la leishmaniose n'a été observé sur ces deux animaux. Les deux chacals ont été euthanasiés et des prélèvements de sang, de rate, de foie et de moelle osseuse ont été effectués.

Les sérums des deux chacals ont été testés en immunofluorescence indirecte (IFI), et les fragments d'organes, après broyage, ont été cultivés à 24 °C sur milieu NNN (Novy-Nicolle-Mac Neal) et sur milieu SLC (sérum de lapin coagulé) [5].

Deux échantillons de 0,5 g de tissu de rate prélevés sur les deux animaux ont été également testés à la PCR. Pour l'extraction d'ADN, nous avons utilisé la technique de Pearson et Stirling [18].

La séquence d'ADN cible est le gène codant pour l'ARN ribosomal 18S [14], et les amorces utilisées sont :

- R221 : 5'-GGTTCCTTTCCTGATTACG-3' ;
- R332 : 5'-GGCCGGTAAAGCCGAATAG-3'.

Les préparations sont incubées dans un thermocycleur (Techne, Genius). Les étapes d'amplification sont programmées comme suit :

- début 94 °C pendant quatre minutes ;
- puis 40 cycles avec, pour chaque cycle : 94 °C pendant 30 secondes, 54 °C pendant 30 secondes et 72 °C pendant 30 secondes ;
- enfin : 72 °C pendant dix minutes.

Le support de migration utilisé est un gel d'agarose à 1,5 %.

Le typage biochimique des souches isolées est basé sur l'électrophorèse, en gel d'amidon, des extraits protéiques obtenus, selon la technique préconisée par Rioux et al. [20].

Deux souches de référence ont été utilisées pour identifier les isolats :

- MHOM/FR/1978/LEM 75 *L. infantum* MON-1 ;
- MHOM/MA/1981/LEM 265 *L. major* MON-25.

Résultats

Les prélèvements effectués sur le premier chacal étaient tous négatifs.

Le sérum du deuxième chacal s'est révélé positif à l'IFI à la dilution 1/40.

Le résultat de la migration sur gel d'agarose de l'échantillon d'ADN extrait de la rate et amplifié par PCR montre une bande de 603 Pb correspondant à *L. infantum*.

Le parasite a été isolé exclusivement à partir des biopsies de la rate et de la moelle osseuse. La première s'est montrée positive après deux repiquages sur milieu SLC, et la deuxième après trois repiquages sur milieu NNN. Deux souches de leishmanies sont ainsi obtenues :

- MCAN/DZ/2008/LIPA 7208 ;
- MCAN/DZ/2008/LIPA 7308.

Les profils enzymatiques des deux isolats sont identiques à celui de la souche marqueur MHOM/FR/1978/LEM 75. Ils appartiennent ainsi au complexe *L. infantum*, et au zymodème MON-1.

Discussion

Le rôle du chacal comme réservoir selvatique du kala-azar a été évoqué depuis 1912 par Nicolle, qui observa le parasite *L. infantum* sur des frottis de la moelle osseuse de l'animal après l'avoir inoculé par voie intrapéritonéale [16]. Des travaux plus récents conduits par Hamidi et al. en Iran ont montré que 2 % des chacals du nord du pays étaient naturellement infestés par le parasite [9]. Cette fréquence est beaucoup plus élevée dans la région de Modi, près de Jérusalem où 7,6 % des chacals capturés étaient retrouvés positifs à l'Elisa (4 sur 53 chacals testés) [2]. En Espagne également, des lésions dues à l'infection par la leishmaniose ont été

découvertes à l'autopsie d'un chacal mort subitement dans un parc zoologique [12].

Par ailleurs, d'autres mammifères domestiques et sauvages du pourtour méditerranéen ont été trouvés infestés par *L. infantum*, à l'exemple du renard [19], du chat [15], du rat noir [8] et du rat d'égout [17].

Les deux cas que nous avons étudiés s'avèrent insuffisants pour estimer la prévalence de la maladie au sein de cette population sauvage, mais au moins, ils nous permettent de rajouter un maillon à la chaîne épidémiologique de la leishmaniose viscérale du nord de l'Algérie.

Le typage isoenzymatique des deux isolats a révélé l'appartenance de l'agent causal au zymodème MON-1 du complexe *L. infantum*, qui est le plus largement représenté aussi bien dans la leishmaniose humaine que dans la leishmaniose canine [11]. Les connaissances actuelles sur la forme clinique de la leishmaniose chez le chacal sont limitées. Or, les lésions cutanées, observées chez le chien leishmanien et qui représentent la source de contamination des phlébotomes, ne sont pas étudiées chez cet animal. Cependant, le résultat de notre étude nous amène à émettre une hypothèse sur le rôle réservoir de *Canis aureus* dans la leishmaniose viscérale dans le foyer de la Grande Kabylie. Ce canidé sauvage pourrait assurer la pérennité du parasite. Ce dernier est transmis, ensuite, au chien par l'intermédiaire de *Phlebotomus perniciosus*, principal vecteur de *L. infantum* MON-1 dans la région [13]. Le rapprochement entre les deux espèces est favorisé par l'extension des villages, l'errance des chiens et la tendance du chacal à fréquenter les décharges, souvent éparpillées aux alentours des habitations.

Conclusion

En Algérie, la leishmaniose canine a été largement étudiée. Par contre, la place des canidés sauvages dans les foyers d'infection restait méconnue. Cette étude vient d'incriminer pour la première fois le chacal doré comme un réservoir potentiel de la leishmaniose viscérale en Kabylie. Un dépistage incluant un nombre plus important de chacals permettrait de déterminer la fréquence de l'enzootie au sein de cette population, et d'évaluer l'importance de ce canidé dans l'entité éco-épidémiologique de la leishmaniose sur la rive sud de la Méditerranée.

Références

- Ait-Oudhia K, Lami P, Lesceu S, et al (2009) Increase in the prevalence of canine leishmaniasis in urban Algiers (Algeria) following the 2003 earthquake. *Ann Trop Med Parasitol* 103(8): 679–92
- Baneth G, Dank G, Keren-Kornblatt E, et al (1998) Emergence of visceral leishmaniasis in Central Israel. *Am J Trop Med Hyg* 59(5):722–5
- Belazzoug S (1986) Les leishmanioses en Algérie. À propos de l'identification enzymatique de 32 souches d'origine humaine et animale. *Leishmania. Taxonomie et phylogénèse. App éco-épidémiologiques* (Coll. Int. CNRS. Inserm, 1984), IMEEE, Montpellier, pp 7–400
- Belazzoug S (1987) La leishmaniose canine en Algérie. *Magh Vet* 3(13):11–3
- Belkaid M, Harrat Z, Hamrioui B, et al (1996) À propos d'un milieu simple pour l'isolement et la culture des leishmanies. *Bull Soc Pathol Exot* 89(4):276–7
- Dedet JP, Addadi K, Lannuzel B (1977) Épidémiologie des leishmanioses en Algérie : 7-La leishmaniose viscérale dans le foyer de Grande Kabylie. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* 70(3):250–65
- Dereure J (1993) Place du chien dans les complexes pathogènes leishmaniens des pays du pourtour méditerranéen et du Moyen-Orient (Algérie, Égypte, France, Maroc, Syrie, Yémen). Thèse, université Montpellier I, faculté de médecine 180 p
- Di Bella C, Vitale F, Russo G, et al (2003) Are rodents a potential reservoir for *Leishmania infantum* in Italy? *J Mt Ecol* 7(S):125–9
- Hamidi AN, Nadim A, Edrissian GH, et al (1982) Visceral leishmaniasis of jackals and dogs in northern Iran. *Tran R Soc Trop Med Hyg* 76(6):756–7
- Harrat Z, Berrouane Y, Ben Abdesselam S, et al (1992) La leishmaniose viscérale en Algérie. Évolution de la leishmaniose viscérale dans le foyer de Grande Kabylie. *Arch Inst Pasteur Algérie* 58:255–72
- Harrat Z, Pralong F, Belazzoug S, et al (1996) *Leishmania infantum* and *Leishmania major* in Algeria. *Tran R Soc Trop Med Hyg* 90(6):625–9
- Hervás J, Méndez A, Carrasco L, Gómez-Villamandos JC (1996) Pathological study of visceral leishmaniasis in a jackal (*Canis aureus*). *Vet Rec* 139(12):293–5
- Izri MA, Belazzoug S, Boudjebba Y, et al (1990) *Leishmania infantum* MON-1 isolé de *Phlebotomus perniciosus* en Kabylie (Algérie). *Ann Parasitol Hum Comp* 65(3):151–2
- Lachaud L, Marchergui-Hammami S, Chabbert E, et al (2002) Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. *J Clin Microbiol* 40(1):210–5
- Martin-Sánchez J, Acedo C, Muñoz-Pérez M, et al (2007) Infection by *Leishmania infantum* in cats: Epidemiological study in Spain. *Vet Parasitol* 145(3–4):267–73. Epub 2006 Dec 8
- Nicolle C, Blaizot L (1912) Virulence des cultures de *Leishmania infantum*. Sensibilité du chacal au virus du kala-azar tunisien. *Bull Soc Pathol Exot* 5(9):721–2
- Papadogiannakis E, Spanakos G, Kontos V, et al (2010) Molecular detection of *Leishmania infantum* in wild rodents (*Rattus norvegicus*) in Greece. *Zoonoses Public Health* 57(7–8):e23–e5
- Pearson H, Stirling D (2003) *Methods in molecular biology, PCR protocols*, 2nd Edition. Humana Press Inc, Totowa, NJ
- Rioux JA, Albaret JL, Houin R, et al (1968) Écologie des leishmanioses dans le sud de la France. 2. Les réservoirs selvatiques. Infestation spontanée du renard (*Vulpes vulpes* L.). *Ann Parasitol Hum Comp* 55:635–43
- Rioux JA, Lanotte G, Serres E, et al (1990) Taxonomy of *Leishmania*. Use of isoenzymes. Suggestions for a new classification. *Anna Parasitol Hum Comp* 65(3):111–25
- Sarrouy CH, Combe P, Claude R (1946) Un cas de kala-azar infantile traité par la diamidine. *Algérie Médical*: 447–8