

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen –
Faculté de sciences de et la Nature, des Science de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Science Biologique
Option : Toxicologie Industrielle et Environnementale

Thème



Etude in vitro de la toxicité hémolytique du
Glucantime® sur le globule rouge

Présenté par :

Arab Chaima

Charef Fatna

Soutenue le : 28/09/2020.

Devant le Jury composé de :

Présidente : Pr. HADDAM. N

Maitre de conférences A (MCA)

Examinatrice : Dr. MEZIANE.Z

Maitre de conférences A (MCA)

Encadreur : Dr. BRIKCI NIGASSA.N

Maitre assistance en Biophysique
Chef de service de biochimie

Année Universitaire 2019-2020.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

D'abord nous remercions Dieu le tout puissant, de nous avoir donné courage, santé, et patience pour accomplir ce travail.

La première personne que nous tenons à remercier sincèrement est notre encadreur

*Dr **BRJKCI NIGASSA N** ; maitre assistante en biophysique, votre compétence, votre encadrement a toujours suscité mon profond respect.*

Nous vous remercions pour votre accueil et vos conseils, et pour ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa gentillesse et ses efforts pour la réalisation de ce mémoire.

A mon Maître et Président du jury :

*Professeur **HADDEM.N**,*

Professeur de Toxicologie ;

Vous nous faites un grand honneur en acceptant la présidence de nos jurys de ce mémoire.

*Nous tenons également à remercier **Dr. MEZIANE.Z***

D'avoir accepté de faire partie de mes jurys et d'examiner notre travail.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail. Merci pour votre Attention et soutien.

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de Dieu.

A

Ma chère mère et mon père, qui m'a toujours encouragé durant tous mes années d'étude, que dieu les protège tout long de leur vie.

A

Ma précieuse Grande Mère et Mon grand-père, que dieu vous bénisse santé et longévité.

A

Ma sœur Rabia et Mon cher frère Ismail qui m'a manqué tellement Je vous souhaite beaucoup de bonheur avec une meilleure vie.

A

Tout le membre de ma famille.

A

Chahrazed, Karima et Halima et tous mes autres amis : grâce à votre solidarité je me suis toujours senti entouré par une famille.

A

Mon binôme Fatna, je te souhaite un avenir à la hauteur de votre ambition, que notre amitié dure.

A

Mes enseignants et Mes amis d'étude sans exception.

Phaïma.

Dédicace

Je dédie ce travail

A ma chère maman

Nul mot ne pourra exprimer mes sentiments et ma gratitude envers

Vous. Que dieu vous garde et vous protège.

A l'âme de mon père, que dieu l'accueille dans son vaste paradis.

*A mes chères sœurs **Amel, Djamila**, et mes chers frères **Ahmed,***

Mohamed.

A qui je souhaite une vie pleine de bonheur, prospérité et de réussite.

*A mon binôme **Arab Chaima***

Avec qui j'ai passé de bonnes années d'étude, je te souhaite un avenir

Plein de joie et de réussite, qu'Allah protège notre amitié.

*A toute **ma grande famille;***

Je vous souhaite une vie plein de joie et de bonheur.

*A **mes amies et mes camarades***

Je vous souhaite un avenir à la hauteur de votre ambition, que notre

Amitié dure.

*A **mes enseignants et ma promotion.***

Un grand merci s'adresse a tous ceux qui mont aidés de près ou de

loin à la réalisation de ce travail.

Fatna.

Table de matière

<i>Introduction</i>	2
---------------------------	---

Chapitre (1) : Leishmaniose

1. Définition :.....	4
2. Historique :.....	4
3. Étiologie :.....	5
3.1. Agent pathogène :	5
3.1.1. Morphologie du parasite :	5
3.2. Vecteur :	7
3.3. Le réservoir :.....	8
3.4. Le cycle de parasite :.....	9
3.4.1. Chez le vecteur	9
3.4.2. Chez l'hôte définitif :	9
4. Répartition géographique :.....	10
4.1. Dans le monde :	10
4.2. En Algérie :.....	11
4.2.1. Manifestations cliniques :.....	12
4.3. Leishmaniose cutanée :.....	13
4.3.1. La leishmaniose cutanée zoonotique :.....	13
4.3.2. La leishmaniose cutanée de nord :	14
4.4. Leishmaniose viscérale :	14
4.4.1. La leishmaniose viscérale infantile (LVI)	15
4.4.2. La leishmaniose viscérale de l'adulte immunocompétent :	16
4.4.3. La leishmaniose viscérale de l'adulte immunodéprimé :	16

5. Traitement de la leishmaniose :	17
5.1. L'amphotéricine B :	17
5.2. La pentamidine :	18
5.3. Antimoniés pentavalents :	18
5.4. Miltéfosine :	18
5.5. L'allopurinol :	19
5.6. L'aminosidine :	19

Chapitre (2) : Le Glucantime®

1. Présentation :	21
1.1. Dénomination et composition de médicament :	22
1.2. Classe thérapeutique :	22
2. Propriétés physico chimiques de produit :	22
2.1. Le nom et l'origine de la substance :	22
2.2. Formule brute :	22
2.3. Propriétés Physicochimique :	23
3. Posologie et mode d'administration :	23
4. Indication de traitement :	24
4.1. Leishmaniose cutanée :	24
4.2. Les leishmanioses cutanées localisées :	24
4.3. Les leishmanioses Vésicales :	24
4.4. Les leishmanioses cutanée-muqueuses :	24
5. Contre-indication :	25
6. Mises en garde spéciales et précautions d'emploi :	25
6.1. Mises en garde spéciales :	26

6.2. Précaution particulières d'emploi :.....	26
7. Les effets indésirables de ce médicament :	26
8. Tolérance de produit :	26
9. Interactions médicamenteuses :	27
10. Pharmacocinétique :	27
10.1. Absorption :.....	27
10.2. Distribution :.....	27
10.3. Métabolisme :	27
10.4. Demi-vie et Elimination :.....	28
10.5. Mode d'action :	28
11. Toxicité :.....	28
11.1. Chez l'homme :	28
11.2. Les effets cliniques :	29
11.2.1. Intoxication aigue :	29
11.2.2. Intoxication chronique :	29
11.3. Description analytique des effets clinique :	29
12. Traitement :.....	30
12.1. Principes généraux :.....	30
12.2. Traitement symptomatique et spécifique :	30

Chapitre (3) : Le globule rouge

1. Définition :.....	32
2. Morphologie et données quantitatives:	32
2.1. Morphologie :	32
2.2. Les données quantitatives :.....	33

3. La membrane érythrocytaire :	33
3.1. Les lipides :	33
3.2. Les protéines :	34
3.3. Les propriétés physiques de la membrane:	35
3.4. Les échanges transmembranaires :	36
4. Hémoglobine :	38
5. L'hémolyse :	39
5.1. Définition	39
5.2. Signes de vieillissement des érythrocytes :	39
5.3. L'hémolyse d'origine médicamenteuse :	40
5.4. Diagnostique d'hémolyse :	40

Partie expérimentale

1. Problématique :	42
2. Objectif :	42
3. Type d'étude :	42
4. Population :	42
5. Critères De Recrutement :	43
6. Critères D'extension :	43
7. Critères de jugement:	43
8. Analyse des données:	43
9. Collecte Des Données:	43

Matériel et méthode

I. Matériels et solutions de travail :	43
1. Les appareils :	43

2.	Autres matériels:	45
II.	Molécules étudié et solution de travail :.....	45
1.	La molécule :	45
2.	Solution de travail :.....	45
3.	Dosage des paramètres indiquant l'hémolyse :	47
III.	Mode opératoire :.....	48

Résultats et interprétations

I.	La dose du Glucantime® = 75µl :.....	53
A.	La concentration du Potassium :.....	53
II.	La dose du Glucantime® = 150µl :.....	62
A.	La concentration du Potassium :.....	62
B.	Comparaison entre les deux doses (75µl/ 150µl) :	71
C.	La concentration de l'Hémoglobine :.....	72
	<i>Discussion</i>	81
	<i>Conclusion générale</i>	83

Référence bibliographie

Liste des abréviations :

°C : Degré Celsius.

µl : micro litre.

µm : micro mètre.

Å : Angstrom.

AA : Acides aminés.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATP: Adénosine triphosphate.

Ca: Calcium.

CCMH: La concentration corpusculaire hémoglobinique.

CD4 : Cluster de différenciation 4

CO₂ : Dioxyde de carbone.

DPA : Dérivés pentavalents de l'antimoine.

ECG : Electrocardiographe.

Fe²⁺/ Fe³⁺: le fer.

fl : Femto litre.

g : gramme.

GR : Globule rouge.

h : heure.

Hb : Hémoglobine

Hte : Hématocrite.

IM : Intra musculaire.

IV : intra veineuse.

J : jour.

K⁺: Potassium.

Kg : kilo gramme.

l : litre.

L : Leishmania

LC : Leishmaniose cutanée

LCH : Leishmaniose cutanée humaine

LCL : Leishmanioses cutanées localisées.

LCM : Leishmaniose cutanée-muqueuse.

LCS : Leishmaniose cutanée sporadique

LCZ : Leishmaniose cutanée zoonotique

LDPKA : Leishmaniose dermique poste-kala-azar

LV : Leishmaniose viscérale

LVH : Leishmaniose viscérale humaine

LVI : Leishmaniose viscérale infantile

mg : milligramme.

Mgcl₂ : Chlorure de magnésium.

MGG : May Grünwald Giemsa.

ml : milli litre.

MO : Moelle osseuse.

N : Azote.

Na⁺ : Sodium.

NaCl : Chlorure de sodium.

NADP/H : Nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate. (Oxydases)

O₂ : Oxygène.

OMS : Organisation mondial de santé.

ORL: Oreilles-nez-Gorge-Larynx.

pH : Le potontiel hydrogène.

pKA : Constante d'acidité.

QT: Segment QT.

Sb: Stibium.

Sbv: Stibium5.

SH: Groupement thiol.

TDR: Tropicale Diseases Research.

TPBS: Tampon phosphate salin.

UV : Ultra violet.

VGM : Volume globulaire moyen.

VIH : Virus de L'immunodéficience Humaine.

Liste des figures :

Figure 1 : Formepromastigote de Leishmania.[19]	6
Figure 2 : de corps de leishmanies sous forme amastigote en extra cellulaire au myélogramme (×100).[20]	6
Figure 3: Femelle de Phlebotomussp. Gorgée de sang.[23].....	7
Figure 4: Réservoir du parasite.....	8
Figure 5: les réservoirs des leishmanioses en Algérie.[24]	8
Figure 6: le cycle évolutif de la leishmaniose [29].....	10
Figure 7:Répartition géographique des leishmanioses dans le monde.[28].	11
Figure 8: Répartition géographique de L. infantum et de L. major en Algérie.[24]	12
Figure 9: Boutond’Orient - aspect ulcéro-crouteux [28].....	13
Figure 10 : Leishmaniose cutanée - pseudo-impitigineux[28].....	13
Figure 11:Aspect clinique d’un enfant atteint de LV [28].....	15
Figure 12: Modèle d’une boîte du Glucantime®.[57]	21
Figure 13 :Formule chimique Antimoniote de méglumine et de Stibogluconate de sodium.[60].....	22
Figure 14: La structure du globule rouge .[85].....	32
Figure 15: La structure de la membrane érythrocytaire.[93].....	34
Figure 16: Les échanges transmembranaires.[98].....	37
Figure 17:La pompe Na⁺/K⁺.[100].....	37
Figure 18: Les paires de chaine polypeptidiques contenant une porphyrine et un atome de Fer.[103]	38
Figure 19: La molécule d'hème. [105]	39

Figure 20: Le spectrophotomètre.	43
Figure 21: Ionomètre.	44
Figure 22: Centrifugeuse.	44
Figure 23: L'agitateur.	44
Figure 24: Vortex.	45
Figure 25: La préparation de la solution mère.	46
Figure 26 : La préparation de la solution fille.	47
Figure 27: Préparation d'échantillons de travail.	49
Figure 28: Préparation des tubes de premier test.	50
Figure 29 : test n°1 [K⁺]	53
Figure 30 : test n°2 [K⁺].	54
Figure 31: test n°3 [K⁺].	55
Figure 32 : test n°4 [K⁺].	56
Figure 33 : test n°5 [K⁺].	57
Figure 34 : test n°6 [K⁺].	58
Figure 35 : test n°7 [K⁺].	59
Figure 36: test n°8 [K⁺].	60
Figure 37 : test n°1 [K⁺].	62
Figure 38 : test n°2 [K⁺].	63
Figure 39 : test n°3 [K⁺].	64
Figure 40 : test n°4 [K⁺].	65
Figure 41 : test n°5 [K⁺].	66
Figure 42 : test n°6 [K⁺].	67

Figure 43 : test n°7 [K+]	68
Figure 44: test n°8 [K+]	69
Figure 45 : Comparaison entre 1^{ère} dose et 2^{ème} dose	71
Figure 46 : Comparaison entre 1^{ère} dose et 2^{ème} dose	71
Figure 47 : test n°1 [Hb]	72
Figure 48: test n°2 [Hb]	72
Figure 49: test n°3[Hb]	73
Figure 50 : test n°4 [Hb]	73
Figure 51 : test n°5 [Hb]	74
Figure 52: test n°6 [Hb]	74
Figure 53: test n°7 [Hb]	75
Figure 54: test n°8 [Hb]	75

Liste des tableaux:

Tableau 1: les valeurs normales du globule rouge par litre :.....	33
Tableau 2 : Pourcentage D'hémolyse Des Testes :	78

Introduction

INTRODUCTION

Les maladies à transmission vectorielle telles que paludisme, la dengue, le chikungunya et les leishmanioses, représentent aujourd'hui à l'échelle de la planète un enjeu scientifique et social primordial. Ces maladies figurent parmi les plus importantes en santé humain et animal, tant par la morbidité que par la mortalité qu'elles entraînent. L'épidémiologie de ces maladies est fortement impactée par les modifications climatiques et, plus généralement, par les changements globaux.[1][2]

Les leishmanioses sont des maladies mondialement distribuées, causées par des parasites protozoaires appartenant au genre *Leishmania* transmis en conditions naturelles par la pique des phlébotomes .cette maladie est endémique dans 89 pays du monde, fondamentalement dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique , d'Asie, d'Europe , et principalement le centre et le sud de l'Amérique .Environ 350 millions, de personne vivent dans des zones exposées au risque d'infestation .on estime entre 12 et 15 millions le nombre de personnes affectées et à 1,5 à 2 million de nouveaux cas se produisent chaque année, ce qui cause 70 000 décès par an.[3]

L'Algérie, compte parmi les pays les plus touchés du bassin méditerranéen et du Maghreb, par cette zoonose.

Ces maladies constituent un problème de santé publique grave et croissant.[4][5]

Les dérivés pentavalents de l'antimoine, dont le Glucantime®, demeurent la meilleure arme thérapeutique de la leishmaniose. C'est le médicament de premier choix recommandé par l'Organisation mondiale de la santé pour le traitement de cette maladie. Toutefois, ce choix thérapeutique expose aux risques d'effets indésirables parfois graves.[6][7]

L'objectif de notre travail est d'étudier et évaluer in vitro l'effet toxique de Glucantime® sur un modèle universelle de cellule animal qui est le globule rouge.

*Chapitre (1):
Leishmaniose*



1. Définition :

Les leishmanioses sont des maladies provoquées par des parasites protozoaires d'espèces différentes du genre *Leishmania*, qui sont transmis à l'homme par la piqûre de phlébotomes femelles infectés (dont 98 espèces sont vecteurs de la maladie).

Il existe 4 formes principales de la maladie: la leishmaniose viscérale (LV, aussi connue sous le nom de kala-azar); la leishmaniose dermique post-kala-azar (LDPKA); la leishmaniose cutanée (LC); et la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM).

La leishmaniose cutanée est la forme la plus fréquente de la maladie, mais la leishmaniose viscérale est la plus grave, presque toujours mortelle en l'absence de traitement.

En outre, la leishmaniose peut être anthroponosique ou zoonotique, selon que l'homme ou l'animal constitue le réservoir naturel du parasite.[8]

2. Historique :

- Les leishmanioses étaient connues depuis longtemps, 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.[9]
- En 1898, en Ouzbékistan, le médecin militaire Borovsky mentionna un protozoaire dans des prélèvements d'ulcère, sans déterminer le statut taxonomique .[10]
- En 1900, Sir William LEISHMAN eut découvert l'agent de la leishmaniose dans des frottis de la rate d'un soldat mort de fièvre à Dum-Dum en Inde. Les résultats de cette découverte n'ont été publiés qu'en 1903.
- La même année, Charles Donovan identifia le même parasite dans une biopsie de rate. Ce parasite fut nommé *Leishmania donovani*. [11]
- En 1904, Rogers décrit dans une culture in vitro de sang citraté des formes flagellées, probablement des promastigotes. [10]
- La première culture fut obtenue par Nicolle et Sicre en 1908.[11]
- En 1909, Nicolle décrit *Leishmania infantum* en Afrique du nord et en 1913, Chagas identifia la maladie, tandis que Migone retrouva le parasite, appelé *Leishmania chagasi*, en Amérique du sud. Toutefois, il s'avère qu'actuellement *Leishmania chagasi* appartient au même type parasitaire que *Leishmania infantum* et *Leishmania donovani*.
- Dans une même année, le même auteur démontra l'inoculabilité de *Leishmania infantum* au chien.

- En 1910, la première observation sur la leishmaniose canine en Algérie était rapportée par les frères Sergent.
- En 1911, Carlos Chagas envisageait la présence de l'affection dans le bassin de l'amazone.
- La même année, Lemaire découvrit le premier cas de LV (Leishmaniose viscérale) humaine en Algérie dans le foyer de la kabylie .[12]
- En 1921, en Algérie, les frères sergent et leurs collaborateurs établirent le rôle du vecteur des phlébotomes en réussissant la transmission du bouton d'orient par application des broyats de ses insectes sur les scarifications cutanées.
- La transmission par le phlébotome a été découverte en Inde en 1924 par les frères Sergent pour *L.donovani* et au Maghreb en 1926 par Parrot et Donatien pour *L.infantum*. Ces deux derniers ont démontré les huit années suivantes le rôle des chiens dans le cycle de *L.infantum* .[13]
- Le cycle du parasite ainsi que sa répartition géographique furent étudiés de 1925 à 1928 par Alder, Théoder et Christopher.[14]
- En 1974, Chance, Gardener et Peters reconnaissaient l'appartenance de *Leishmania chagasi* au complexe donovani-infantum. La synonymie était établie entre *Leishmania chagasi* et *Leishmania infantum* en 1980.
- La chimiotaxonomie, Mise en place par Maazoom en 1981 s'est révélée performante en matière d'étude écoépidémiologique des foyers leishmaniens et d'un point de vue fondamental, elle a permis des études taxonomiques des leishmanies.[15]

3. Étiologie :

3.1.Agent pathogène :

3.1.1. Morphologie du parasite :

Les leishmanies sont des parasites protozoaires appartenant à la famille des Trypanosomatidae, à l'ordre des Kinetoplastidae et au genre *Leishmania*. [11,16]

Les leishmanies présentent au cours de leur cycle évolutif deux grands stades successifs : le stade promastigote dans le tube digestif du phlébotome et en culture, et le stade amastigote intracellulaire, à l'intérieur des cellules du système des phagocytes mononuclées chez l'hôte vertébré. [17]

LEISHMANIOSE

Le stade promastigote : est une forme allongée avec une longueur d'environ 10 à 25 μ m. Le noyau est approximativement central, le kinétoplaste est situé au niveau de la partie antérieure de l'organisme d'où s'échappe un flag.

Le stade amastigote : est un petit corpuscule ovalaire ou arrondi mesurant 2 à 6 μ m de diamètre, il contient un noyau, un kinétoplaste, et une ébauche de flagelle ne faisant pas saillie à l'extérieur. C'est un stade intracellulaire obligatoire, retrouvé dans les tissus de l'hôte vertébré.[18]



Figure 1 : Formepromastigote de Leishmania.[19]

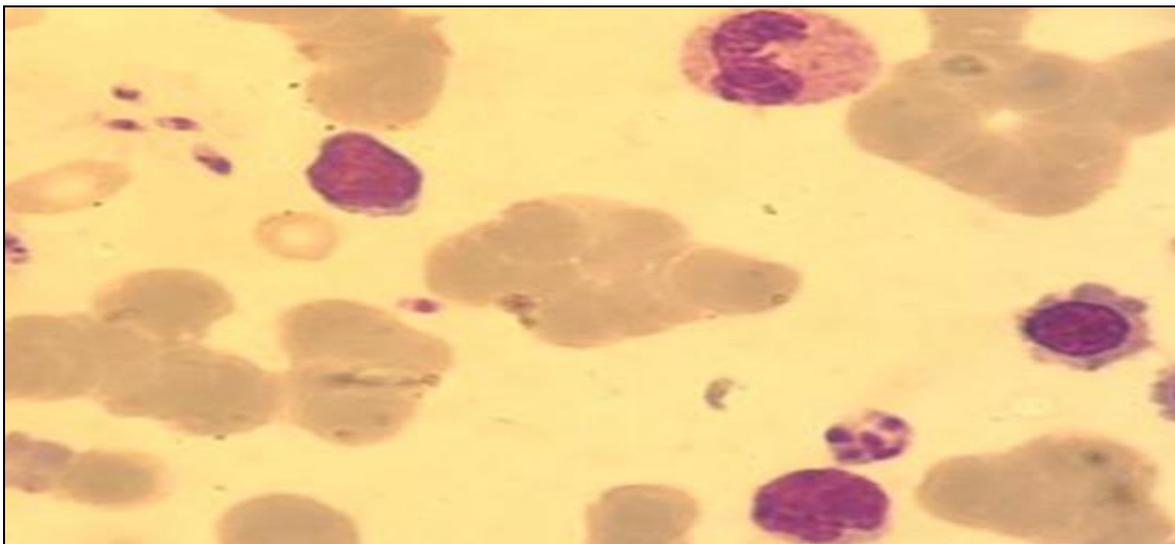


Figure 2 : de corps de leishmanies sous forme amastigote en extra cellulaire au myélogramme ($\times 100$).[20]

3.2. Vecteur :

Les leishmanies sont des parasites transmis à l'homme par la pique des insectes vecteurs, ces derniers sont des moucheron piqueurs de petite taille , de 1.5 à 4 mm de long ,de couleur claire, en général jaune paille, leur corps est couvert de poils et ils présentent des ailes lancéolées dressées .[17]

C'est un insecte, diptère, nématocère de la famille des Psychodidae, sous-famille de Phlebotominae avec deux genres, Phlebotomus dans l'Ancien Monde et Lutzomyia dans le Nouveau Monde, dont seule la femelle est hématophage.[21]

Il existe plus de 600 espèces de phlébotomes réparties dans presque toutes les régions biogéographiques du monde. Parmi elles, sur environ 70 suspectées vectrices, une vingtaine seulement sont des vecteurs prouvés .[22]

En Algérie, les espèces incriminées dans la transmission des Leishmania sont, Phlebotomus perniciosus, vecteur de Leishmania infantum, responsable de la leishmaniose viscérale zoonotique et de la leishmaniose canine, et Phlebotomus perfiliewi, vecteur d'un variant enzymatique de L. infantum, responsable de la leishmaniose cutanée sporadique .Ces deux espèces sont retrouvées principalement dans les régions humides à subhumides du Nord ; au Sud avec un climat aride c'est par contre Phlebotomus papatasi ,vecteur de L. major, agent de la leishmaniose cutanée zoonotique qui domine.[21]



Figure 3: Femelle de Phlebotomus sp. Gorgée de sang.[23]

3.3. Le réservoir :

Les réservoirs naturels des *Leishmania* sont des mammifères domestiques ou sauvages, chez lesquels le parasite colonise les cellules du système des phagocytes mononuclées. Ces mammifères appartiennent à divers ordres : carnivores, rongeurs, marsupiaux, édentés, primates ou périssodactyles. Dans certains cas, l'homme est l'unique réservoir du parasite.[18]

En Algérie, la leishmaniose viscérale admet le chien comme réservoir, depuis les travaux des frères Sargent en 1910.[24]

Le réservoir de la leishmaniose cutanée zoonotique en Algérie est représenté essentiellement par deux rongeurs sauvages, *Psammomys obesus* et *Merionesshawi*. Alors que le chien est admis comme réservoir de la leishmaniose cutanée du nord.[8]



[A]MARIONES SHAWI (rat de champs)[25]. [B]PSAMMOMYS OBESUS (rat de sable)[26]

Figure 4: Réservoir du parasite.

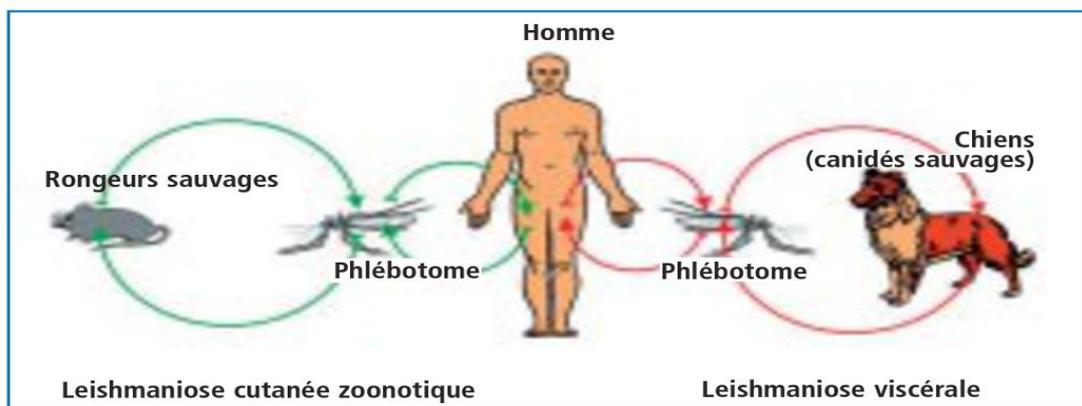


Figure 5: les réservoirs des leishmanioses en Algérie.[24]

3.4. Le cycle de parasite :

Il se déroule entre deux hôtes : un vertébré (homme, chien, rongeurs...) et l'insecte vecteur. La leishmaniose est transmise à l'homme par la piqûre des phlébotomes femelles infectés.

3.4.1. Chez le vecteur

Le phlébotome, s'infeste en piquant un homme ou un animal malade. Il absorbe ainsi les macrophages infectés. Au niveau du tube digestif de l'insecte, les formes amastigotes se transforment en formes promastigotes dans les heures qui suivent, et s'échappent de la membrane péritrophique. Ils subissent un cycle complexe comportant de nombreuses divisions mitotiques, deux étapes de fixation à l'épithélium de la muqueuse intestinale et une phase de migration vers la partie antérieure du tube digestif, où a lieu la métacyclogenèse.

[18]

3.4.2. Chez l'hôte définitif :

Lors d'un prochain contact avec un mammifère sain, l'insecte injecte les formes promastigotes métacycliques suite aux efforts de succion au niveau du site de la piqûre, ces formes infestantes sont phagocytées par les macrophages du derme et se transforment dans 14 quelques minutes en amastigotes en perdant leur flagelle. Ces amastigotes se multiplient et survivent dans les phagolysosomes des cellules du système réticulo-endothélial infectées. La cellule hôte finit par éclater, libérant les parasites qui pénètrent aussitôt dans de nouvelles cellules.[27]

La localisation du parasite dans les divers organes du patient est directement liée au tropisme des espèces de *Leishmania*. Il existe trois espèces à tropisme viscéral (*L. donovani*, *L. chagasi* et *L. infantum*) responsables de leishmaniose viscérale : les amastigotes vont infecter d'autres phagocytes mononucléés du système réticulo-endothélial et ainsi entraîner une infiltration de la moelle osseuse, une hépato-et splénomégalie et parfois des lymphadénopathies. Les phlébotomes s'infectent pendant les repas de sang sur un hôte infecté quand ils ingèrent des macrophages porteurs d'amastigotes. Dans l'intestin du phlébotome, les parasites se différencient en promastigotes, qui se multiplient et se différencient en promastigotes métacycliques et migrent dans la trompe du phlébotome .[28]

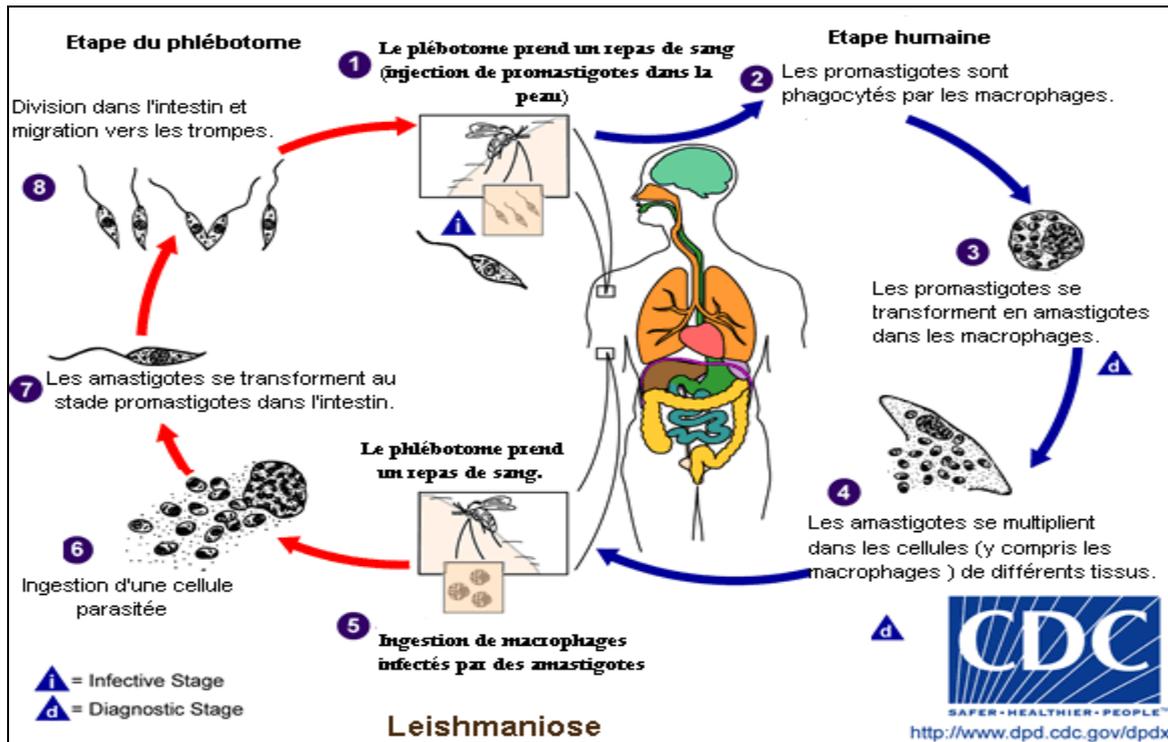


Figure 6: le cycle évolutif de la leishmaniose [29]

4. Répartition géographique :

4.1. Dans le monde :

Les leishmanioses sont largement répandues à la surface du globe et les différentes formes cliniques de leishmanioses sévissent sur quatre des cinq continents, essentiellement dans les régions tropicales et subtropicales [30]. Elles sont endémiques dans 98 pays, principalement en développement, dont 72 sont parmi les plus pauvres. On distingue les leishmanioses de l'Ancien Monde (Sud de l'Europe, Afrique, Proche-Orient et Asie) et celles du Nouveau Monde (Amériques du Nord, du Sud et Centrale). L'incidence mondiale de la leishmaniose symptomatique est estimée à 1,5 à 2 millions de cas annuels. La prévalence mondiale dépasse 10 millions de cas[31]. Les leishmanioses sont considérées comme étant la deuxième cause de mortalité d'origine parasitaire après le paludisme. . Pourtant elles demeurent parmi les maladies les plus négligées dans le monde.[32]

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), près de 350 millions de personnes, soit 6% de la population mondiale sont exposées au risque de contamination et 12 millions de personnes sont infectées. Le nombre de nouveaux cas par an diagnostiqués cliniquement s'élève à deux millions (500 000 pour la LVH=leishmaniose viscérale humaine et 1500000 pour la LCH=leishmaniose cutanée humaine). Données OMS 2007.

En 2015, sur les 200 pays ayant communiqué des données à l’OMS, 75 pays étaient considérés comme pays d’endémie pour la leishmaniose viscérale (LV) et 87 comme pays d’endémie pour la leishmaniose cutanée (LC). [8]

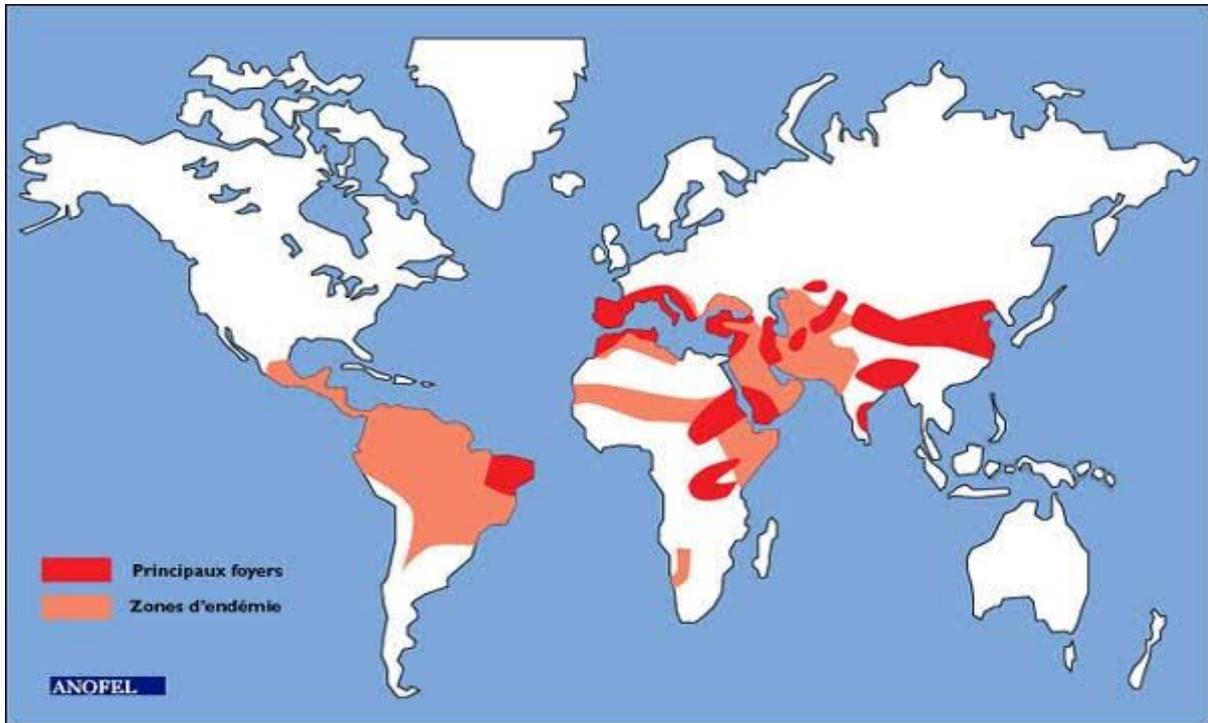


Figure 7: Répartition géographique des leishmanioses dans le monde.[28]

4.2. En Algérie :

En Algérie, la leishmaniose humaine et canine est endémique et représente un sérieux problème de santé publique. Avec une prévalence de leishmaniose cutanée plus élevée que viscérale, l’Algérie est considérée comme le pays le plus touché en Afrique du Nord.[33]

Elle est concernée par quatre formes cliniques sévissant à l’état endémique : la leishmaniose viscérale (LV), la leishmaniose cutanée sporadique du nord (LCS) et la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) et tout dernièrement, la forme anthroponotique à *L. killicki* qui fut récemment signalée à Ghardaïa.[34]

La LV se répartit sur toute la partie nord du pays au niveau des étages bioclimatiques humides et subhumides.[24] , Dans laquelle pose un problème de santé en Algérie où 111 cas sont rapportés chaque année.[35]

A côté des anciens foyers, Tizi-Ouzou, Boumerdès , Médéa, Constantine, Jijel, de nouveaux foyers sont apparus; à l’Est, Annaba et Collo; au centre, la Mitidja, la Chiffa et Chlef et à l’Ouest, Tlemcen et Oran. L’existence de leishmaniose canine dans la région de Tlemcen rend cette ville de l’Ouest un territoire potentiel pour cette forme viscérale.[24]

LEISHMANIOSE

La LCZ est la forme la plus rencontrée en Algérie. Elle correspond au clou de Biskra et s'observe à l'état endémo-épidémique dans les régions arides et semi-arides, principalement au niveau de la frange nord du Sahara[23] . Les foyers anciennement connus sont ceux de Biskra à l'Est et Abadla à l'Ouest. Les nouveaux foyers tels ceux de Msila, Boussaâda, Tiaret et Béchar. Cette forme se singularise par son extension rapide à partir des foyers anciens et devient de plus en plus fréquente au Nord au sein même des zones d'endémie de LV. Les nouveaux foyers au nord concernent Batna, Médéa, Tiaret et Bordj Bouarreridj .[36]

Dans la partie sud du pays et plus particulièrement dans l'Oasis de Ghardaïa, il existe une nouvelle espèce à coté de leishmania major, *L. killicki* appartenant au complexe tropica.[34, 37] a été isolée au cours de l'année 2005 et identifiée comme *L.killicki*.[36]

La Leishmaniose cutanée sporadique (LCS) :elle se produit sur le littoral du nord du pays , causée par *L. infantum* MON 24, avec *Phlebotomusperfliewi* comme vecteur et les chiens impliqués comme réservoir.[5]

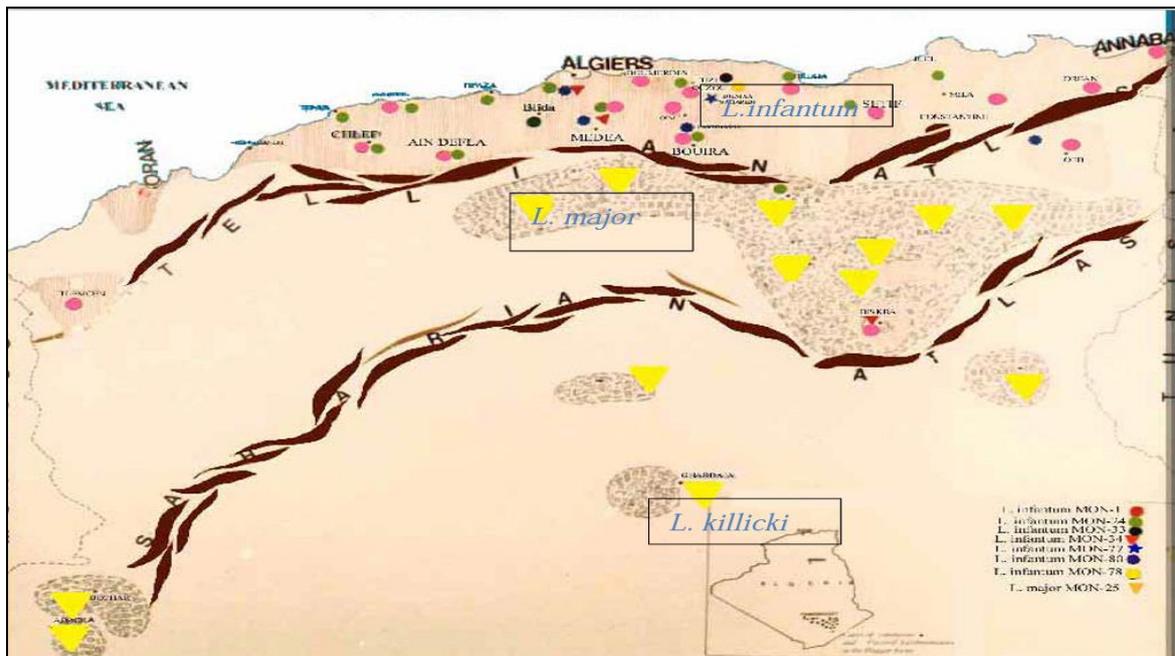


Figure 8: Répartition géographique de *L. infantum* et de *L. major* en Algérie.[24]

4.2.1. Manifestations cliniques :

Les manifestations d'infection Leishmania peuvent varier d'asymptomatique à la maladie cliniquement patente qui peut rester localisée à la peau ou disséminée aux muqueuses orales et respiratoires supérieures ou partout dans le système réticulo endothélial. L'expression clinique dépend à la fois du tropisme des espèces de Leishmania et de statut immunitaire de l'hôte, ainsi que des modalités de sa réponse immunitaire .[38]

4.3. Leishmaniose cutanée :

La LC peut se manifester avec une ou plusieurs lésions cutanées sur les parties découvertes du corps (visage, les membres supérieurs et les membres inférieurs) dans les semaines ou les mois et parfois même les années qui suivent la piqûre du phlébotome. [39-41]



Figure 9: Boutond'Orient - aspect ulcéro-croûteux [28]



Figure 10 : Leishmaniose cutanée - pseudo-impitigineux[28]

En Algérie, la leishmaniose cutanée est observée sous deux formes cliniques et épidémiologiques distinctes la forme cutanée sporadique du nord à *Leishmania infantum* et la forme cutanée zoonotique à *Leishmania major*. Ces zoonoses sont observées dans 41 wilayas sur les 48 que compte le pays. [42]

4.3.1. La leishmaniose cutanée zoonotique :

Elle est dite leishmaniose cutanée humide des zones rurales, la forme la plus fréquente est la forme ulcéro-croûteuse, qui caractérise par une incubation courte (15 jours à 3 mois après la piqure infectante). La lésion se présente comme une papule qui évolue rapidement vers une ulcération indolore, sauf en cas de surinfection ; Elle est habituellement arrondie ou

ovalaire, bien circonscrite avec des contours réguliers. Elle mesure de 1 à 5 cm de diamètre , mais peut atteindre 10 à 12 cm . À côté de cette forme, il existe d'autres: ulcérovégétantes, verruqueuses et plus rarement lupoides[23, 43]. Le nombre de lésions est variable et dépend du nombre de piqûres infectantes, souvent unique, mais peuvent être multiples .Elles siègent le plus souvent sur les parties découvertes et exposées à la pique des Phlébotomes (le visage , les mains , l'avant-bras et les membres inférieures) . Elles évoluent spontanément vers la guérison en 3 à 5 mois au prix d'une cicatrice rétractile indélébile. La durée d'évolution de la leishmaniose cutanée zoonotique est habituellement courte. [24, 44]

4.3.2. La leishmaniose cutanée de nord :

Elle s'oppose à la leishmaniose cutanée zoonotique par de nombreux points. Sur le plan clinique, la leishmaniose cutanée du Nord se présente comme une seule petite lésion siégeant au niveau de la face, très inflammatoire ; elle ne s'ulcère habituellement pas et, quand elle le fait, ne se recouvre jamais d'une croûte épaisse. Sa durée d'incubation est longue, tout comme sa durée d'évolution. La leishmaniose cutanée du Nord nécessite souvent un traitement afin d'accélérer le processus de cicatrisation, qui ne se fait spontanément qu'au-delà d'un an .[24] A côté de ces deux entités nosoépidémiologiques .une troisième forme a été isolée a Ghardaïa et admet comme vecteur Phlebotomussergenti.

4.4. Leishmaniose viscérale :

Aussi connue sous le nom de kala-azar (la maladie noire). Ce type de leishmaniose se développe des mois, voire des années après l'inoculation du parasite et constitue la forme la plus sévère de la maladie. Elle est presque toujours fatale en l'absence de traitement. Les symptômes cliniques incluent entre autres la fièvre, les douleurs abdominales, la diarrhée, l'épistaxis, la splénomégalie, l'hépatomégalie et la cachexie[45]. Elle existe aussi bien dans l'ancien Monde que dans le nouveau monde et plus de 90% des cas sont retrouvés dans 6 pays : Bangladesh, Brésil, Ethiopie, Inde, Soudan, and Soudan du sud).[46]

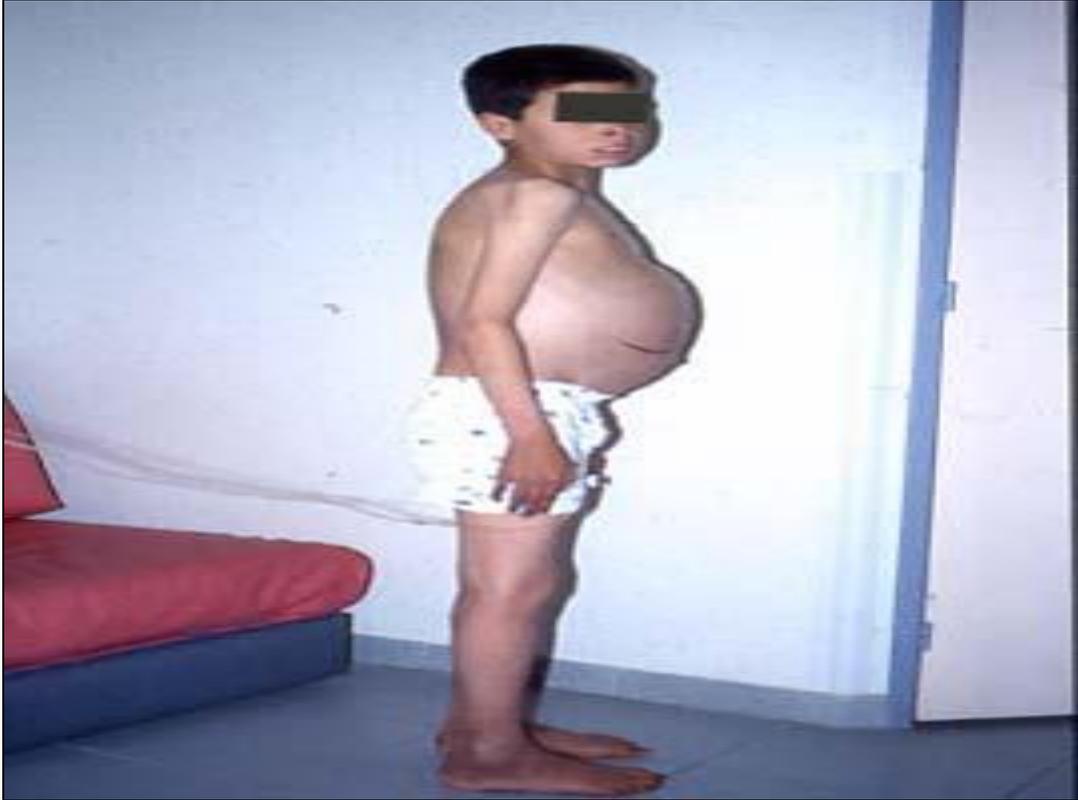


Figure 11:Aspect clinique d'un enfant atteint de LV [28]

4.4.1. La leishmaniose viscérale infantile (LVI)

La LV infantile prédomine dans le pourtour du bassin méditerranéen. Elle touche essentiellement le jeune enfant dans les tranches d'âge situées entre 6 mois et 4 ans. D'après l'OMS, les enfants les plus touchés sont âgés de 1 à 4 ans.

La période d'incubation est variable et les manifestations de LV peuvent apparaître de 10 jours à plus d'un an suivant l'exposition.

Le tableau clinique typique de la LVI est dominé par la triade classique : fièvre folle, pâleur cutané-muqueuse et splénomégalie stade IV.

La fièvre est le signe le plus précoce, le plus courant et le plus constant. Elle est intermittente, irrégulière et élevée (40à41°C).

La pâleur est un signe d'anémie, est tout particulièrement évidente sur peau claire, dont la teinte cireuse attire l'œil.[18]

La splénomégalie est un signe précoce et fréquent (environ 80% des cas). La rate est dure, lisse et indolore et peut devenir énorme, atteignant l'hypochondre gauche, c'est la plus grosse rate infantile (stade IV)

L'hépatomégalie n'est ni aussi fréquente ni aussi précoce que la splénomégalie. Elle est en général discrète ou modérée, rarement volumineuse. Le foie est indolore à la palpation et à la percussion.

Un autre signe supplémentaire « La lymphadénopathie ». Des micropoly-adénopathies superficielles, petits, fermes, indolores et mobiles apparaissent en cours d'évolution, aux sites cervicaux et inguinaux, plus rarement axillaires. Ce tableau clinique peut se compliquer, avec le temps, de signes d'atteinte digestive, pulmonaire et de troubles hémorragiques (gingivales ou des épistaxis, parfois très abondantes, plus rarement du purpura). Une atteinte bronchique est possible caractérisée par une toux sèche, irritative et sans expectoration. [18]

4.4.2. La leishmaniose viscérale de l'adulte immunocompétent :

Le tableau clinique chez l'adulte est très variable allant d'un seul signe, fièvre isolée à évolution prolongée, splénomégalie discrète ou une adénopathie cervicale isolée à un tableau clinique typique associant une fièvre, un amaigrissement, une splénomégalie et hépatomégalie. De plus, des manifestations cutanées sous formes de taches noirâtres ou bistres sont souvent associées, d'où le nom de Kalaazar (fièvre noire) donné en Inde à la LV anthroponotique. [47]

4.4.3. La leishmaniose viscérale de l'adulte immunodéprimé :

La co-infection VIH/Leishmania mérite une attention particulière car les deux pathogènes ciblent les mêmes cellules et exercent un effet délétère synergique sur la réponse immunitaire cellulaire. Elle est associée à un pronostic plus sombre. La leishmaniose survient principalement en cas de déficit immunitaire sévère : taux de CD4 inférieur à 200 par microlitre dans 90 % des cas. Les patients ont habituellement tendance à développer d'emblée une LV sans épisode cutané préalable, même avec des espèces dermatropes. [17, 48-50]

Dans ce cas, les atteintes inhabituelles bronchiques, digestives, ou tégumentaires et des adénopathies multiples paraissent plus fréquentes. La triade clinique semble plus rare : la splénomégalie en particulier peut manquer, mais la significativité de ces résultats reste débattue.

De plus, les traitements anti leishmanies eux-mêmes peuvent aggraver l'évolution de l'infection à VIH. Ainsi, les antimonies stimuleraient la réplication du VIH. La co-infection correspond donc à un cercle vicieux qui nécessite une prise en charge spécifique. [48]

La LV survenant chez l'adulte immunodéprimé non VIH ne présente pas de caractéristiques cliniques particulières. Toutefois, le sérodiagnostic est ici plus constamment positif.[48] Les principales étiologies d'immunodépression sont les suivantes : hémopathies (leucémie lymphoblastique aiguë, leucémie myéloïde chronique et maladie de Hodgkin), lupus érythémateux disséminé, maladie de Crohn, sarcoïdose et fièvre typhoïde. Les déficits immunitaires iatrogènes consécutifs et l'emploi des corticoïdes et autres immunosuppresseurs, utilisés pour traiter une infection ou accompagner une greffe d'organe, sont également responsables de LV.

5. Traitement de la leishmaniose :

5.1.L'amphotéricine B :

L'amphotéricine B (Fungizone®), antifongique utilisé dans le traitement des mycoses systémiques, représente un antileishmanien puissant utilisé dans le traitement des leishmanioses graves (viscérales et muqueuses) ou résistantes aux antimonies. Bien que toxique pour la fonction rénale, du fait de son prix abordable, c'est l'une des solutions au problème de la résistance. La Fungizone s'administre en perfusion intraveineuse lente à la posologie maximum de 1 mg/kg par jour (un jour sur deux) sous surveillance médicale pendant 3 à 4 semaines.

L'amphotéricine B conventionnelle est actuellement en France remplacée par une formulation lipidique, la forme liposomale étant la plus utilisée (Ambisome®). Ce produit a l'AMM pour son usage dans la 14 © UMVF - Université Médicale Virtuelle Francophone leishmaniose viscérale et a montré une toxicité inférieure à celle de la forme conventionnelle, avec une efficacité accrue dans la leishmaniose viscérale du sujet immunocompétent et immunodéprimé. Le protocole proposé chez le patient immunocompétent est une injection quotidienne de 3 mg/kg pendant 5 jours, plus une injection à même dose au dixième jour (dose totale : 18 mg/kg). Une dose cumulée plus élevée est sans doute nécessaire chez l'immunodéprimé.[28]

Il ya aussi :

L'Amphocil®:

Amphotéricine B en dispersion colloïdale. C'est une dispersion lipidique d'amphotéricine B et de cholestérol. Des essais cliniques ont fait preuve d'une bonne efficacité et d'une toxicité moindre. La dose est de 2mg /kg/j pendant 7 à 10 jours.

L'Abelcet® :

Est un complexe lipidique d'amphotéricine B avec des phospholipides.

5.2. La pentamidine :

Pentamidine Seul l'iséthionate de pentamidine, commercialisé sous le nom de Pentacarinat®, est disponible. Il est aujourd'hui surtout utilisé comme médicament de première intention dans le traitement de certaines formes de LC en cure courte. Il s'administre par voie parentérale, à la dose de 4 mg/kg et par injection.[28]

Son mode d'action non complètement élucidé semble s'effectuer, soit par inhibition de la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) par blocage de la thymidine-synthétase, soit par fixation sur l'acide ribonucléique (ARN) de transfert .[51]

La pentamidine peut induire des effets secondaires immédiats, de type allergique ou local, surtout en cas de perfusion rapide. Les effets toxiques survenant au cours d'une série d'injections sont dépendants de la dose et peuvent atteindre les muscles, le rein, les lignées sanguines, le pancréas et entraîner des diabètes insulino-dépendants.[28]

5.3. Antimoniés pentavalents :

L'efficacité des antimoniés dans le traitement des leishmanioses est confirmée par près d'un siècle d'utilisation. Les produits disponibles sont l'antimonié de méglumine (Glucantime®) en France et le stibogluconate de sodium (Pentostam®) dans les pays anglo-saxons. Le traitement se prescrit par voie intramusculaire, intraveineuse ou en intralésionnel (formes cutanées). Dans les leishmanioses viscérales, la posologie est de 20 mg/kg par jour de dérivé pentavalent d'antimoine pendant 4 semaines. En raison de sa toxicité cardiaque (conduction ventriculaire), rénale et pancréatique, ce traitement, peu onéreux par lui-même, impose un suivi biologique et clinique étroit. C'est le traitement de première intention dans les zones d'endémie à faibles revenus. Malheureusement, en Inde, les résistances aux antimoniés sont de plus en plus fréquentes.[28]

5.4. Miltéfosine :

Elle a été initialement développée comme un anticancéreux par voie orale. Son effet antileishmanien a été montré secondairement. Les effets secondaires sont essentiellement digestifs : anorexie, nausées, vomissements et diarrhée. Plus rarement, les effets secondaires peuvent être sérieux nécessitant un arrêt du traitement : éruption cutanée, hépatite toxique ou insuffisance rénale.

La miltéfosine est potentiellement tératogène et ne doit pas être utilisée chez la femme enceinte. Une contraception orale est obligatoire chez les femmes en âge de procréer pendant le traitement et trois mois après son arrêt. La miltéfosine doit être prise après les repas. L'OMS recommande la miltéfosine à la dose de 2,5 mg/kg par jour pendant 28 jours pour la leishmaniose cutanée due à *L.mexicana*, *L.guyanensis* et *L.panamensis*. Des taux de guérison de 70 à 75 % ont été observés dans la leishmaniose cutanée à *L.braziliensis* au Brésil, en Colombie et en Bolivie. [52]

D'autre agent

5.5. L'allopurinol :

Cet analogue structural de l'hypoxanthine (Zyloric®) a la propriété de s'incorporer à l'ARN des leishmanies sur lesquelles il a un effet létal. La posologie utilisée est de 20 mg/kg/j, par voie orale, il s'élimine rapidement par voie rénale. [18]

L'aminosidine sulfate, ou paromomycine, est d'efficacité démontrée dans la leishmaniose viscérale à *L. donovani* en Inde (voie intramusculaire) et dans la leishmaniose cutanée localisée à *L. major* (forme topique, non disponible en France). L'atovaquone et des triazolés, seuls ou associés à des antimonies, font l'objet de quelques essais limités[28].

5.6. L'aminosidine :

(Gabbromycine) est un antibiotique de la famille des aminoglycosides. Le mode d'action leishmanicide paraît lié à un défaut de lecture de l'ARN messager[53]. Elle est administrée en IM ou en IV à la dose de 16 à 20 mg/kg pendant 21j en monothérapie ou associée aux antimonies. Dans deux études non randomisées, l'aminosidine montre une meilleure efficacité dans la prévention des rechutes que l'antimoine

Chapitre (2):
Le Glucantime[®]



1. Présentation :

Les composés antimoniaux pentavalents restent le traitement de première ligne contre les formes cutanées et viscérales de leishmaniose en Afrique du Nord. L'Antimoniote de Méglumine (Glucantime®) conventionnelle sont inscrits sur la Liste nationale des médicaments essentiels. [54]

Le Glucantime®, il est sous forme d'une boîte de 5 ampoules de 5 ml correspondant à 1,5 g d'Antimoniote de Méglumine (la figure 1), à reconstituer avec de l'eau pour préparation injectable, à usage parentéral intramusculaire, intraveineux et intra lésionnel.[55]

L'antimoniote de méglumine est commercialisé par Sanofi-Aventis.[56]



Figure 12: Modèle d'une boîte du Glucantime®.[57]

- Substance active : Méglumine antimoniote.
- Excipients : Potassium désulfite.
Sodium sulfite anhydre.
Eau pour préparations injectable.
- Excipients à effet notoire : Potassium disulfite.
- Mode d'emploi du médicament : La solution peut être injectée par voie intramusculaire ou directement dans lésions cutanées.[55]

1.1. Dénomination et composition de médicament :

GLUCANTIME 1,5 g/5 ml, solution injectable.

- Antimoniote de Méglumine 1,5000 g
- Quantité correspondante en antimoine 0,4050 g

Pour une ampoule de 5 ml. [58]

1.2. Classe thérapeutique :

- Dérivés de l'antimoine.
- Antiparasitaire ; Anti-leishmanies.[55]

2. Propriétés physico chimiques de produit :

Deux sels pentavalents d'antimoine chimiquement voisins, mais à teneur en antimoine distincte, sont disponibles de nos jours :

L'antimoniote de méglumine (Glucantime®), et les tibogluconate de sodium (Pentostam®). [18]

2.1. Le nom et l'origine de la substance :

Le nom : Antimoine, sels pentavalents.

L'origine : L'antimoniote de méglumine et le tibogluconate de sodium sont obtenus par synthèse.[59][13]

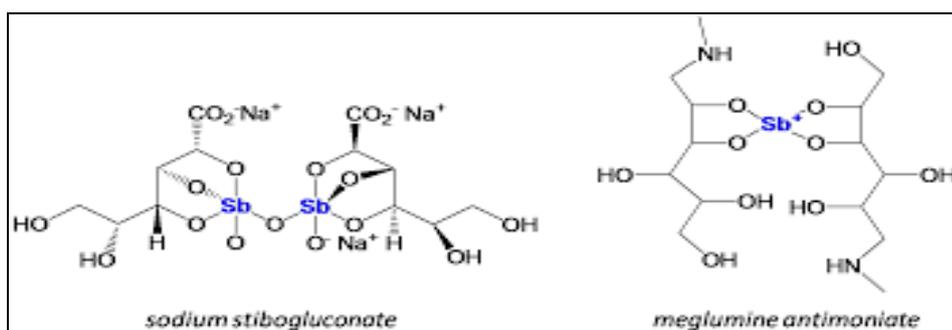


Figure 13 :Formule chimique Antimoniote de Méglumine et de Tibogluconate de sodium.[60]

2.2. Formule brute :

- Antimoniote de Méglumine : $C_7 H_{18} NO_8 Sb$.
- Tibogluconate de sodium : $C_6 H_8 Na_2 O_9 H_8 Sb$. [59]

2.3. Propriétés Physicochimique :

- Couleur: Antimoniote de méglumine: blanche
- Forme: Cristaux.
- Poids moléculaire: Antimoniote de méglumine: 366g/mole.

Description:

- Antimoniote de méglumine : odeur faible.
- Facilement soluble dans l'eau.
- Le pH de la solution obtenue est compris entre 6 et 7.
- Il est insoluble dans l'alcool ; l'éther et le chloroforme.[59]

Durée de conservation :

- Avant ouverture : 3 ans. À l'abri de la lumière.
- Après ouverture : le produit doit être utilisé immédiatement.[57]

3. Posologie et mode d'administration :

La posologie recommandée par l'OMS est de 20 mg d'Sb par kilogramme et par jour (avec un maximum quotidien de 850 mg), pendant 20 jours.[61]

Mode d'administration :

L'intraveineuse est beaucoup moins douloureuse. Chez les adultes, le médicament doit être administré dilué dans 50 à 200 ml de solution glucosée à 5 % pendant 30 à 60 minutes.[56]

La voie intramusculaire il est conseillé de ne pas dépasser 850 mg/j en ce qui concerne le traitement des leishmanioses viscérales, mais cette limitation pourrait cependant entraîner l'apparition de résistances.[62]

Le traitement doit être suivi jusqu'à guérison clinique et biologique.[62]

- Pour la posologie du (Glucantime®) selon le service de dermatologie CHU Tlemcen est la suivante:[63]

- Chez l'adultes : 60 mg/kg/jr avec une dose maximale de 100 mg/kg/jr.
- Chez l'enfant: soit la demi-dose : 30 mg/kg/jr.

4. Indication de traitement :

L'antimoniote de glucamine s'utilise selon des schémas variables d'un pays à l'autre, à des doses plus ou moins fortes, mais toujours en cures, espacées de période de repos destinées à assurer l'élimination de l'antimoine.[59]

4.1. Leishmaniose cutanée :

A l'exception des formes à Leishmania Braziliensis et Leishmania Amazonensis :

Les injections au niveau des lésions ne doivent être envisagées qu'au stade précoce.

L'infiltration doit être profonde jusqu'à l'obtention d'un blanchiment complet à la base de la lésion.

Un traitement par voie générale est nécessaire quand les lésions sont trop nombreuses, enflammées, ulcérées ou situées dans un endroit où des cicatrices risqueraient d'être inesthétiques ou incapacitantes, en particulier s'il y a obstruction des voies lymphatiques ou atteinte cartilagineuse.[64]

4.2. Les leishmanioses cutanées localisées :

Les leishmanioses cutanées localisées (LCL) de l'Ancien Monde due à *Leishmania-tropical* et *Leishmania major* peuvent bénéficier d'un traitement intra-lésionnel par une solution de Glucantime® diluée à 30 p. 100 (300 mg/ml) en cas de lésions ou peu nombreuses. Le nombre d'injections (entre 2 et 10, espacées de quelques jours) et le volume injecté (1 à 1,5 ml) dépendent de la taille de la lésion et de son évolution sous traitement.[65]

4.3. Les leishmanioses Vésicales :

Le traitement de la LV du sujet immunocompétent recommandé par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) est à la posologie de 20 mg de DPA/ Kg/ j, soit 60 mg d'antimoniote de méglumine /Kg/j sans limitation de dose, pendant 28 jours par voie IM profonde ou IV en cas de thrombopénie.[58]

4.4. Les leishmanioses cutanéomuqueuses :

Le traitement de longue date de la LM a été les médicaments antimoniaux pentavalents (20 mg / kg / jour administrés par voie intraveineuse ou intramusculaire) pendant 28 jours avec ou sans pentoxifylline.[66]

5. Contre-indication :

La prise de Glucantime® nécessite l'avis de son médecin ou de son pharmacien. Il contient des sulfites et peut provoquer des réactions allergiques sévères et une gêne respiratoire.[57]

Quand ne pas utiliser ce médicament ?

- Hypersensibilité méglumine antimoniate.
- Hypersensibilité sulfites.
- Hypersensibilité antimoine.
- Insuffisances rénales, cardiaque ou hépatique.[67]
- Hypersensibilité à l'un des constituants :

En cas d'allergie aux anti-leishmanies ou à l'un des autres composants contenus dans ce médicament, ou en cas de maladies du foie, rein ou du cœur, la prise du médicament Glucantime® est contre-indiquée.

- Grossesse:

La prise du médicament Glucantime® en cas de grossesse doit se faire sous avis médical, néanmoins le traitement sera instauré car la leishmaniose viscérale est une maladie pouvant être fatale.[57]

- En cas d'allaitement :

Le passage ou non de l'antimoniate de méglumine dans le lait maternel n'est pas connu à ce jour. En conséquence, l'allaitement est déconseillé en cas de traitement par Glucantime®.[64]

6. Mises en garde spéciales et précautions d'emploi :

- ✓ Surveillance fonction hépatique.
- ✓ Surveillance fonction rénale.
- ✓ Anomalie de la fonction hépatique.
- ✓ Anomalie de la fonction rénale.
- ✓ Surveillance ECG.
- ✓ Risque d'allongement de l'intervalle QT.
- ✓ Syndrome congénital du QT long.
- ✓ Maladie cardiaque.[67]

6.1. Mises en garde spéciales :

En raison du risque d'intolérance à l'antimoine, il est conseillé de surveiller, les fonctions hépatique et rénale tout au long du traitement. En cas d'anomalies, diminuer les doses.

Ce médicament contient du « sulfite » et peut, dans de rares cas, provoquer des réactions d'hypersensibilités sévères et des bronchospasmes.[68]

6.2. Précaution particulières d'emploi :

Une alimentation riche en protéines doit être administrée pendant toute la durée du traitement, celui-ci étant précédé si possible par la correction d'une éventuelle carence en fer ou de toute autre carence spécifique.[58]

7. Les effets indésirables de ce médicament :

Comme tous les médicaments, ce médicament peut provoquer des effets indésirables, mais ils ne surviennent pas systématiquement chez tout le monde.[57]

Les effets indésirables courants du traitement à l'antimoine comprennent l'anorexie, les nausées, les vomissements, les douleurs musculaires, les maux de tête, la léthargie et les douleurs osseuses et articulaires.[69]

Le risque d'effets indésirables graves avec ce traitement est probablement plus élevé chez les patients plus âgés que chez les plus jeunes, ce qui justifie des conseils spécialisés et un suivi très proche.[56]

8. Tolérance de produit :

La tolérance de cette molécule est variable d'un sujet à un autre et on décrit classiquement deux tableaux d'intoxication au Glucantime® : la stibio-intolérance et la stibio-intoxication.[70]

Les accidents de **stibio-intolérance** consistent en l'apparition de : fièvre, toux, rash cutané, érythème au site d'injection, myalgies, asthénie et vomissements.[71]

La stibio-intoxication survient, quant à elle, plus volontiers en fin de traitement, voire même après l'arrêt de celui-ci. Les signes d'intoxication comportent une atteinte cardiaque, hépatique, rénale, pancréatique et hématologique et la gravité de ces manifestations paraît d'avantage liée à la dose totale administrée.[72]

9. Interactions médicamenteuses :

Médicaments connus pour induire un allongement de l'intervalle QT. L'antimoniade de méglumine doit être utilisé avec précaution chez les patients recevant des médicaments connus pour induire un allongement de l'intervalle QT (par exemple certains anti-arythmiques de classe IA et III, certains antidépresseurs tricycliques, certains macrolides, certains antipsychotiques, d'autres antiparasitaires).[57]

10. Pharmacocinétique :

10.1. Absorption :

L'absence d'absorption digestive de l'antimoniade de N-méthyl glucamine impose une injection par voie parentérale.

Après administration IM de 10 mg/Kg d'antimoine pentavalent un pic sérique de 10 µg/ml est atteint en quinze minutes.[65]

10.2. Distribution :

Le temps de distribution est de 51 minutes.[65]

L'antimoine pénètre dans le corps par la circulation sanguine où il se répartit différemment suivant la valence. L'antimoine pentavalent serait sous forme chargée en conditions biologiques, alors que la spéciation de l'antimoine trivalent dans les solutions et dans les fluides corporels est moins bien comprise.[73]

Chez l'homme, dans la population générale, l'antimoine est retrouvé dans les fluides et tissus à de très faibles niveaux, de l'ordre de 7 mg pour l'ensemble du poids corporel.[74]

L'antimoine a été dosé dans le lait et le placenta de femmes exposées professionnellement à des poussières d'antimoine. Le facteur de transfert depuis les aliments vers le lait maternel a été estimé à 13,2 (en g Sb/kg aliment/g Sb/L de lait).[74]

10.3. Métabolisme :

Etant donné que les antimoniés pentavalents n'ont pas d'action parasiticide directe sur les leishmanies, certains auteurs pensent que la différence d'activité in vitro et in vivo de ces produits est due à une réduction en forme trivalente.

Après une seule injection, la presque totalité du produit est éliminée dans les 1ères 24h et l'on ne trouve plus trace d'antimoine dans les urines après 48h.

Au cours du traitement avec des doses répétées, la concentration plasmatique et l'excrétion urinaire augmentent mais la balance antimoniée reste positive chez le patient.[59]

Réactivité avec les composants cellulaires :

L'antimoine est affiné des résidus thiols (groupement SH) mais moins que l'arsenic. Ceci pourrait expliquer son affinité pour l'hémoglobine des globules rouges et sa toxicité, sans que ces derniers soient bien compris. En effet, les groupes SH sont essentiels à la structure et à la fonction des protéines[75]. Il a été prouvé que l'antimoine trivalent peut se conjuguer à la Glutathionne (GSH). Cependant, il semble que le complexe Sb-GSH soit plus instable que le complexe arsénié.[73]

10.4. Demi-vie et Elimination :

L'élimination urinaire est rapide, 50 p. 100 dans les 6 heures et 80 p. 100 dans les 24 heures qui suivent l'injection. Elle peut être incomplète, avec risque d'accumulation.[73]

Il est éliminé en quelques jours par voies urinaire et biliaire (avec un cycle entéro-hépatique) pour les dérivés pentavalents et plus lentement (quelques semaines) par voie fécale et un peu par voie urinaire (demi-vie d'élimination urinaire d'environ 95 heures) pour les dérivés trivalents (dont le trioxyde d'antimoine)[76,77]

Chez l'homme, plus de 80 % de l'antimoine pentavalent (stibogluconate) injecté en intraveineux est excrété dans les urines au bout de 6 à 8 h.[74]

10.5. Mode d'action :

Les composés d'antimoine trivalent semblent interagir avec le métabolisme du thiol, induisant ainsi une fragmentation de l'ADN. D'autres rapports ont suggéré que les antimoniaux pentavalents inhibent spécifiquement l'ADN topoisomérase de *Leishmania* type I, qui agit sur le métabolisme des purines pour favoriser l'épuisement de l'ATP et du GTP, réduisant ou épuisant par la suite l'énergie du parasite.[78]

11. Toxicité :

11.1. Chez l'homme :

Adulte :

Les signes de mauvaise tolérance aux sels pentavalents d'antimoine apparaissent à partir de 30 mg/kg/injection et paraissent constants à partir de 40 mg/kg.[79]

Enfant :

Les signes de mauvaise tolérance aux sels pentavalents d'antimoine apparaissent à partir de 30 mg/kg/injection et paraissent constants à partir de 40 mg/kg.[79]

11.2. Les effets cliniques :

11.2.1. Intoxication aiguë :

La toxicité aiguë de l'antimoine dépend de sa solubilité dans l'eau et de son degré d'oxydation.

Ont été signalés également des troubles du rythme cardiaque, des atteintes hépatiques, des infections du sang, ainsi que, lors d'intoxications modérées, des crampes et douleurs musculaires et articulaires, et des signes plus généraux (tels que céphalées, vertiges, asthénie, courbatures, et fièvre).[74]

11.2.2. Intoxication chronique :

On ne connaît pas encore exactement les conséquences d'une exposition faible répétée ou continue (faible de longue durée) aux dérivés d'antimoine. Les études existantes se contredisent et sont difficiles à interpréter, étant donné qu'il y a souvent exposition à différentes substances, ou qu'il n'existait pas de groupe contrôle pour l'étude.

Cependant, lors des expositions (professionnelles) répétées à l'antimoine, plusieurs pathologies ont été recensées.[74]

11.3. Description analytique des effets clinique :

- Hématologiques :

Les sels pentavalents d'antimoine sont responsables de troubles hémorragiques plus rarement d'anémie hémolytique.

Un cas d'agranulocytose est apparu au 6ème jour du traitement par l'antimoniote de méglumine chez un enfant.[59]

- Cardiovasculaire :

Modification de l'électrocardiogramme : inversion de l'onde T, allongement de QT (ces signes disparaissent à l'arrêt du traitement par les sels d'antimoine) bradycardie, myocardite, choc cardiogénique, mort subite...

- Autres effets comme :

Les effets respiratoires, neurologiques, gastro-intestinaux, dermatologiques, oculaires et ORL, immunologiques, métaboliques, hépatiques, urinaires, et effet sur le système endocrinien et de la reproduction.[59]

12.Traitement :

12.1. Principes généraux :

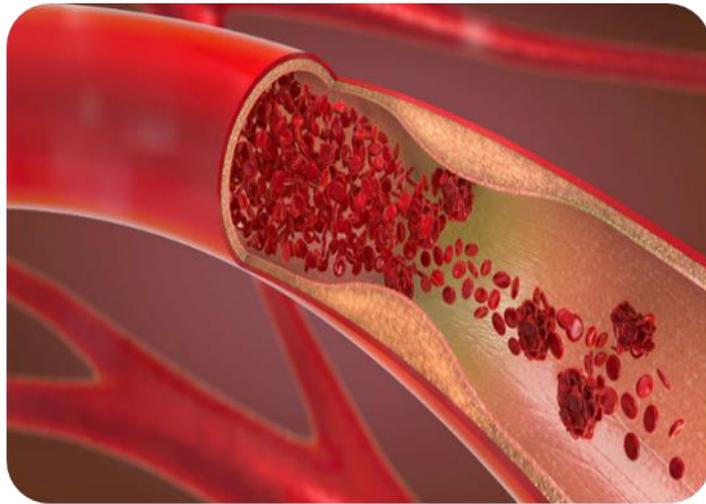
Ils consistent en :

- Arrêt du médicament dès qu'il y a apparition des signes de la toxicité.
- Traitement symptomatique des différentes perturbations.
- Traitement antidotique (chélation).[59]

12.2. Traitement symptomatique et spécifique :

- L'arrêt du médicament suffit dans les incidents simples.
- Maintien d'un équilibre hydro électrolytique.
- Correction d'un état de choc.
- Assistance respiratoire éventuelle.
- Traitement des troubles du rythme.
- Epuration extra rénale en cas d'insuffisance rénale.[59]

Chapitre (3):
Le globule rouge



1. Définition :

Décrit pour la première fois en 1674 sous le terme de globule rouge par le *hollandais Leeuwenhoek*, l'érythrocyte ou hématie est une cellule mature formée dans la moelle osseuse lors du processus de l'érythropoïèse.[80]

Les globules rouges sont des cellules anucléées dont le constituant essentiel est une hémoprotéine de liaison de l'oxygène : l'hémoglobine (environ 14,5 g / 100 ml). Le rôle principal de ces cellules est d'assurer le transport de l'oxygène et du gaz carbonique entre les alvéoles pulmonaires et les tissus.[81]

La durée de vie des érythrocytes de circulation est limitée près de 100-120 jours.[82]

2. Morphologie et données quantitatives:

2.1. Morphologie :

Le globule rouge est une cellule discoïde biconcave de 7 à 8 μm de diamètre, dépourvue de noyau, de mitochondrie et de ribosome.[83]

C'est un sac déformable qui présente une forte plasticité et qui contient un pigment rouge : l'hémoglobine, nécessaire aux échanges gazeux.

Elle prend une coloration rose vive au MGG, avec en son centre, une zone plus claire. Sa structure se décompose schématiquement en trois éléments : la membrane érythrocytaire, les enzymes, et l'hémoglobine.[84]



Figure 14: La structure du globule rouge .[85]

2.2. Les données quantitatives :

Tableau 1: les valeurs normales du globule rouge par litre :

Cellules	Homme	Femme	Enfant 1an	Nouveau-né
Globules rouges	4,5 à 5,9 x10 ¹²	4 à 5.4 x10 ¹²	3.6 à 5 x10 ¹²	4 à 6 x10 ¹²

- **Le taux d'hémoglobine** est exprimé en grammes par décilitre (g/dL).
- Le **VGM (Volume Globulaire Moyen)** est actuellement mesuré directement par les appareils automatiques lors d'un hémogramme:

(VGM) de l'adulte = 85 – 95 fL (= 10 x Hte / Nb de GR)

Il définit :
Microcytose si < 80 fL
Macrocytose si > 100 fL
Normocytose si 80 – 100 fL

Autres constantes du globule rouge :

- **CCMH** (concentration corpusculaire moyenne en Hb) = **32 - 36 g/dl** (100 x Hb / Hte).[86]

3. La membrane érythrocytaire :

La membrane érythrocytaire est une structure complexe composée d'une bicouche lipidique et d'un cytosquelette à base de protéines attachés ensemble par des protéines transmembranaires, telles que la bande protéique 3 et les glycophorines[87]. Elle renferme 52 % de protéines, 40 % de lipides et 8 % de glucides.[88]

3.1. Les lipides :

Les phospholipides sont les constituants principaux des membranes biologiques, et leur classe principale est les glycerophospholipids.

En 1972, SIGER et NICOLSON ont proposé le modèle de « la mosaïque fluide » pour la structure de membrane, qui suggéré que les membranes soient des structures dynamiques composées des protéines et des phospholipides dans une matrice a double couche phospholipidiques[89] Ils sont formés essentiellement de : 60% de phospholipides (les constituants principaux des membranes biologiques), 30% de cholestérol non estérifié et 10% de glycolipides. [90]

➤ Les phospholipides :

Elle est constituée principalement de phospholipides. Les chaînes d'acides gras des phospholipides de chaque feuillet se font face à l'intérieur de la bicouche, constituant la partie hydrophobe. Les têtes polaires sont disposées vers le plasma (feuillet externe) ou le cytoplasme (feuillet interne). Ces phospholipides sont disposés de manière asymétrique dans la double couche : phosphatidyl cholines et sphingomyélines prédominent dans le feuillet externe tandis que les aminophospholipides (phosphatidylsérines et phosphatidyléthanolamines) prédominent dans le feuillet interne. Les phospholipides ont tendance à changer d'emplacement malgré la difficulté pour les têtes polaires de franchir la barrière hydrophobe de la bicouche.[91]

➤ Cholestérols :

Le cholestérol qui est le principal rigidifiant des membranes en condition physiologique. Il augmente la micro-viscosité et le degré d'ordre. Il s'associe de préférence à certains phospholipides tels que la sphingomyéline.[92]

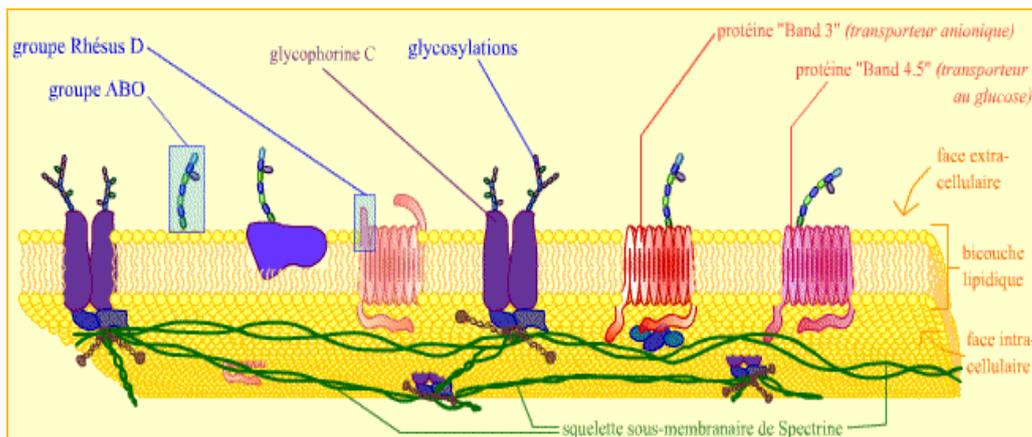


Figure 15: La structure de la membrane érythrocytaire.[93]

3.2. Les protéines :

Les protéines de la membrane des globules rouges sont classées en deux catégories: les protéines dites intrinsèques ou transmembranaires, parce qu'elles traversent de part en part la double couche lipidique, et les protéines dites extrinsèques, qui sont en dehors de celle-ci, à l'extérieur ou à l'intérieur de la double couche de lipides.[90, 94]

➤ Les protéines intrinsèques : (transmembranaires)

Protéines intégrales ou protéines intrinsèques sont fixés en permanence à la principale membrane, il pénètre à travers la bicouche lipidique. Toutes les protéines transmembranaires sont des protéines intégrales. Les exemples sont les glycophorines, bande 3 et Aquaporin 1. Il

contient partie hydrophobe qui interagit avec phospholipide membranaire. Les extractions de protéines intégrales ont besoin l'utilisation d'agents puissants qui solubilisent la bicouche de phospholipides pour libérer protéines. [90, 94]

➤ **Les protéines extrinsèques :**

Les Protéines périphériques ou les protéines extrinsèques sont temporairement attaché à la couche lipidique ou ils se lient à d'autres protéines intégrales. Il comprend l'actine, la spectrine et la tropomyosine, ankyrine, protéine 4.1 et protéine 4.2. Les protéines périphériques sont séparées par perturbation de la liaison hydrogène entre les protéines à la surface de la bicouche phospholipides, sans détruisant la membrane.[90, 94]

3.3. Les propriétés physiques de la membrane:

➤ **Asymétrie :**

Toutes les membranes biologiques sont constituées de deux feuillets dont les compositions lipidiques sont différentes, sauf le cholestérol qui se trouve en quantité équivalente pouvant basculer facilement de l'un à l'autre.

- Le **feuillet interne** est caractérisé par les phosphatidyl-sérine (amphotère) et phosphatidyl-éthanol-amine (charge négative).
- Le **feuillet externe** est caractérisé par la sphingomyéline (charge négative) et la phosphatidyl-choline (charge négative).

L'asymétrie des lipides entraîne ainsi une asymétrie de la charge globale de chaque feuillet. On visualise également une asymétrie des protéines présente dans la double couche phospholipidique; ces protéines participent à caractériser les propriétés de la membrane, que cela soit du côté intracellulaire ou extracellulaire.

La plus grande asymétrie est celle présente au niveau des glucides, en effet tous les motifs glucidiques sont localisés sur le feuillet externe de la membrane plasmique.[91]

➤ **Fluidité :**

La mobilité des lipides est nécessaire pour l'activité cellulaire. Ils peuvent se mouvoir de différentes manières au sein de la membrane : rotation, diffusion latéral et flip flop (passage d'un feuillet à l'autre).

Certaines protéines vont être bloquées par des structures intracellulaires ou extracellulaires via des interactions protéines-protéines ou interactions avec le cytosquelette.

La fluidité membranaire intervient dans différentes fonctions cellulaires : absorption, sécrétion, protection, adhérence, communication, interaction avec la matrice, etc.

La fluidité est influencée par différents facteurs, des facteurs externes comme la température (une augmentation de la température entraîne la fluidification de la membrane) et des facteurs internes :

- La composition en acides-gras : Plus les chaînes carbonées des acides-gras sont courtes et insaturées plus la membrane est fluide.
- La proportion de cholestérol : Le cholestérol renforce la solidité et rigidité membranaire et correspond jusqu'à 50% des lipides totaux de la membrane.
- Le nombre de protéines : Les protéines diminuent la fluidité membranaire.[95,96]

3.4. Les échanges transmembranaires :

Les échanges à travers la membrane sont essentiellement de deux ordres : par diffusion simple, et par un processus actif agissant contre un gradient de concentration.

a) Le transport passif :

Le transport passif se fait à travers des « pores » de la membrane suivant le gradient de concentration des ions. Il ne nécessite pas d'énergie. Nous pouvons distinguer quelques types de ce transport: diffusion simple, diffusion facilitée et osmose.[97]

- La diffusion simple : intéresse l'eau et les anions inorganiques et semble se faire à travers des pores de la membrane, dont le diamètre serait de l'ordre de 3,5 à 4,5 Å.[97]

b) Le transport actif :

Le type de transport actif (AT) permet le mouvement des solutés contre un gradient de concentration (de faible concentration à forte concentration). C'est possible en raison de la dépense d'énergie utilisée (hydrolyse de l'ATP). Il existe deux principaux types de transport actif: transport actif primaire (direct) qui utilise directement l'ATP pour l'énergie et le transport actif secondaire (indirect), également appelé co-transport et implique le transfert de deux molécules distinctes (symport, dans la même direction ; antiport, dans des directions opposées).[97]

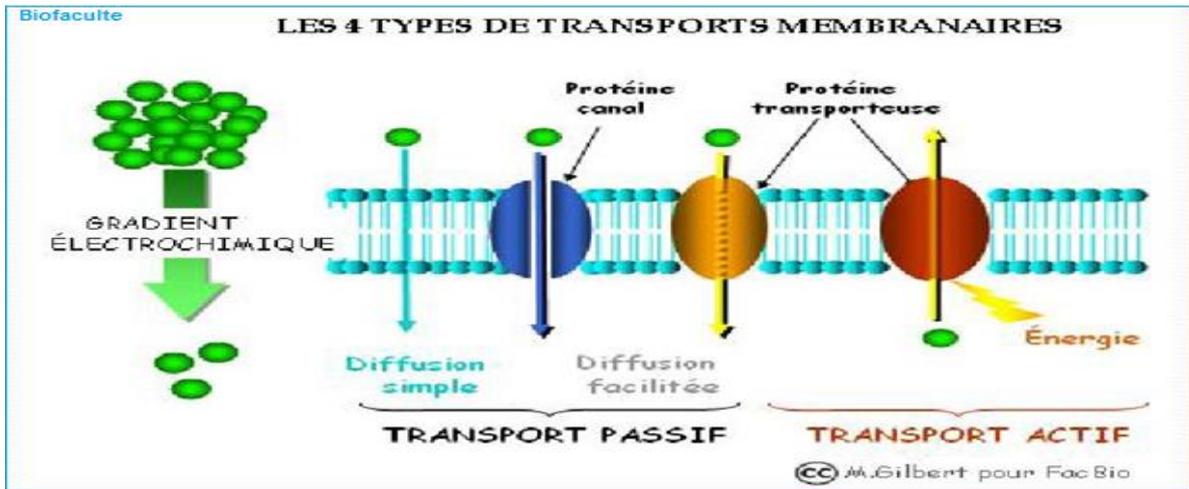


Figure 16: Les échanges transmembranaires.[98]

c) Les échanges cation :

Les échanges des cations se font pour leur plus grande part, par mécanisme actif. Les concentrations en Na^+ et K^+ intracellulaires sont maintenues par un système complexe de « pompes à sodium- rejetant vers l'extérieur le sodium ayant pénétré passivement dans l'érythrocyte et maintenant le K^+ à l'intérieur de celui-ci. Ce processus actif demande un apport énergétique fourni essentiellement par l'ATP, il agirait par une modification conformationnel exposant alternativement des sites d'affinité pour le Na^+ et le K^+ vers les deux faces de la membrane, modification s'accompagnant d'un changement d'affinité des sites, tels que trois Na^+ sont rejetés vers l'extérieur en échange de deux K^+ maintenus dans l'intérieur. Un second système d'échange constitue le co-transport $\text{Na}^+ \text{K}^+$. Ce système est bidirectionnel et transporte Na^+ et K^+ vers et en dehors de la cellule. Le passage d'un ion à travers la membrane est obligatoirement dépendant de la présence du second ion du même côté de la membrane.[97, 99]

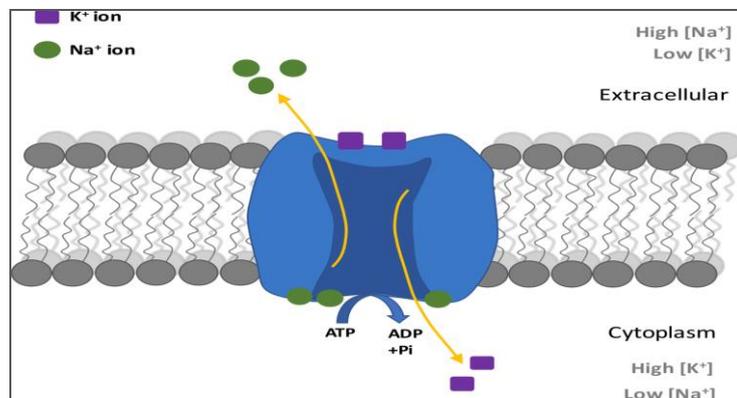


Figure 17:La pompe Na^+/K^+ .[100]

4. Hémoglobine :

Depuis plus de 100 ans, l'hémoglobine est connue comme la molécule d'échange de gaz présente dans les globules rouges qui est responsable de l'apport d'oxygène aux tissus et par la suite de l'élimination du dioxyde de carbone. [101]

L'hémoglobine est une molécule caractéristique des globules rouges, c'est une métalloprotéine contenant de fer qui se trouve à l'intérieur des hématies et est responsable de couleur rouge de sang. [102]

C'est un tétramère de chaîne de globine (α et β) et chaque unité globine est associée à un groupe hème, qui contient un atome de fer capable de s'associer à l'oxygène. [102]

La globine est une protéine de 141 ou 146 AA, de structure enroulée sur elle-même, et au sein de laquelle se positionne une molécule d'hème, dans une poche hydrophobe. [86]

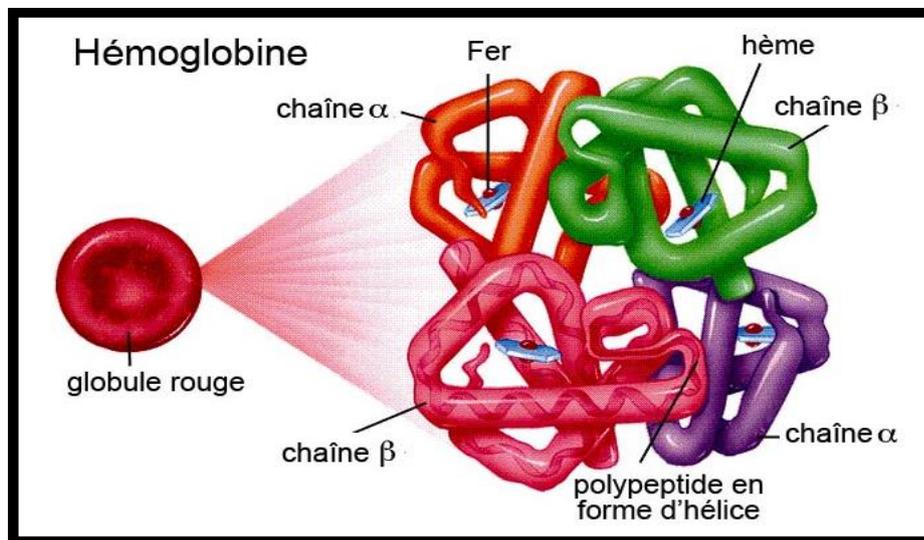


Figure 18: Les paires de chaîne polypeptidiques contenant une porphyrine et un atome de Fer.[103]

L'ion ferreux établit 5/6 liaisons de coordinence : quatre avec les quatre N de l'hème, une avec le N d'un acide aminé de la chaîne polypeptidique (l'histidine) et dans la forme oxygénée une liaison avec l'dioxygène(O₂). (La figure 6)

Le fer peut exister sous 2 formes dans la molécule :

- sous forme ferreuse, ion Fe²⁺ : seule forme active de l'hémoglobine humaine. On parle d'oxyhémoglobine. (interaction réversible avec O₂).
- sous forme ferrique, ion Fe³⁺ : on parle de méthémoglobine.[104]

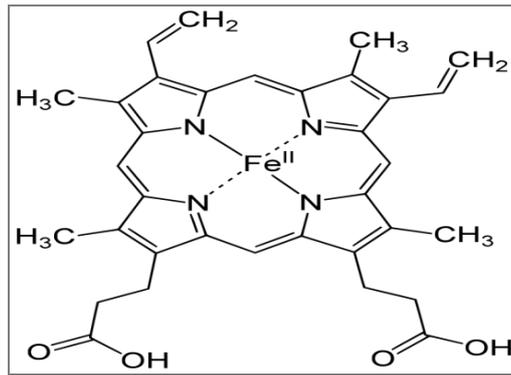


Figure 19: La molécule d'hème. [105]

5. L'hémolyse :

5.1. Définition

L'hémolyse est un phénomène irréversible due au vieillissement des GR c'est donc une mort physiologique par sénescence .C'est la destruction des globules rouges arrivés au terme de leur vie circulatoire de 120 j, associée à la libération puis au catabolisme de l'hémoglobine.[106]

Elle peut être pathologique, par 2 mécanismes principaux : hémolyse corpusculaire et extra-corpusculaire, soit par une anomalie de la structure des globules rouges, soit du fait d'un événement extérieur, qu'il soit mécanique, toxique ou immunologique.[106,107]

a) Hémolyses intra vasculaire

En cas d'hémolyse intra-vasculaire, l'hémoglobine plasmatique est libérée dans le plasma par la destruction globulaire. L'haptoglobine (une alpha-globuline anti-oxydante qui limite la toxicité du fer de l'hémoglobine) lie les molécules de globines libérées, alors que l'hémopexine prend en charge les molécules d'hème.[108]

b) Hémolyse extravasculaire :

L'hémolyse extravasculaire est secondaire à l'activation du système monocyte-macrophage et se produit essentiellement dans la rate. L'hémolyse extravasculaire est caractérisée par des modifications membranaires globulaires avec l'expression de phosphatidylsérine et de haut niveau d'annexine V (marqueur d'apoptose).[108]

5.2. Signes de vieillissement des érythrocytes :

L'hémolyse pathologique ou hyper hémolyse liée à la modification de 3 facteurs vitaux pour le GR :

➤ **Modification et altération de la membrane :**

L'hémolyse, faisant suite à une altération ou rupture de la membrane érythrocytaire quelle qu'en soit la cause, se caractérise par un rélargissement de l'hémoglobine et plus généralement du contenu intra-érythrocytaire dans le plasma.[109]

Provoque des troubles des échanges ioniques (du à la diminution de ATP) entraîne une augmentation du Ca (et du sodium) et diminution du potassium intracellulaire, induisant une déshydratation et la déformabilité (diminution de l'activité des canaux calciques).[110]

➤ **Modification de métabolisme énergétique :**

Trouble des échanges ioniques (dû à la diminution de ATP) entraîne une augmentation du Ca (et du sodium) et diminution du potassium intracellulaire, induisant une déshydratation et la déformabilité (diminution de l'activité des canaux calciques).[110]

➤ **Catabolisme de l'hémoglobine :**

La présence d'espèces réactives d'oxygène est due à l'auto oxydation d'hémoglobine Le stress oxydant engendre un désordre de cytosquelette et la perte d'asymétrie lipidique.[110]

5.3.L'hémolyse d'origine médicamenteuse :

Au cours de la vie, il peut occasionner une hémolyse aiguë à la suite d'un épisode infectieux ou d'une exposition à certains médicaments ou toxiques[111]. Certains ont été associés à des cas d'hémolyse aiguë lorsqu'ils étaient utilisés à des doses supérieures aux doses recommandées.[112]

Aussi, l'hydrure de l'antimoine, semble produire un effet hémolytique semblable à celui de l'arsine. [113]

5.4.Diagnostic d'hémolyse :

➤ **Hémolyse chronique :**

- Hyper-bilirubinémie indirecte supérieure à 10 mg/l
- Elévation des LDH de l'urobiline.
- Elévation du fer sérique, du coefficient de saturation et de la ferritine.
- L'haptoglobine est diminuée, l'hémoglobémie et l'hémoglobinurie sont augmentées mais ces trois éléments sont modifiés surtout dans l'hémolyse intra-vasculaire. [114]

➤ **Hémolyses aigues**

- Hémoglobémie et hémoglobinurie importantes. Haptoglobine effondrée
- L'hyper-bilirubinémie indirecte est inconstante et tardive. [114]

Partie

Expérimentale



1. Problématique :

Les leishmanioses sont des infections parasitaires communes à l'homme et à certains animaux, engendrées par un protozoaire flagellé, du genre *leishmania*. Dans notre pays, ces parasitaires ne sont pas marginales.

En effet, selon les données épidémiologiques identifiées à partir dans relevées mensuels des 48 wilayas et remis par l'institut national de santé publique (INSP) l'évaluation spatio-temporelle de la maladie s'est faite plus au sud qu'au nord.

Dans le monde, on observe chaque années 500,000 nouveaux cas de leishmaniose viscérale et 60,000 décès/ qui sont liés à cette malade.

En Algérie l'Antimoniote de Méglumine reste le traitement de 1^{ère} intention de la leishmaniose, administré par la voie parentérale, les effets toxiques dus à cette molécule sont malheureusement très fréquent de la marge thérapeutique étroite de cette molécule.

C'est pourquoi il nous semble patinent d'aborde les mécanismes d'action de cette drogue en vue de mieux connaître les base de sa toxicité.

2. Objectif :

L'objectif de notre travail est d'étudier et évaluer in vitro l'effet toxique du Glucantime® sur un modèle universelle de cellule animal qu'est le globule rouge humain par :

- D'une part les perturbations de la perméabilité membranaire notamment au Potassium.
- D'autre part par la lyse de globule rouge étape ultime de toxicité.

3. Type d'étude :

Il s'agit d'une étude expérimentale prospective fait sur le globule rouge au sein de laboratoire centrale, service de biochimie CHU Tlemcen.

4. Population :

L'unité de base de cette étude est définie par un prélèvement d'un donneur unique et sein (témoin et test).

5. Critères De Recrutement :

Un volontaire sain n'ayant pris aucun traitement et ne présentant aucun problème d'ordre hématologique.

6. Critères D'extension :

Anémie - sujet sous traitement.

7. Critères de jugement:

[K+] - [HB].

8. Analyse des données:

La saisie et l'analyse des données collectées ont été effectuées par le logiciel MICROSOFT OFFICE EXCEL 2007. Les graphes ont été également tracés par ce même logiciel.

9. Collecte Des Données:

Se fait à l'aide d'un support de formation comprenant trois parties :

- Identification : Le numéro et la date du prélèvement.
- Les paramètres dosés pour l'échantillon témoin (HB, K+).
- Les paramètres dosés pour l'échantillon test (HB, K+).

Matériel

Et

Méthode

I. Matériels et solutions de travail :

1. Les appareils :

➤ Spectrophotomètre :

Un spectrophotomètre est un appareil qui permet de mesurer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée à fin de déterminer sa concentration. Selon la loi de Beer-Lambert, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à la concentration des substances en solution diluée, le spectrophotomètre UV-visible (UV : ultraviolet) comprend:

- Une source de lumière
- La lampe UV est généralement de type deutérium
- La lampe visible est généralement de type halogène.
- Un monochromateur formé d'un réseau diffractant la lumière de la source.
- Une fente de largeur fixe ou variable pour régler la bande passante;
- Un porte-cuvette
- Une cuvette transparente dans laquelle on place la solution à étudier.
- Une cellule photoélectrique,
- Un détecteur électronique.



Figure 20: Le spectrophotomètre.

- **Ionomètre** : Pour déterminer la concentration ionique du sang: sodium (Na), potassium (K), chlore (Cl).



Figure 21:un ionomètre.

- **Centrifugeuse**: utilisée pour centrifuger les échantillons pour séparer le culot globulaire de surnageant.



Figure 22: la centrifugeuse.

- **Agitateur**: pour l'homogénéisation des suspensions du travail.



Figure 23: L'agitateur.

- **Vortex** : est utilisé pour mieux mélanger les solutions de travail.



Figure 24: Un vortex.

2. Autres matériels:

- Les gans.
- Tubes: EDTA, Tubes héparine, Tubes sec
- Micropipette: 1000,200, 100,20 j.L
- Seringues 10 ml, coton, sparadrap, alcool,
- Béchers, pots stériles et le chronomètre.
- Etiquettes pour marquer les tubes.

II. Molécules étudié et solution de travail :

1. La molécule :

- Le Glucantime® (dilué 1/10).

2. Solution de travail :

- Solution de lavage glacée :

Pour préparer la solution de lavage on a mélangé: 150 m.Mole/L de NaCl avec 2 m.Mole/L de MgCl₂. Elle doit être conservée au frigo à 2-5°C, elle est instable à température ambiante.

✚ Préparation d'une solution NaCl 150 m. mole :

A partir de La solution mère 1 molaire du NaCl du poids moléculaire 58.44 g/mole on a préparé 1 L d'une solution NaCl de 150 m.Mole/l.

✚ Préparation d'une solution mère de $MgCl_2$ à 1 mole/L:

Pour préparer 50 ml solution du $MgCl_2$ du poids moléculaire 203,3 g/mole, on a calculé la quantité du $MgCl_2$ pour 50 ml ($203,3/20$): 10,165g, alors on a pesé cette quantité puis ajusté avec de l'eau distillée jusqu'à 50ml.

➤ Tampon PBS :

Le tampon phosphate salin (souvent abrégé PBS, de l'anglais: phosphate buffered - saline), est une solution physiologique. Son pouvoir tampon repose sur **le couple** : dihydrogénophosphate / hydrogénophosphate ($pK_A= 7,2$), qui est par ailleurs un des trois grands mécanismes permettant le maintien du pH sanguin.

Pour la préparation de la solution tampon on a mélangé les sels suivants : le phosphate de sodium (10 m.Mole) avec du NaCl (1 40mmole) et du $MgCl_2$ (2m.Mole).

❖ Préparation de solution mère:

On mélange: 80,2 ml de Na_2HPO_4 +19,8 ml de NaH_2PO_4 =100ml

On ajoute 100ml de l'eau distillé pour obtenir une solution mère tampon 0.1 molaire.

Donc le volume est de 200ml à pH 7.4.

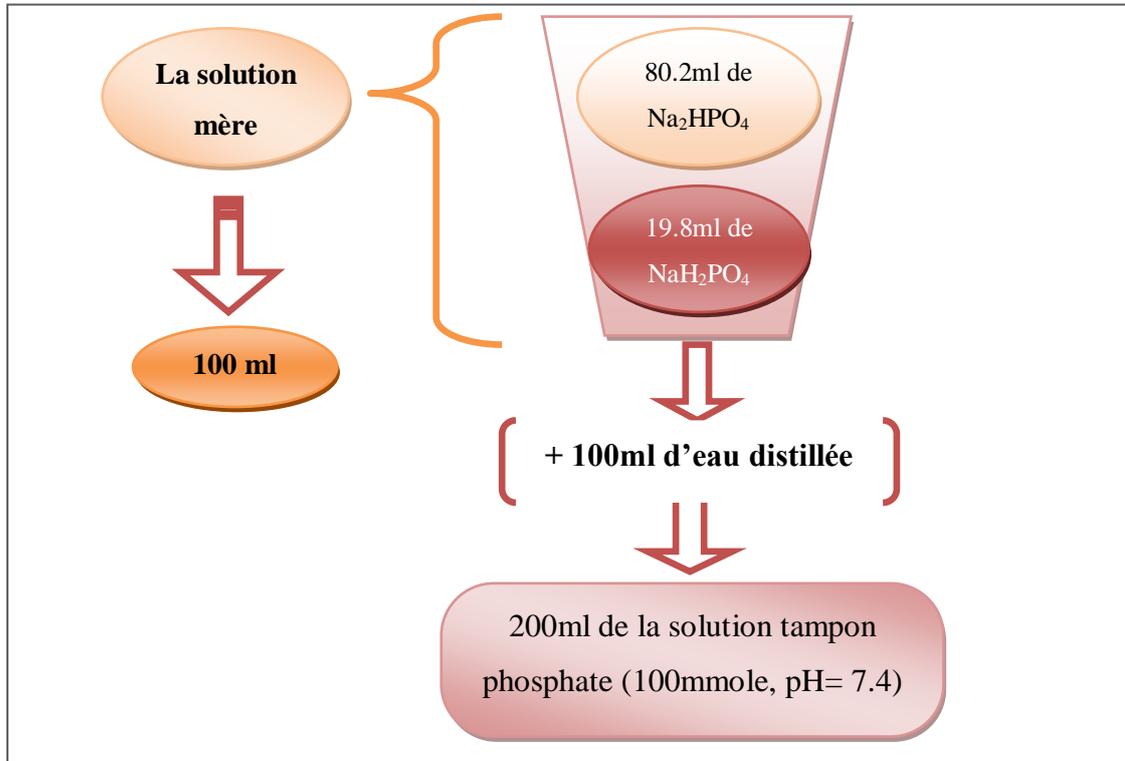


Figure 25:La préparation de la solution mère.

❖ Préparation de la solution fille :

On a mélangé 10ml solution mère avec 14ml NaCl et 2ml MgCl₂ puis on ajuste à 100ml avec de l'eau distillé.

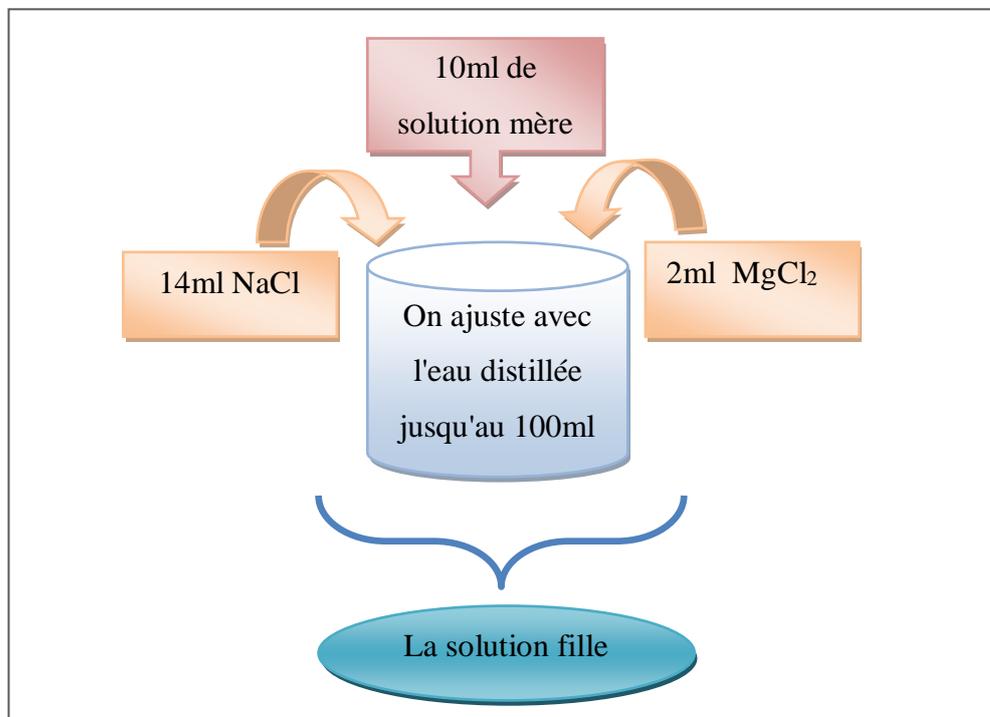


Figure 26 : La préparation de la solution fille.

NB :

Avant d'utiliser la solution tampon on a testé cette solution pour confirmer qu'elle est isotonique et qu'elle ne change pas l'équilibre ionique de nos suspensions:

Dans l'étape ou on a ajouté le TPBS à la suspension cellulaire, on a fait une lecture des concentrations ionique par l'ionogramme et on a refait cette lecture après deux heurs on a trouvé les mêmes valeurs; donc la solution **est isotonique**.

3. Dosage des paramètres indiquant l'hémolyse :

- ✓ Dosage du potassium se fait à l'aide d'un **ionomètre**.
- ✓ Dosage de l'hémoglobine se fait l'aide d'un **spectrophotomètre**.

III. Mode opératoire :

Préparation des échantillons :

➤ Prélèvement sanguin :

- Le prélèvement du sang a été réalisé le matin à jeun sur un volontaire sain au niveau de la veine du pli du coude sans garrot à l'aide d'une seringue de 10 ml.
- Toute agitation excessive des tubes, aspiration trop rapide du sang au cours du prélèvement, sont à éviter pour ne pas hémolyser le sang et donc fausser les résultats.

On partage ce volume de sang (10 ml) en deux parties égales dans :

- ✓ Un tube EDTA : pour faire FNS
- ✓ Un tube hépariné pour effectuer nos tests.

➤ Préparation de suspension du travail:

- ✓ Le tube hépariné est centrifugé à 3000 tours par minutes pendant 5 minutes
- ✓ Après la centrifugation; à l'aide d'un marqueur on trace le niveau du plasma avant de l'éliminer.
- ✓ élimination du surnageant (plasma)
- ✓ A l'aide d'une micropipette; on ajoute une quantité suffisante de solution de lavage glacée qu'on a déjà préparé.
- ✓ Mélanger doucement le tube pour éviter l'hémolyse mécanique.
- ✓ Un 2^{ème} lavage est nécessaire pour l'élimination totale du plasma,

Centrifuger pendant 5 minutes, éliminer le surnageant et on garde le culot globulaire.

- ✓ On ajoute la solution tampon (TPBS) dans le même tube jusqu'au même niveau du plasma qu'on a marqué au début.
- ✓ Mélanger délicatement, c'est notre échantillon qu'on va étudier.

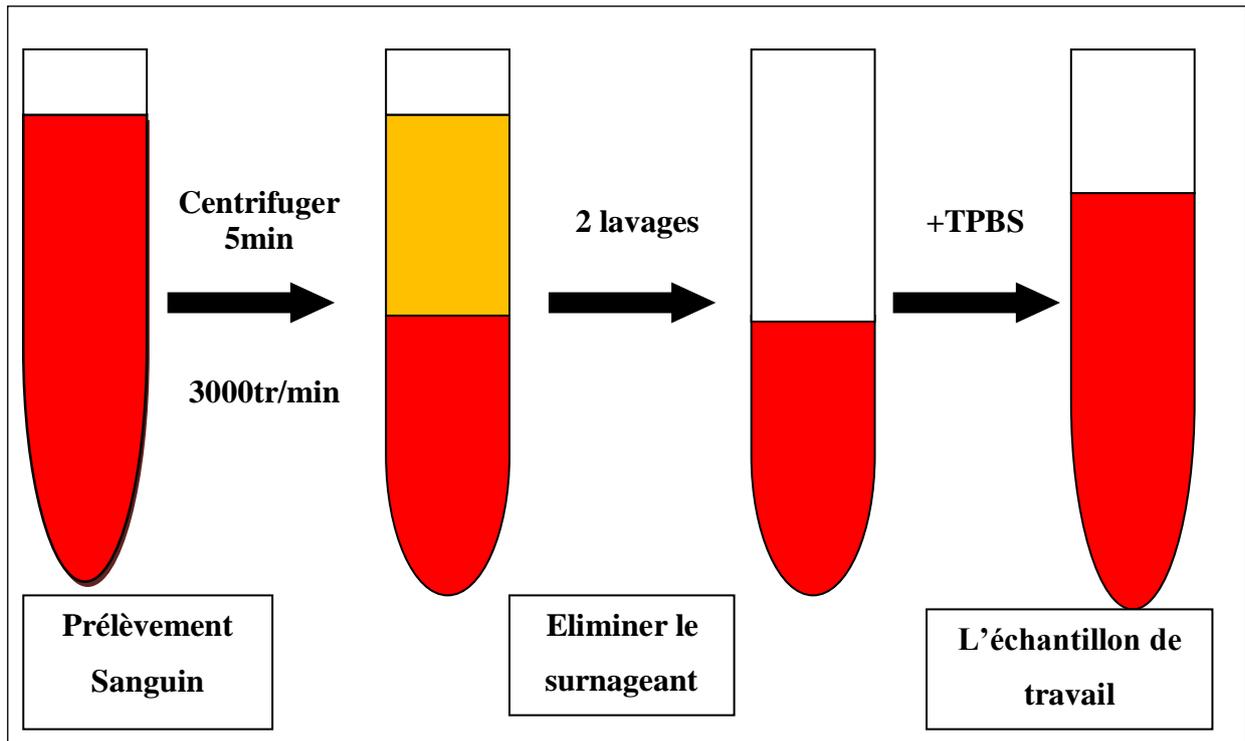


Figure 27: Préparation d'échantillons de travail.

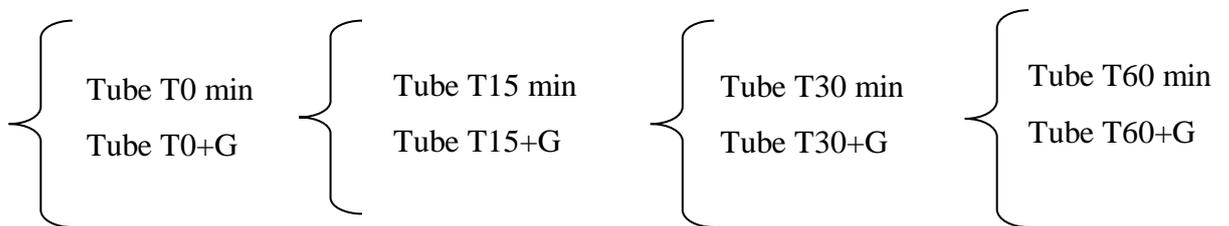
➤ **Préparation des suspensions cellulaires:**

À l'aide d'une pipette On met dans un bécher :

- 9.9 ml T.PBS on ajoute 0.1 ml suspension mère.
- Au total on a un volume de 10 ml, c'est la solution fille de travail.

On prépare 8 tubes correspondant au 4 temps (T0 min, T15 min, T30min, T60min) de dosage dont on va faire nos lectures.

✓ Etiquetage des tubes:



On prend deux béchers propres:

- Dans le premier : 5 ml de solution fille.
- Dans le deuxième : 5 ml de solution fille + 75 µl de Glucantime (dilué au 1/10) pour la 1^{ère} dose et 150µl pour la 2^{ème} dose.

On pose les 2 béchers sur un agitateur mécanique et on lance le chronomètre.

MATERIEL ET METHODE

- A chaque point test : on prélève de chaque bécher 1 ml de suspension cellulaire puis on ajoute 3 ml de solution de lavage dans les 8 tubes déjà préparés.
- Centrifugation pendant 5 minutes à vitesse maximal.

Pour chaque tube préparé on sépare le surnageant du culot :

- **Le surnageant** pour faire le dosage d'hémoglobine (Lecture au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 540 nm).
- **Le culot** On récupère le culot dans 1 ml d'eau distillée puis on agite à l'aide du vortex afin de lyser les cellules pour doser les ions $[K^+]$ à l'aide d'un **ionomètre**.

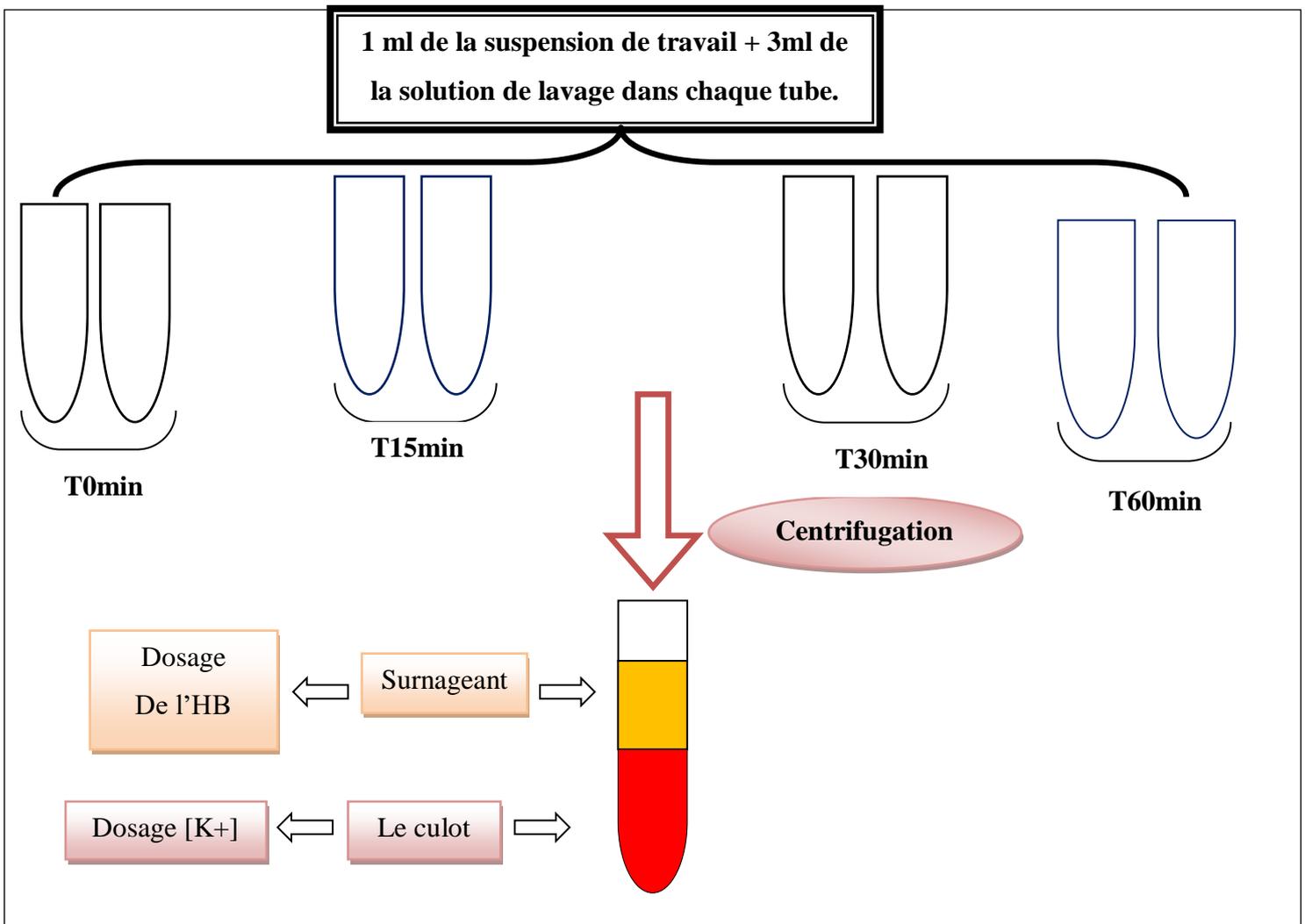


Figure 28: Préparation des tubes de premier test.

➤ **Détermination De La Concentration Du Potassium:**

- A T0 : Lectures sur l'ionogramme des deux premiers tubes qu'on a vortex.
- On patiente 15 minutes de T0, et on répète la même procédure précédente sur les deux deuxièmes tubes, et la même chose après 30 et 60 minutes.

➤ **Détermination De La Concentration D'hémoglobine:**

On répète les mêmes étapes que l'expérience précédente: Après préparation des 2 béchers : suspension témoin et suspension avec Glucantime®, on prépare 8 tubes correspondant au 4 temps (T0min, T15min, T30min, T60min) de dosage, On récupère le surnageant où on va faire la lecture des concentrations dans le spectrophotomètre a 540 nm.

Résultats

Et interprétations



I. La dose du Glucantime® = 75µl :

Les résultats de nos tests et les valeurs qu'on a trouvées sont démontrées dans les graphes suivants en fonction du temps :

A. La concentration du Potassium :

Pour la première dose on a pratiquée 10 tests, dont on a exclus les tests erronés.

✓ FNS (test n°1) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	84	83
GR (cell/L)	$5.41 \cdot 10^{12}$	$5.35 \cdot 10^{12}$
HC (%)	45.6	43.6

✓ Le test n°1 :

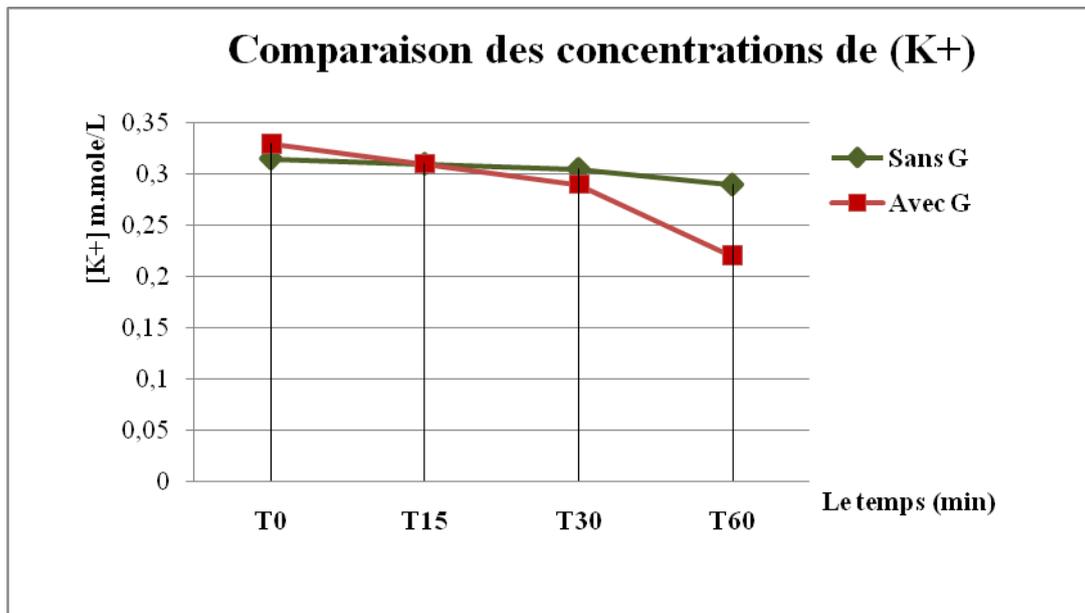


Figure 29 : test n°1 [K⁺]

✓ FNS (test n°2) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	84.9	83
GR (cell/L)	$6.33 \cdot 10^{12}$	$6.08 \cdot 10^{12}$
HC (%)	61.65	61.6

✓ Le test n°2 :

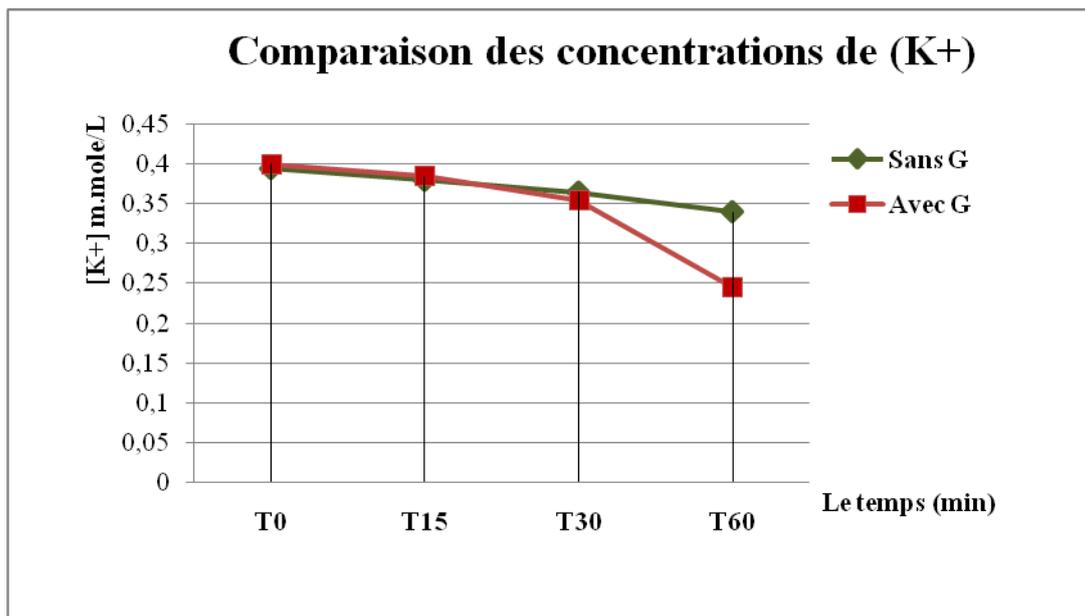


Figure 30 : test n°2 [K⁺].

✓ FNS (test n°3) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	88	87
GR (cell/L)	$6.16 \cdot 10^{12}$	$6.06 \cdot 10^{12}$
HC (%)	51.67	51.56

✓ Le test n°3 :

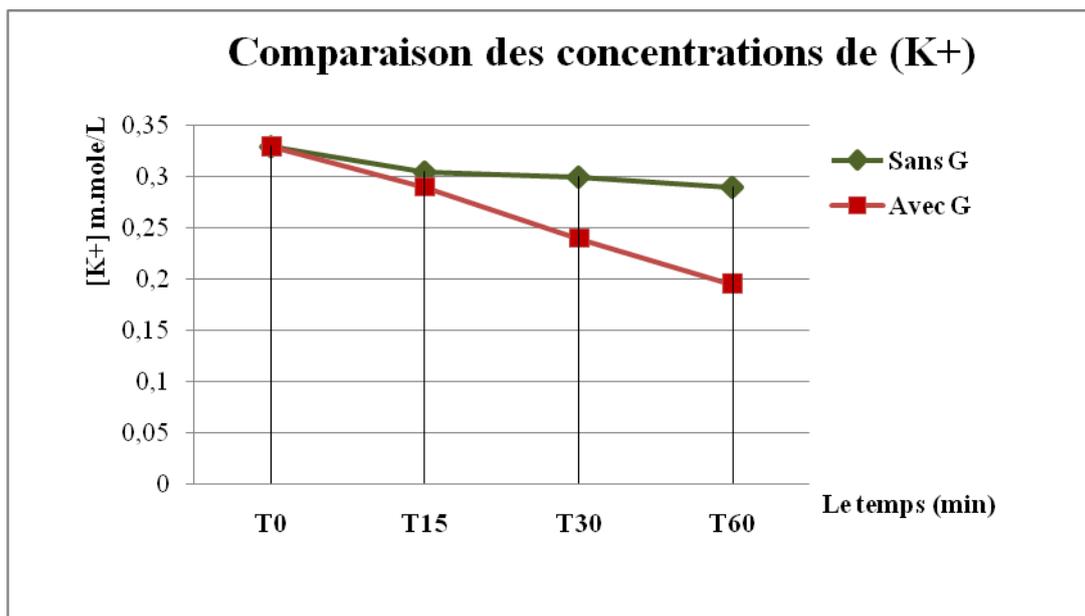


Figure 31: test n°3 [K⁺].

✓ FNS (test n°4) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	84.5	83
GR (cell/L)	$6.33 \cdot 10^{12}$	$6.32 \cdot 10^{12}$
HC (%)	74.6	72.8

✓ Le test n°4 :

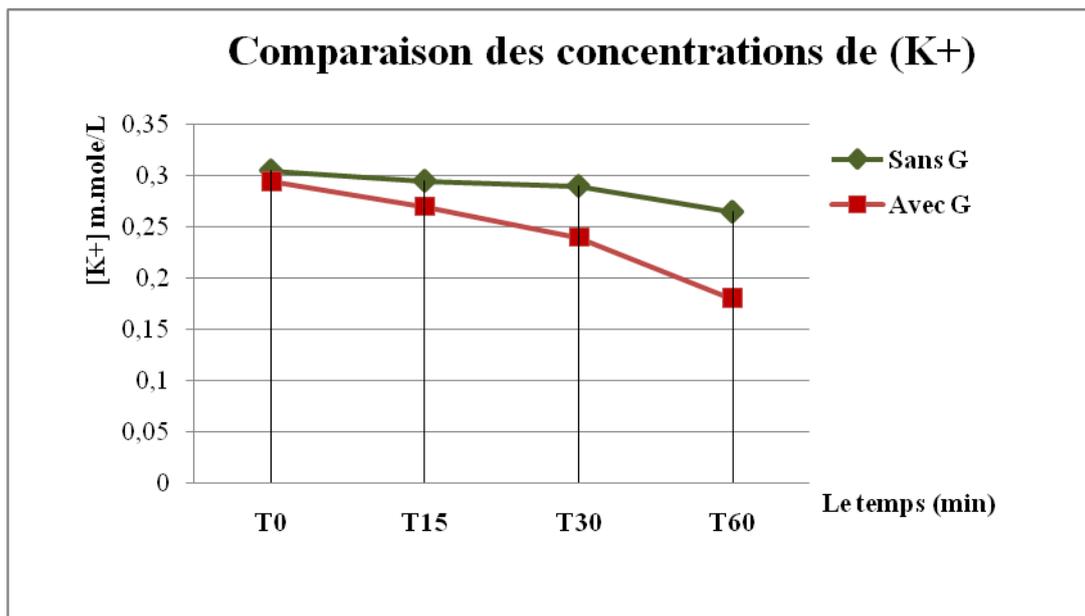


Figure 32 : test n°4 [K⁺].

✓ FNS (test n°5) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	87	87
GR (cell/L)	$6.32 \cdot 10^{12}$	$6.28 \cdot 10^{12}$
HC (%)	51.5	49.6

✓ Le test n°5 :

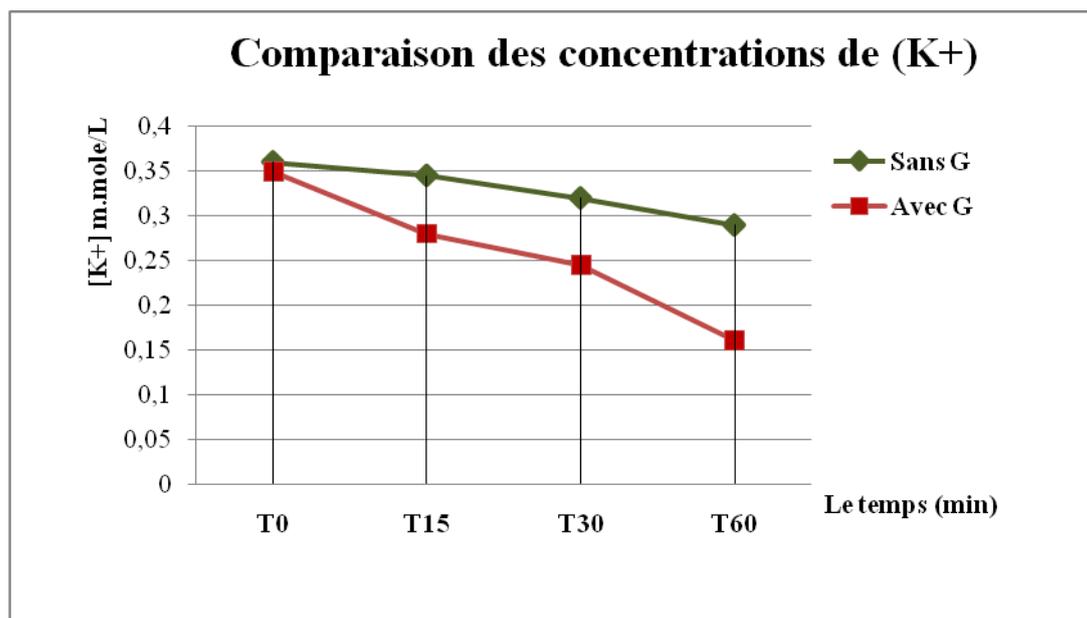


Figure 33 : test n°5 [K⁺].

✓ FNS (test n°6):

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	81	80
GR (cell/L)	$6.33 \cdot 10^{12}$	$6.32 \cdot 10^{12}$
HC (%)	74.6	76.6

✓ Le test n°6 :

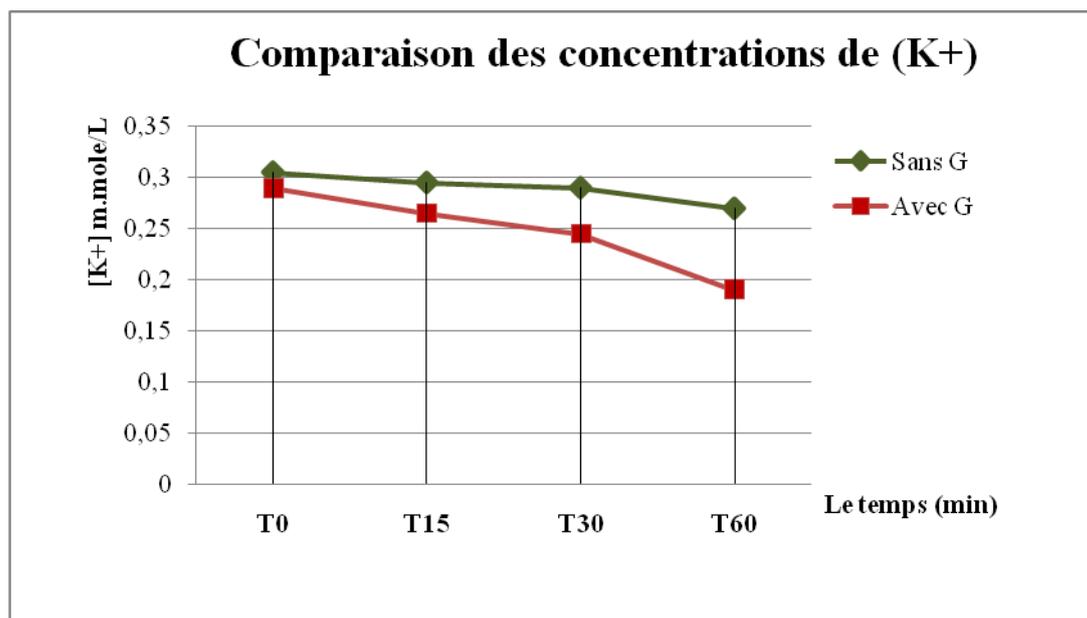


Figure 34 : test n°6 [K⁺].

✓ FNS (test n°7):

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	84	83
GR (cell/L)	$5.33 \cdot 10^{12}$	$5.22 \cdot 10^{12}$
HC (%)	46.6	44.6

✓ Le test n°7 :

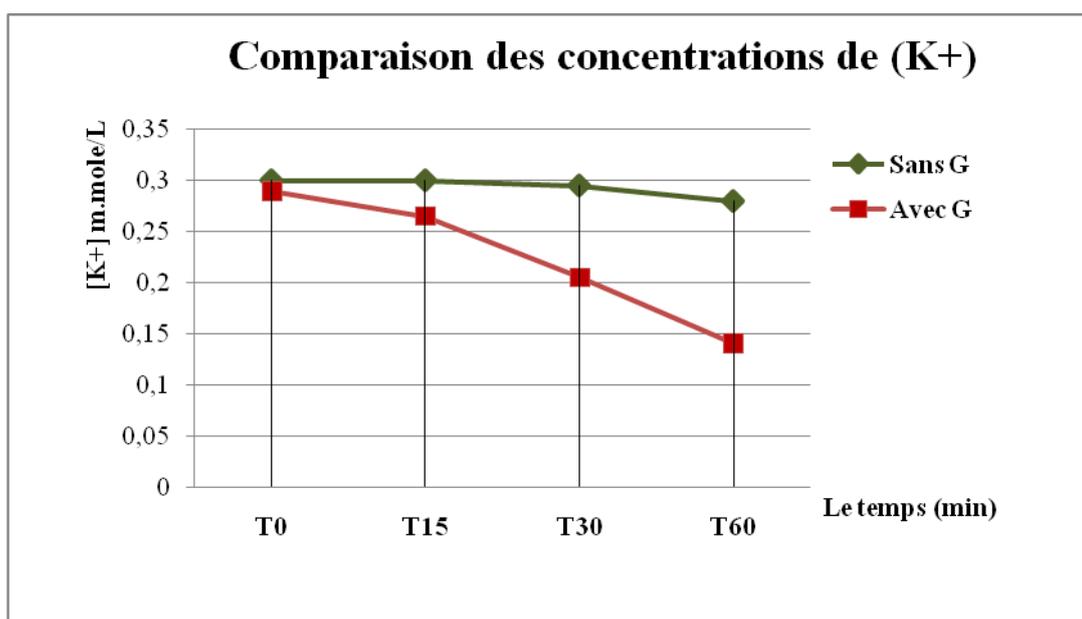


Figure 35 : test n°7 [K⁺].

✓ FNS (test n°8) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	87	87
GR (cell/L)	$5.08 \cdot 10^{12}$	$5.01 \cdot 10^{12}$
HC (%)	43.6	40.6

✓ Le test n°8 :

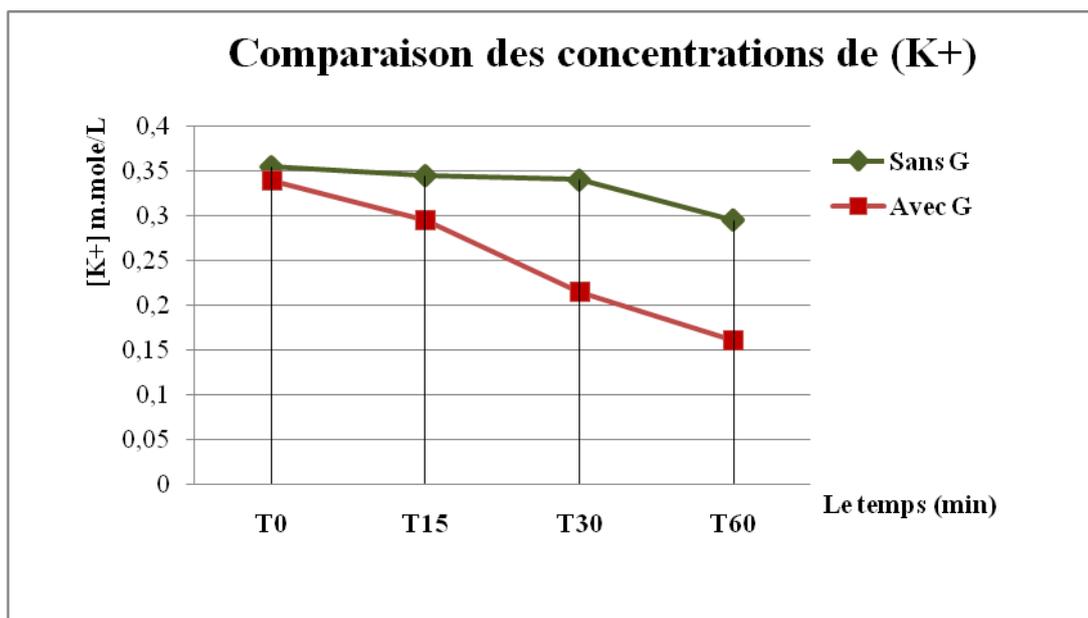


Figure 36: test n°8 [K⁺].

✓ Interprétation des graphes :

A T0 : Nous avons remarqué que la concentration intracellulaire du potassium est pratiquement la même dans les deux suspensions cellulaires.

A {T15-T30} : Nous avons remarqué que les concentrations intracellulaires du potassium ont diminué dès la 15^{ème} minute.

A T60 : La concentration intracellulaire du potassium a encore diminué dans les deux suspensions cellulaires et cette diminution est très remarquable au temps (60 minute) dans l'échantillon qui contient la molécule.

II. La dose du Glucantime® = 150µL :

A. La concentration du Potassium :

On a pratiqué 8 tests, et les graphes représenté les concentrations intracellulaires du potassium en fonction de temps :

✓ FNS (test n°1) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	84.5	83
GR (cell/L)	$5.12 \cdot 10^{12}$	$5.02 \cdot 10^{12}$
HC (%)	74.6	73.6

✓ Le test n°1 :

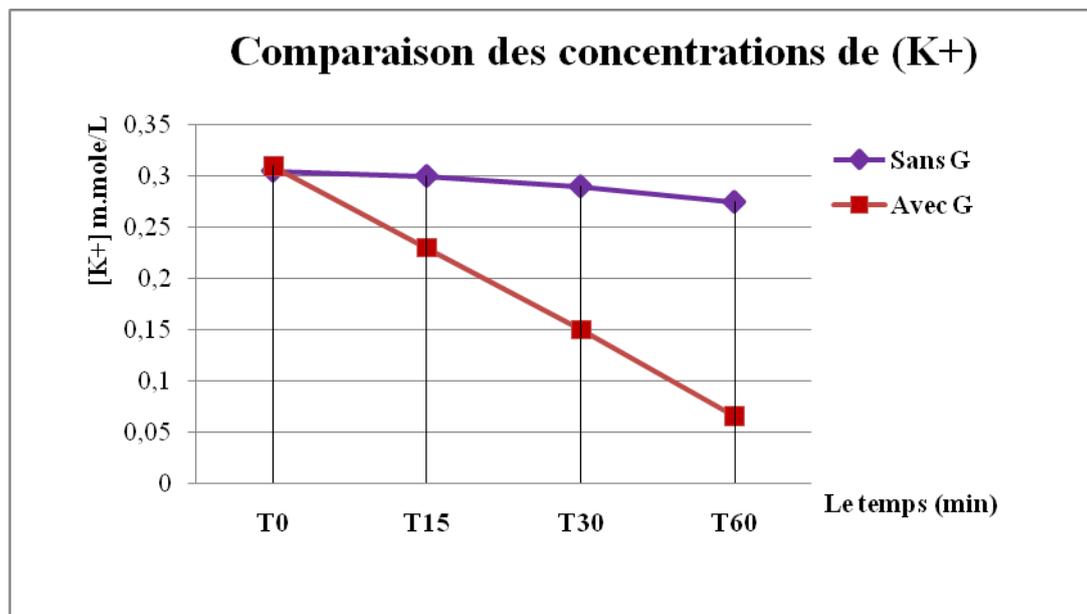


Figure 37 : test n°1 [K⁺].

✓ FNS (test n°2) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	81	80
GR (cell/L)	$6.33 \cdot 10^{12}$	$6.22 \cdot 10^{12}$
HC (%)	74.6	76.6

✓ Test n°2 :

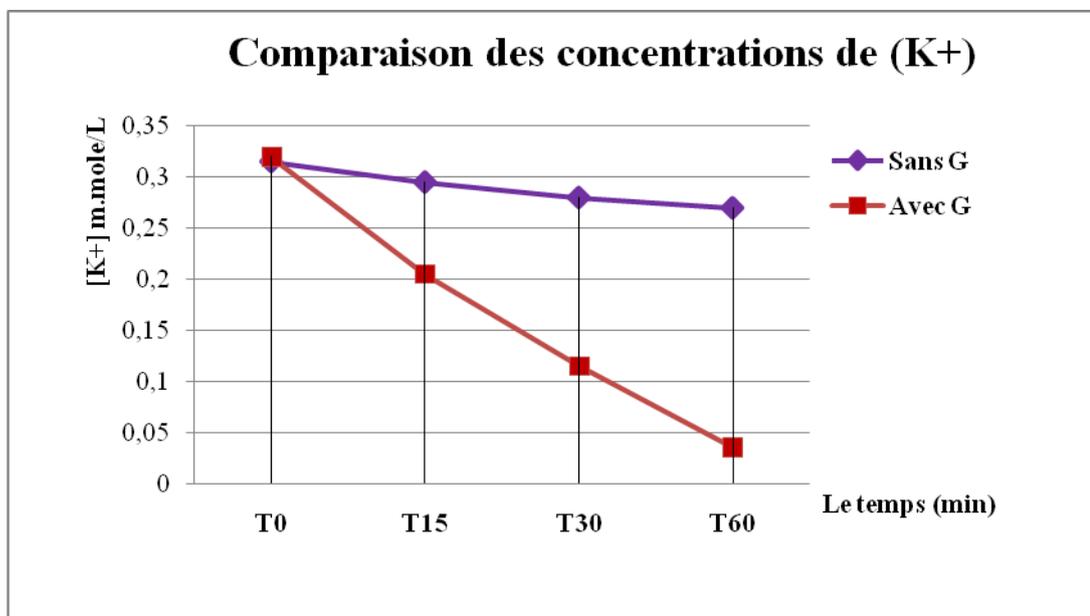


Figure 38 : test n°2 [K⁺].

✓ FNS (test n°3) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	84	83
GR (cell/L)	$5.33 \cdot 10^{12}$	$5.22 \cdot 10^{12}$
HC (%)	46.6	44.6

✓ Le test n°3 :

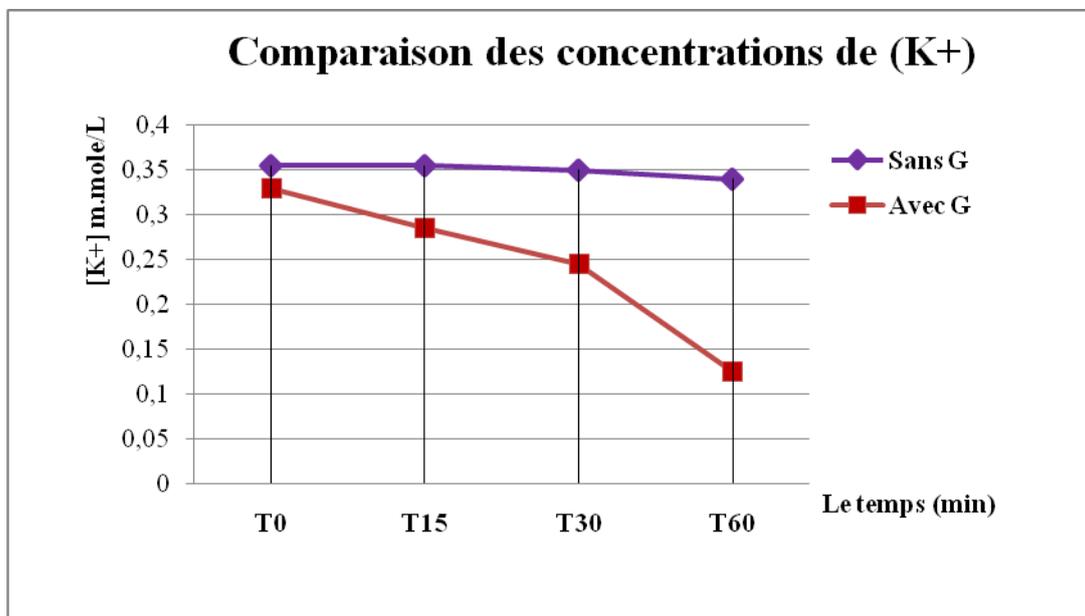


Figure 39 : test n°3 [K⁺].

✓ FNS (test n°4) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	82	80
GR (cell/L)	$6.15 \cdot 10^{12}$	$6.06 \cdot 10^{12}$
HC (%)	51.57	51.55

✓ Le test n°4 :

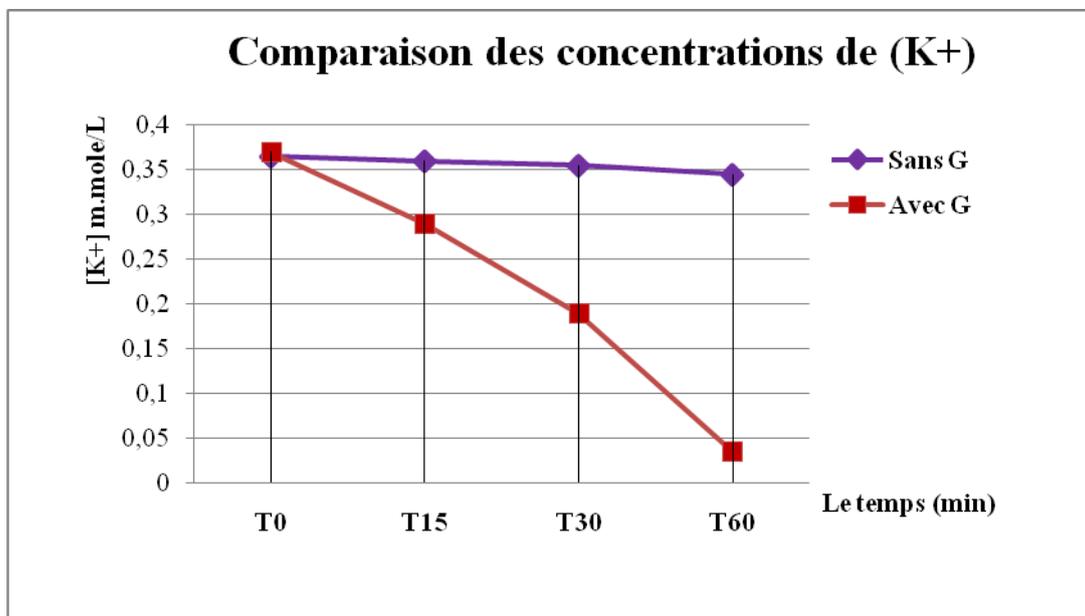


Figure 40 : test n°4 [K⁺].

✓ FNS (test n°5) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	87	87
GR (cell/L)	$5.08 \cdot 10^{12}$	$5.01 \cdot 10^{12}$
HC (%)	43.6	40.6

✓ Le test n°5 :

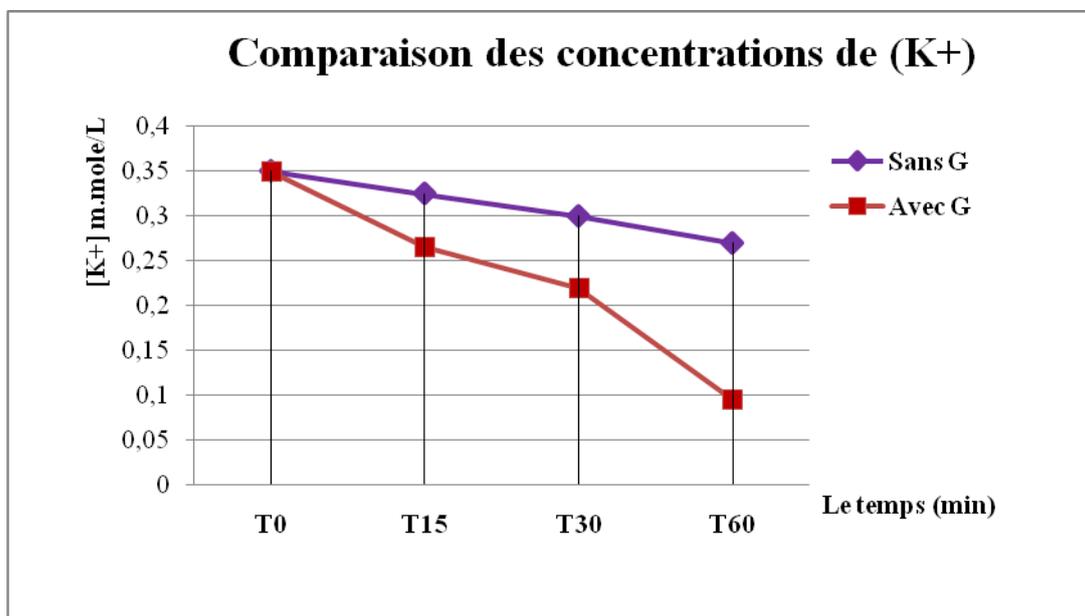


Figure 41 : test n°5 [K⁺].

✓ FNS (test n°6) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	84.9	83
GR (cell/L)	$6.33 \cdot 10^{12}$	$6.08 \cdot 10^{12}$
HC (%)	61.65	61.6

✓ Le test n°6 :

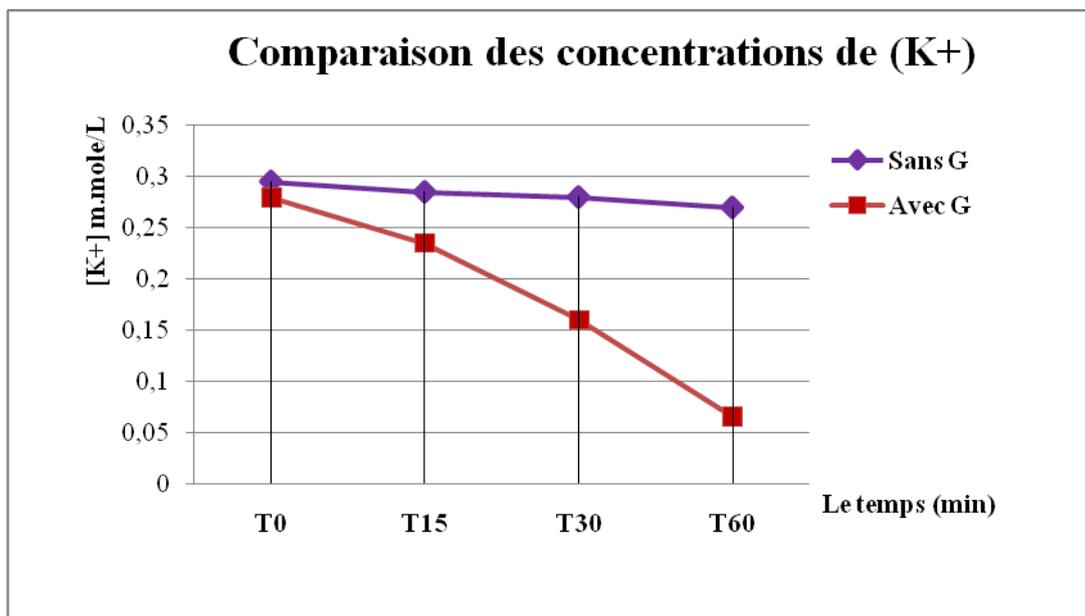


Figure 42 : test n°6 [K⁺].

✓ FNS (test n°7) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	84	83
GR (cell/L)	$6.33 \cdot 10^{12}$	$6.32 \cdot 10^{12}$
HC (%)	74.6	72.8

✓ Le test n°7 :

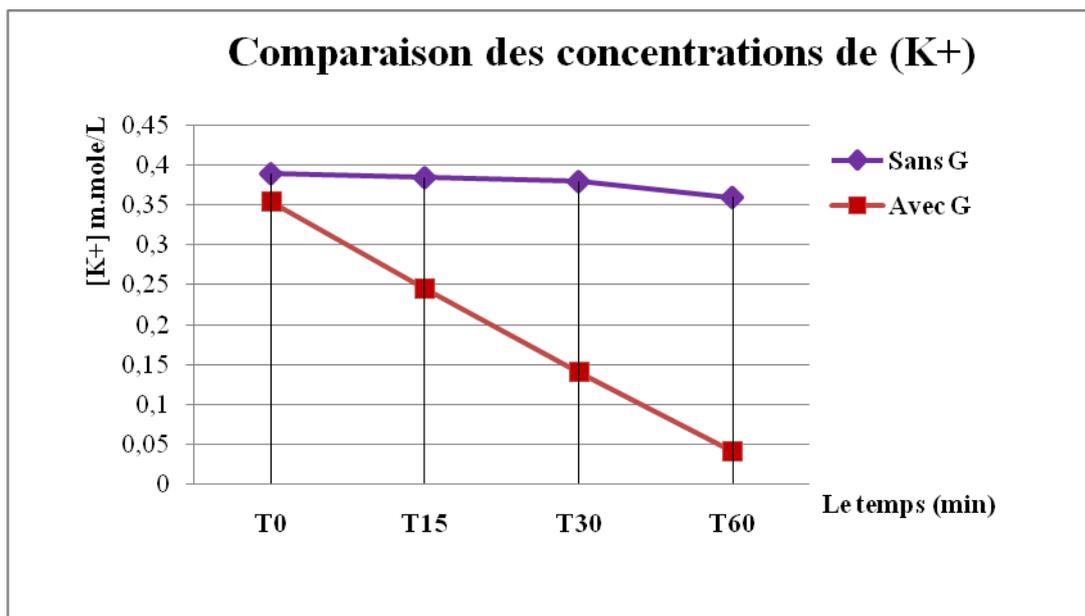


Figure 43 : test n°7 [K⁺].

✓ FNS (test n°8) :

FNS	Taux avant lavage	Taux après lavage
VGM (fl)	81.9	80
GR (cell/L)	$5.08 \cdot 10^{12}$	$5.00 \cdot 10^{12}$
HC (%)	51.67	51.6

✓ Le test n°8 :

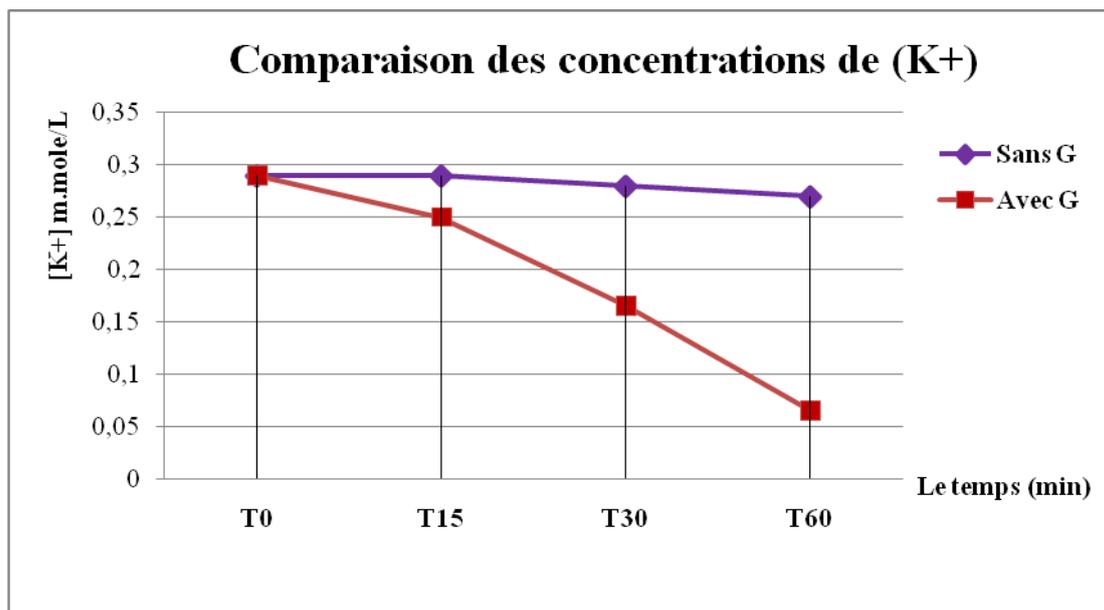


Figure 44: test n°8 [K⁺].

✓ Interprétation des graphes :

- A T0** Nous avons remarqué que la concentration intracellulaire du potassium n'a pas changé dans les deux suspensions cellulaires.
- A {T15 -T30}** Nous avons remarqué qu'il y a une baisse de concentration du potassium et qui est plus remarquable pour la suspension cellulaire qui contient la molécule.
La sortie de potassium est plus importante dans la suspension qui contenant le Glucantime dès la 15^{ème} minute.
- A T60** les concentrations ont beaucoup plus diminué pour la suspension cellulaire qui contient la molécule au temps (60 minute).

B. Comparaison entre les deux doses (75µl/ 150µl) :

✚ Potassium :

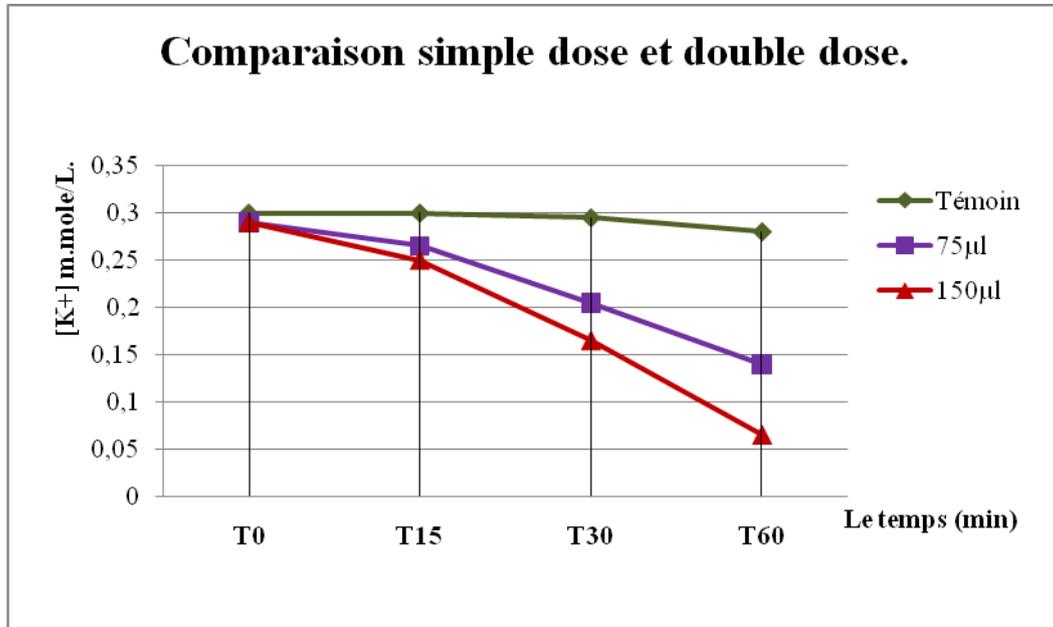


Figure 45 : Comparaison entre 1^{ère} dose et 2^{ème} dose.

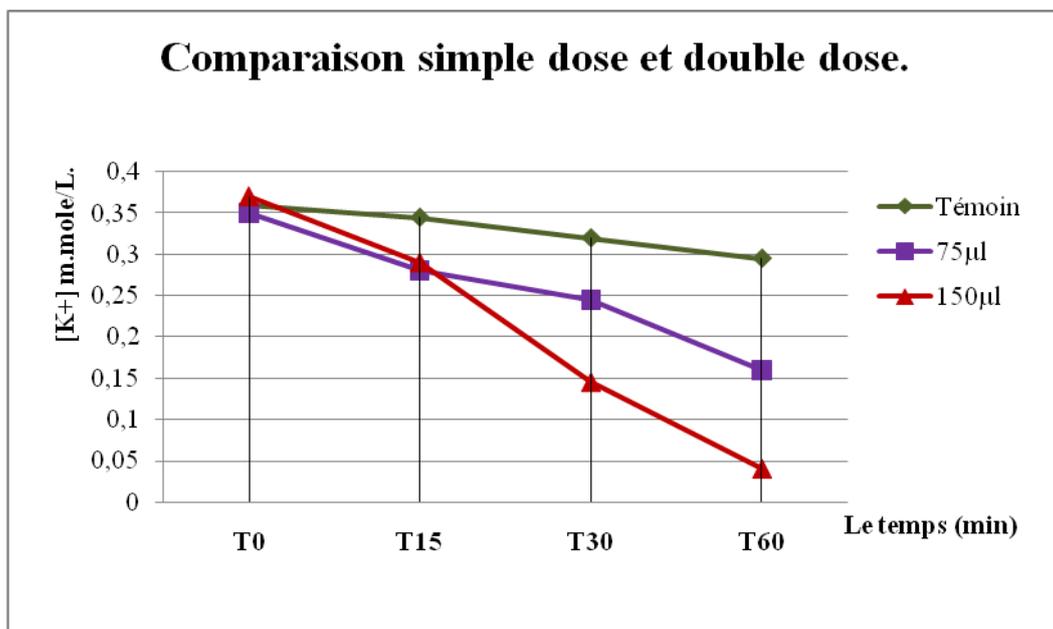


Figure 46 : Comparaison entre 1^{ère} dose et 2^{ème} dose.

C. La concentration d'Hémoglobine :

On a pratiqué 12 tests dont les résultats sont démontrés dans les graphes suivants:

✓ Le test n° 1 :

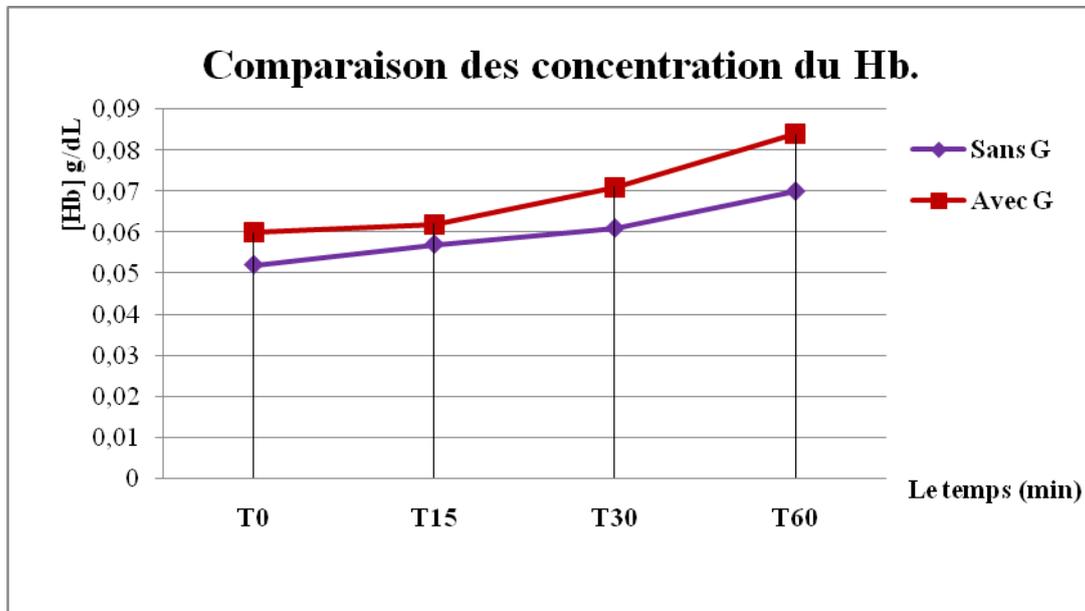


Figure 47 : test n°1 [Hb].

✓ Le test n°2 :

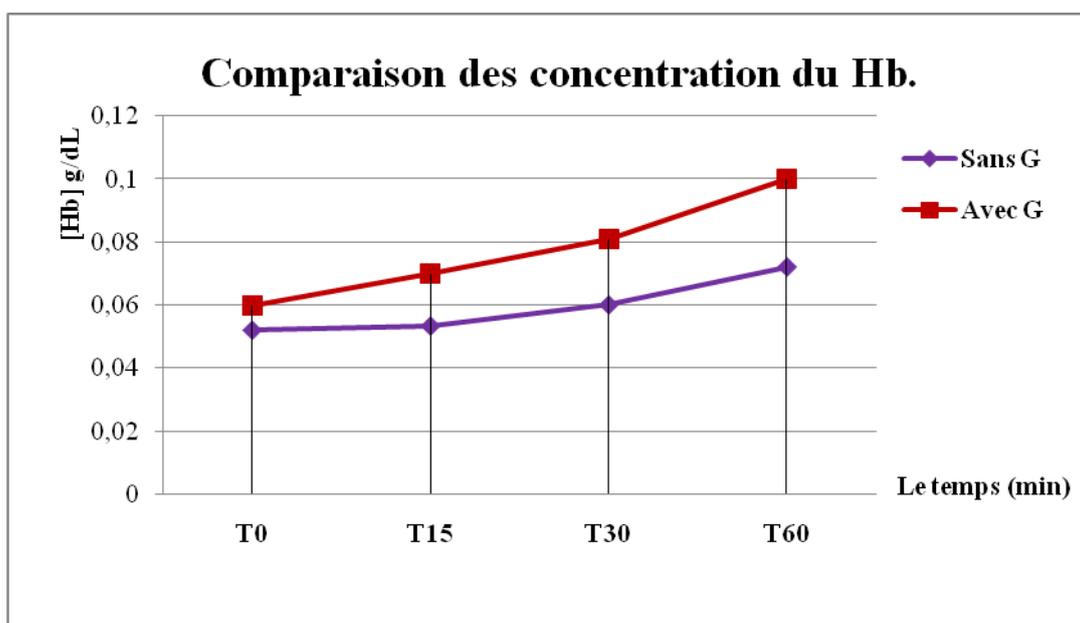


Figure 48: test n°2 [Hb].

✓ Le test n°3 :

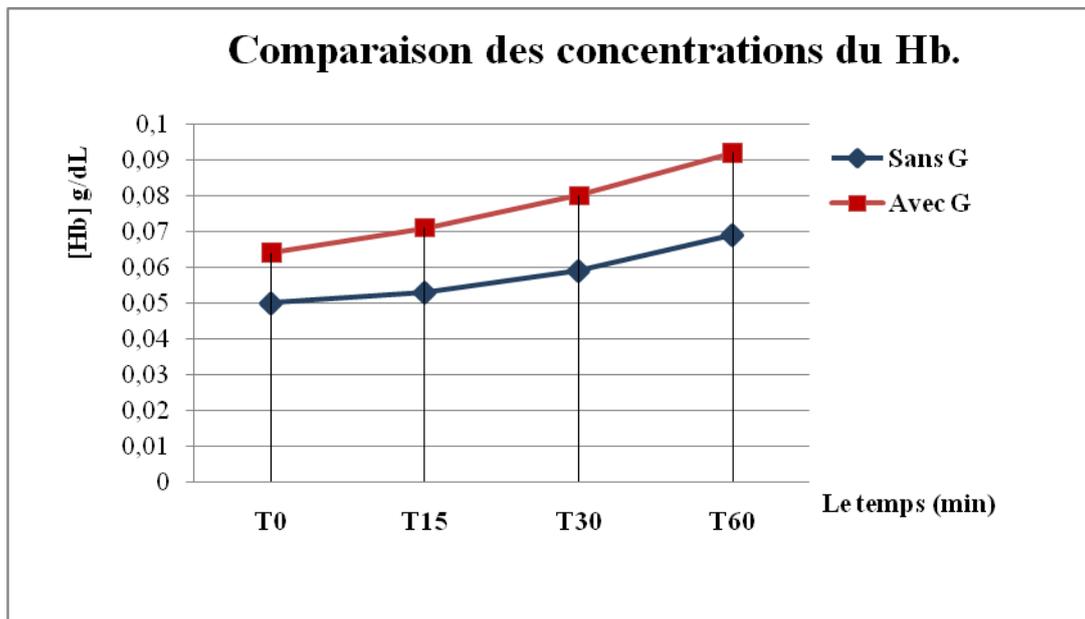


Figure 49: test n°3[Hb].

✓ Le test n°4 :

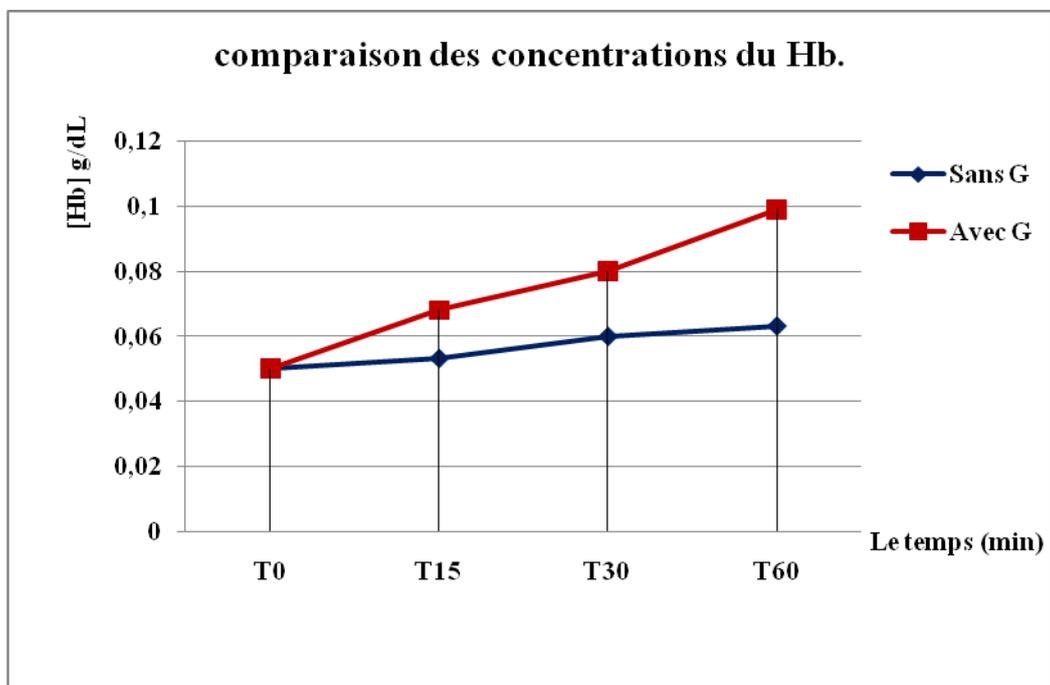


Figure 50 : test n°4 [Hb].

✓ Le test n°5 :

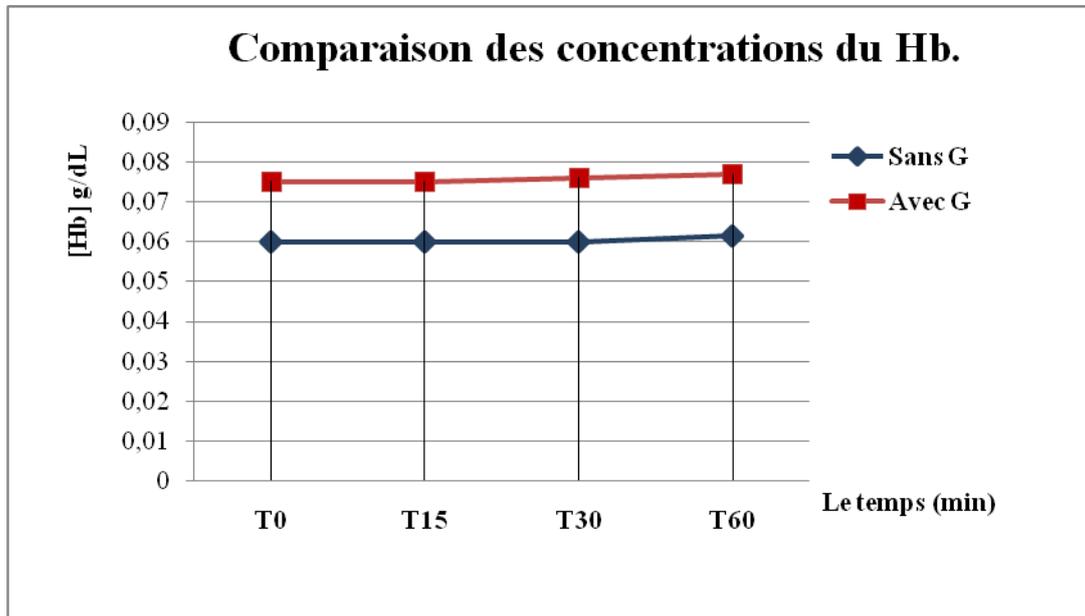


Figure 51 : test n°5 [Hb].

✓ Le test n°6 :

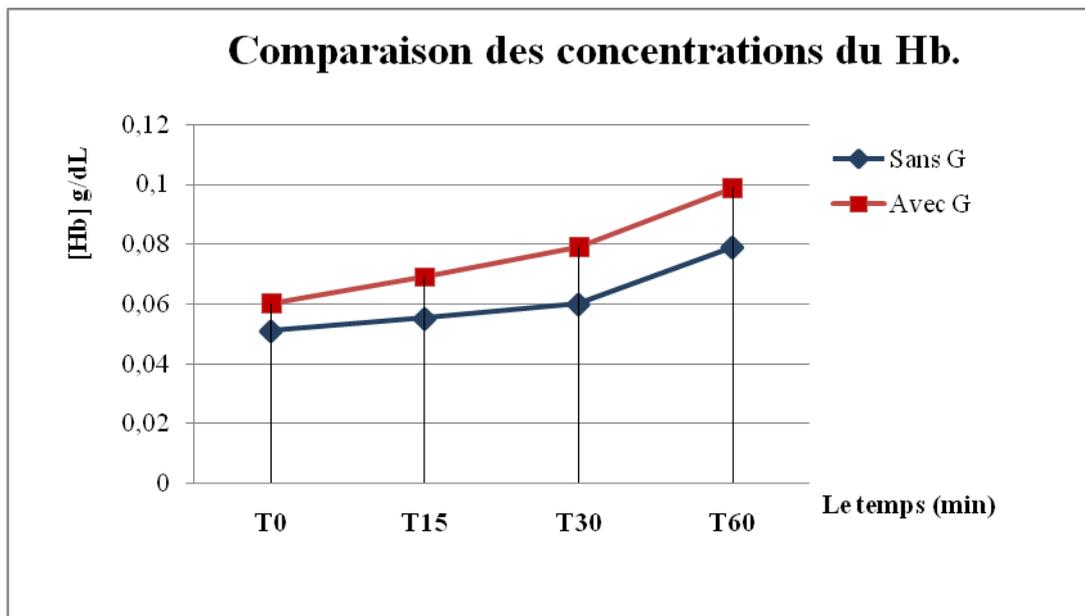


Figure 52: test n°6 [Hb].

✓ Le test n°7 :

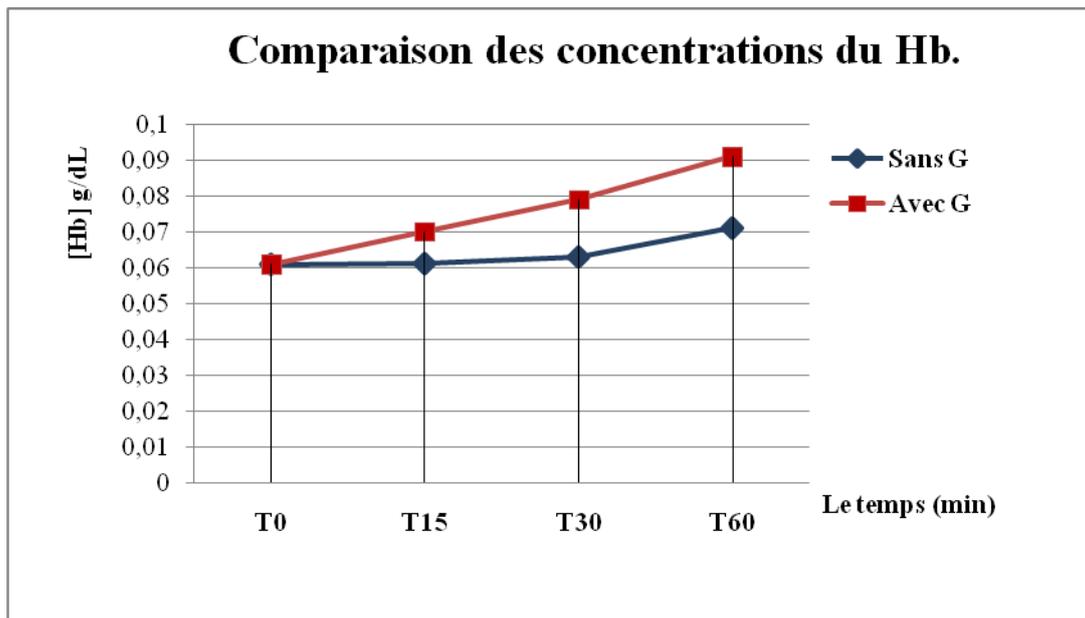


Figure 53: test n°7 [Hb].

✓ Le test n°8 :

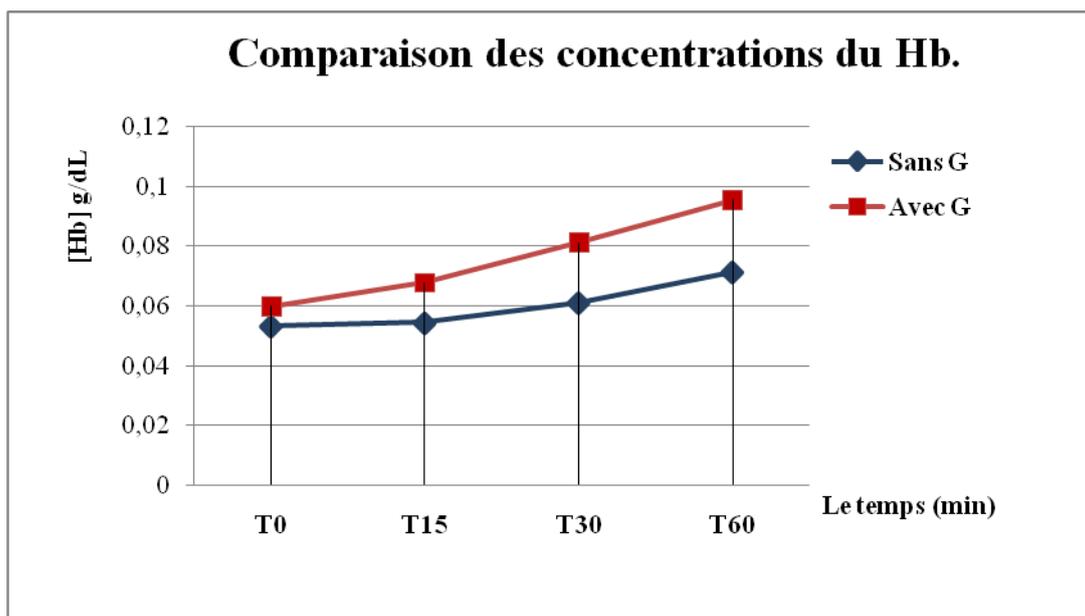
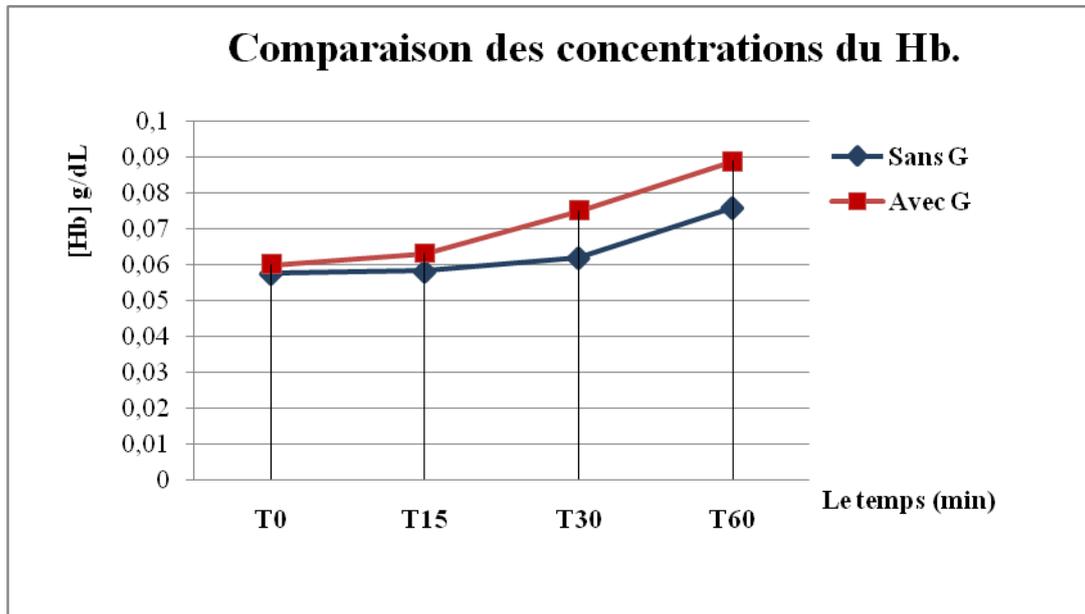


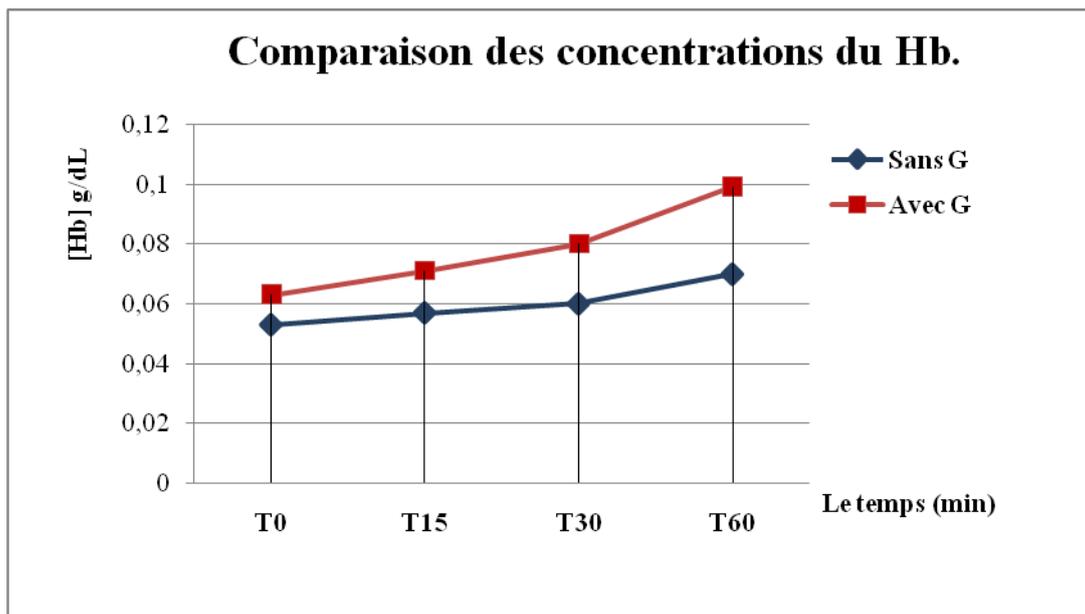
Figure 54: test n°8 [Hb].

✓ Le test n°9 :



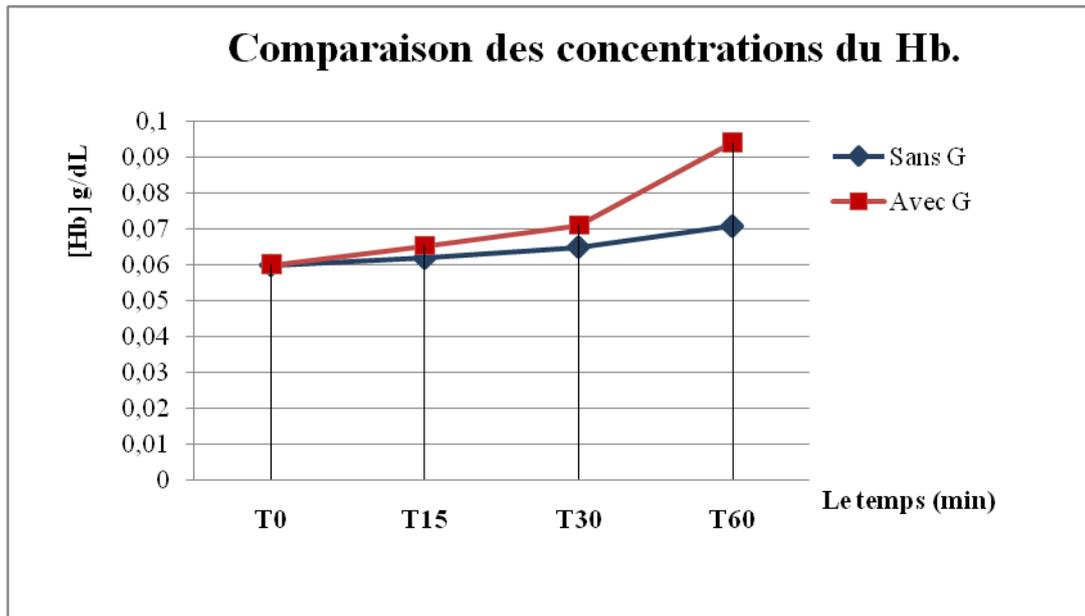
La figure : test n°9 [Hb].

✓ Le test n°10 :



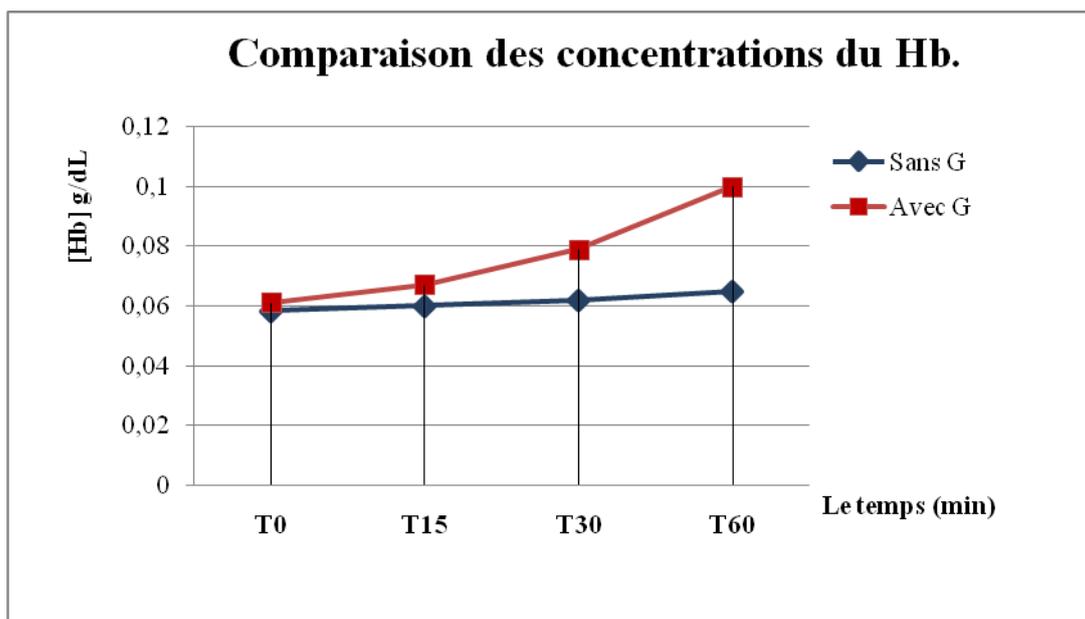
La figure : test n°10 [Hb].

✓ Le test n°11 :



La figure : test n°11 [Hb].

✓ Le test n°12 :



La figure : test n°12[Hb].

✓ Interprétation des graphes :

A T0 : On a remarqué que la concentration d'hémoglobine extracellulaire n'a pas changé dans les deux suspensions avec et sans G.

A T15 jusqu'à T30 : On a remarqué que la concentration d'hémoglobine extracellulaire a augmenté par rapport à T0, cette augmentation est plus remarquable pour la suspension qui contient la molécule.

A T60 : Les concentrations ont beaucoup plus augmenté pour la suspension cellulaire qui contient la molécule.

✓ **Le pourcentage d'hémolyse :**

Calcule du pourcentage d'hémolyse :

0.275 g/dl \longrightarrow 100% **Hb**[Hg] test 1 \longrightarrow X %**Tableau 2 : Pourcentage d'hémolyse des tests.**

N° de test :	%d'H témoin à 0min	% d'H +G à 0min	% d'H témoin à 15 min	% d'H +G à15min	% d'H témoin à 30min	% d'H +G à30min	% d'H témoin à 60min	% d'H +G à60min
(1)	19	21	21	22	22	26	25	30
(2)	19	21	19	25	22	29	26	36
(3)	18	22	19	26	21	29	25	33
(4)	18	18	19	25	22	29	23	36
(5)	21	27	22	27	22	28	22	28
(6)	18	21	20	25	22	29	29	36
(7)	22	22	22	25	23	29	26	33
(8)	19	21	20	25	22	29	26	35
(9)	21	21	21	23	23	27	28	33
(10)	19	22	21	27	22	29	26	36
(11)	21	21	22	24	24	29	26	34
(12)	21	22	22	24	23	29	24	36

Discussion



LA DISCUSSION

Notre objectif est d'étudier et d'évaluer in vitro l'effet toxique de Glucantime® sur un modèle universelle de cellule animal qui est le globule rouge. Avant d'aller plus loin dans le sujet, il nous a paru important de citer les biais de l'étude, relatifs à :

- ✓ Une telle étude nécessite un approfondissement et une réalisation in vitro.
- ✓ Prélevez des échantillons de sang d'une seule personne saine.
- ✓ Doser des différentes concentrations de Glucantime®.
- ✓ Les concentrations de différents paramètres (K⁺ et Hb) ont été obtenues à l'aide un ionomètre et un spectrophotomètre.

Nous ajoutons 75µl de Glucantime® dans deux suspensions et nous avons faire 8 tests, comme première étape. La remarque qui a été survenu était une diminution de concentration intracellulaire du potassium, ce qui à son tour était un signe d'hémolyse survenant les deux suspensions :

- Pour la suspension sans Glucantime®, il y a une légère diminution de la concentration s'explique parfois par l'hémolyse mécanique au cours de la manipulation et au cours de l'agitation mécanique.
- Pour la suspension avec Glucantime®, il ya une diminution de la concentration intracellulaire du potassium avec le temps jusqu'à ce qu'elle atteigne 0.14 m.Mole/L, par rapport au témoin.

Nos résultats sont proches avec une étude réalisée au niveau du CHU Tlemcen fait par ATTAR .N et sa collègue BENMIRA.M en 2017.

Dans la 2^{ème} étape on double la dose du Glucantime® (150µl) dans les deux suspensions; la chose qui a été observé dans cette étape est une diminution significative de la concentration du potassium avec le temps jusqu'à 0.035 m.Mole/l, au niveau de la suspension auquel ajoutons cette dose.

Le Glucantime® n'a pas une action direct dès son contacte avec la suspension cellulaire. Vue que la concentration intracellulaire en potassium était presque la même pour les deux suspensions cellulaires (témoin et avec la molécule) et pour les deux doses (75 et 150µl). Donc quand augmenter la dose la toxicité de la molécule augmente. On peut dire que la toxicité est proportionnelle à la dose, (après la comparaison entre les deux doses).

Alors ces résultats indique que la sortie du potassium intracellulaire peut être due soit à l'inhibition la fonction de la pompe K⁺/Na⁺ ATPase, soit à une lyse de la membrane cellulaire soit les deux au même temps.

LA DISCUSSION

Pour comparer nos résultats par rapport à autre étude, nous n'avons pas étudié des différents paramètres comme LDH et les protéines.

Ces valeurs sont comparables avec les résultats trouvés par Mlle ABED N et sa collègue Mlle KHOUANI F fait durant l'année 2016 au CHU de Tlemcen, qui a également noté une diminution de la concentration du potassium interne.

Après l'ajouter 150µl de cette substance, nous avons également évalué la concentration d'hémoglobine extracellulaire :

Dans cette étape, on remarque dans la suspension qui contient du Glucantime®, une augmentation de la concentration d'hémoglobine extracellulaire au cours du temps par rapport à la suspension qui ne contient pas la molécule. Ainsi qu'on remarque que le taux d'hémolyse dans les suspensions cellulaires qui contient la molécule est plus augmenté par rapport à la suspension cellulaire témoin, après 30 minutes le taux moyen d'hémolyse été 29%, et il a continué d'augmenter après 60 minutes (36 % des cellules sont hémolysées).

L'augmentation de la concentration d'hémoglobine extracellulaire au cours du temps peut être expliquée par une lyse au niveau de la membrane du globule rouge, ceci à son tour était le marquer qui a confirmé la survenue d'une hémolyse. Ces valeurs sont en accord avec ceux de trouvés par Mr.belhachem A et son collègue Mr.mansour benaouf Y. f ait durant l'année 2013 au CHU de Tlemcen, qui a rapporté que les principaux paramètres hématologiques ont été perturbés et marqués par une augmentation de taux d'hémoglobine externe.

Donc d'après nos résultats trouvés on peut dire que le Glucantime® a un effet toxique sur les cellules de globule rouge:

- ✓ Soit sur le transport membranaire en particulier la pompe Na^+/K^+ ATP ase, en inhibant la synthèse d'ATP. Pas d'énergie donc cette pompe ne fonctionne plus. Le potassium intracellulaire va sortir par diffusion suivit par l'entrée du sodium et de l'eau à travers les pores ioniques. Par conséquent l'entrée progressive du sodium et H^+ provoque une turgescence, puis une lyse de la membrane érythrocytaire et la perte du contenu cellulaire.
- ✓ Soit en agissant directement sur la membrane provoquant une lyse de celle-ci, et la sortie d'hémoglobine hors de la cellule après cette désintégration.
- ✓ Soit les deux (l'inhibition de la pompe et la lyse de la membrane cellulaire).
- ✓ L'hémolyse et la destruction cellulaire se sont produites par la molécule de Glucantime® qui a un effet sur la membrane de globule rouge.

Conclusion

Générale



CONCLUSION GÉNÉRALE

La leishmaniose fait partie des 6 maladies prioritaires du programme *tropical diseases research* (TDR). Et sont des maladies à déclaration obligatoire en Algérie.

L'efficacité des antimoniés dans le traitement des leishmanioses est confirmée par près d'un siècle d'utilisation. Et sont les médicaments de première intention contre cette maladie dans notre pays, cette thérapie est compliquée par les rechutes qui sont associées à une modification des concentrations intracellulaires des différents paramètres (Potassium et l'hémoglobine).

Notre travail consistait justement à étudier la toxicité hémolytique du Glucantime® sur les globules rouges et selon les résultats on a remarqué qu'il y a une présence de phénomène de l'hémolyse, et cela a été évalué par la lyse de la membrane qui conduit à la libération des du potassium et d'hémoglobine, et confirmer par l'augmentation de taux d'hémoglobine extracellulaire d'une part, avec une diminution de concentration intracellulaire du potassium d'autre part. Donc, nous pouvons conclure que le Glucantime® affecte les globules rouges humain par la lyse de leurs membranes.

Cependant les résultats obtenus ne peuvent être comparés aux résultats précédentes en raison des conditions expérimentales différents: différents matériels, méthodes, et population étudié, en effet, ce qui fait de cette étude un supplément dans la recherche pour l'évaluation *in vitro* des autres effets toxiques de la molécule.

Résumé :

En terme de maladies dermiques très fréquentes en Algérie on trouve les maladies leishmanioses qui engendrées par un protozoaire flagellé du genre *leishmania*. Il s'agit par un groupe des maladies à transmission vectorielle et ne sont pas marginales

Dans les cas courants, les Antimoniates de Méglumine (Glucantime®) est considéré comme le traitement premier intention contre la leishmaniose. D'autre part ce médicament est également une source de danger pour l'homme, car il effectué la membrane de la cellule animale et provoque la lyse de celle-ci.

Dans notre recherche nous l'avons testé cette molécule sur les globules rouges in vitro, pour étudier et évaluer l'effet toxique de Glucantime® par le dosage de sodium et d'hémoglobine. Alors nous avons conclu que ce médicament est responsable de la toxicité hémolytique.

Les mots clés :

Leishmaniose, Glucantime®, la membrane de la cellule, globules rouges, potassium, l'hémoglobine, la toxicité hémolytique.

ملخص :

فيما يتعلق بالأمراض الجلدية المتكررة جدًا في الجزائر ، نجد أمراض الليشمانيات التي تسببها طفيليات سوطية من جنس الليشمانيا. هذه مجموعة من الأمراض المنقولة بالنواقل وليست هامشية. في الحالات الشائعة ، يعتبر مضادات الميغلويمين (Glucantime®) هو خط العلاج الأول لداء الليشمانيات. من ناحية أخرى ، يعتبر هذا الدواء أيضًا مصدر خطر على الإنسان ، لأنه يؤثر على غشاء الخلية الحيوانية ويسبب تحلل الأخيرة.

في بحثنا ، اختبرنا هذا الجزيء على خلايا الدم الحمراء في المختبر ، لدراسة وتقييم التأثير السام لـ Glucantime® عن طريق تحديد الصوديوم والهيموجلوبين..

لذلك من خلال عملنا، استنادًا إلى الاختبارات المعملية لدراسة وتقييم التأثير السام لـ Glucantime® على نموذج خلية حيوانية عالمي وهو خلايا الدم الحمراء لموضوع سليم.

كلمات مفتاحية :

داء الليشمانيات ، Glucantime® ، غشاء الخلية ، خلايا الدم الحمراء ، الصوديوم ، التسمم الانحلالي ، الهيموجلوبين .

Abstract:

In terms of very frequent skin diseases in Algeria, we find leishmaniasis diseases which are caused by a flagellated protozoan of the genus leishmania. These are a group of vector-borne diseases and are not marginal

In common cases, Meglumine Antimoinate (Glucantime®) is considered the first-line treatment for leishmaniasis. On the other hand, this drug is also a source of danger for humans, because it affects the membrane of the animal cell and causes lysis of the latter.

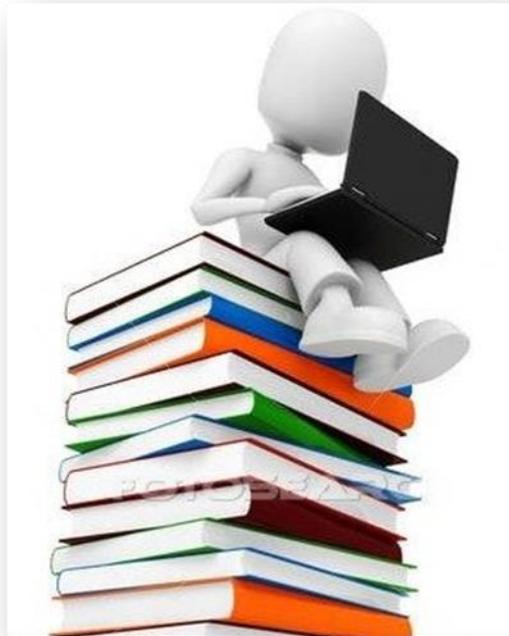
In our research we tested this molecule on red blood cells in vitro, to study and evaluate the toxic effect of Glucantime® by the determination of sodium and hemoglobin. then we concluded that this drug is responsible for the hemolytic toxicity.

Keys words :

Leishmaniasis, Glucantime®, the membrane of the animal cell ,red blood cells, sodium, hemoglobin, hemolytic toxicity.

Référence

Bibliographie



RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIE

1. Bley, D., *Les maladies à transmission vectorielle, pourquoi s'y intéresser?* Natures Sciences Sociétés, 2010. **18**(2): p. 101-102.
2. Jourdain, F. and M.-C. Paty, *Impact des changements climatiques sur les vecteurs et les maladies à transmission vectorielle en France.* Les Tribunes de la sante, 2019(3): p. 41-51.
3. Torres-Guerrero, E., et al., *Leishmaniasis: a review.* F1000Research, 2017. **6**.
4. Zeroual, S., R. Gaouaoui, and H. Boudjlida, *Diversity and occurrence of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the area of Biskra (Middle Eastern of Algeria).* J Entomol Zool Stud, 2016. **4**(5): p. 890-895.
5. Tomás-Pérez, M., et al., *First report of natural infection in hedgehogs with Leishmania major, a possible reservoir of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Algeria.* Acta tropica, 2014. **135**: p. 44-49.
6. Moreira, V.R., et al., *Meglumine antimoniate (Glucantime) causes oxidative stress-derived DNA damage in BALB/c mice infected by Leishmania (Leishmania) infantum.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2017. **61**(6).
7. Sellami, K., et al. *Leishmaniose cutanée traitée par Glucantime® en intramusculaire: redouter une toxicité pancréatique!* in *Annales de Dermatologie et de Vénérologie.* 2014. Elsevier.
8. Mondiale de la Santé, O.W.H.O., *Global leishmaniasis update, 2006–2015: a turning point in leishmaniasis surveillance–Le point sur la situation mondiale de la leishmaniose, 2006-2015: un tournant dans la surveillance de la maladie.* Weekly Epidemiological Record= Relevé épidémiologique hebdomadaire, 2017. **92** (38): p. 557-565.
9. GOLVAN, Y.J., *Eléments de parasitologie médicale* 4^{ème} édition ed. 1984.
10. Akhoundi, M., et al., *A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of Leishmania parasites and sandflies.* PLoS neglected tropical diseases, 2016. **10**(3).
11. Steverding, D., *The history of leishmaniasis.* Parasites & vectors, 2017. **10**(1): p. 82.
12. D, B., *Mise au point de la leucocytoconcentration et son application dans le diagnostic de la leishmaniose canine et la leishmaniose viscérale humaine, mémoire de fin d'étude de résidanat en parasitologie mycologie médicale.* 2008-2009.
13. Matte., C., *L'impact du parasite Leishmania donovani sur les réponses à l'INF γ et la signalisation via la voie Jak.stat ; mémoire d'obtention de garde maitre ès sciences en virologie immunologie INRS.* 2003.
14. Dedet, J., *Epidémiologie mondiale de la leishmaniose viscérale.* Médecine et Maladies Infectieuses, 1994. **24**: p. 562-565.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIE

15. Touria, H.S., *Profil épidémiologique et biologique de la leishmaniose viscérale infantile dans l'ouest algérien, mémoire d'obtention de diplôme de magister option parasitologie*. 2012.
16. Thomaz-Soccol, V., et al., *Monophyletic origin of the genus Leishmania Ross, 1903*. Annales de parasitologie humaine et comparée, 1993. **68**: p. 107-107.
17. Hassani, M.A., et al., *Aspects biologiques de la leishmaniose viscérale infantile: À propos de 31 cas diagnostiqués sur 10 mois au laboratoire d'hématologie du CHU Hassan II de Fès (Maroc)*. Revue Francophone des Laboratoires, 2011. **2011**(429): p. 55-60.
18. Dedet, J., *Leishmanies, leishmanioses: biologie, clinique et thérapeutique*. Editions Scientifiques et Médicales. 2009, Elsevier SAS, Paris.
19. Suman Gupta, N., *Visceral leishmaniasis: experimental models for drug discovery*. The Indian journal of medical research, 2011. **133**(1): p. 27.
20. Benbella, I., et al., *La leishmaniose viscérale chez l'adulte à propos de douze cas*. Pan African Medical Journal, 2016. **23**(1).
21. Mouloua, A., et al., *Impact environnemental sur la répartition des leishmanioses dans le foyer de Tizi-Ouzou (Algérie)*. Revue de Medecine Veterinaire, 2017. **168**(10-12): p. 252-261.
22. Turan, E., et al., *Assessment of psychiatric morbidity and quality of life in children and adolescents with cutaneous leishmaniasis and their parents*. Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii, 2015. **32**(5): p. 344.
23. Izri, A. and S. Belazzoug, *Diagnostic de laboratoire des leishmanioses rencontrées en Algérie*. Revue francophone des laboratoires, 2007. **2007**(396): p. 3-10.
24. F, B., *Aspects épidémiologiques et cliniques des leishmanioses en Algérie*. La lettre de l'infectiologue, 2006. **1**(Janvier-Février): p. 9-15.
25. Biolib.cz. *Meriones shawi*. Available from: <https://www.biolib.cz/en/image/id97965/>.
26. BioLib.cz. *Psammomys obesus*. Available from: <https://www.biolib.cz/en/image/id390657/>.
27. Carré, N., et al., *La leishmaniose viscérale*. Journal de pharmacie clinique, 2010. **29**(3): p. 121-148.
28. ANOFEL (Association Française des Enseignants de parasitologie et mycologie). *Leishmanioses*. 2014.
29. Prevention, C.f.D.C.a. *Parasites - Leishmaniasis: Biology*. Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>.
30. Alvar, J., et al., *Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence*. PloS one, 2012. **7**(5).
31. Oryan, A. and M. Akbari, *Worldwide risk factors in leishmaniasis*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2016. **9**(10): p. 925-932.
32. Gentilini, M., *Médecine tropicale - 6e édition* Book. ed. 2012.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIE

33. Aoun, K. and A. Bouratbine, *Cutaneous leishmaniasis in North Africa: a review*. Parasite, 2014. **21**.
34. Harrat, Z., et al., *Description of a dermatropic Leishmania close to L. killicki (Rioux, Lanotte & Pratlong 1986) in Algeria*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2009. **103**(7): p. 716-720.
35. Beldi, N., et al., *Molecular characterization of Leishmania parasites in Giemsa-stained slides from cases of human cutaneous and visceral leishmaniasis, Eastern Algeria*. Vector-borne and zoonotic diseases, 2017. **17**(6): p. 416-424.
36. Belkaïd, M. and Z. Harrat, *La leishmaniose en Algérie. Mise au point*. Rev Méd Phar, 1997: p. 43-6.
37. Garni, R., et al., *Remote sensing, land cover changes, and vector-borne diseases: Use of high spatial resolution satellite imagery to map the risk of occurrence of cutaneous leishmaniasis in Ghardaia, Algeria*. Infection, Genetics and Evolution, 2014. **28**: p. 725-734.
38. Schriefer, A., M.E. Wilson, and E.M. Carvalho, *Recent developments leading toward a paradigm switch in the diagnostic and therapeutic approach to human leishmaniasis*. Current opinion in infectious diseases, 2008. **21**(5): p. 483.
39. Herwaldt, B.L., S.L. Stokes, and D.D. Juraneck, *American cutaneous leishmaniasis in US travelers*. Annals of internal medicine, 1993. **118**(10): p. 779-784.
40. Ahluwalia, S., et al., *Mucocutaneous leishmaniasis: an imported infection among travellers to central and South America*. Bmj, 2004. **329**(7470): p. 842-844.
41. Morizot, G., et al., *Healing of Old World cutaneous leishmaniasis in travelers treated with fluconazole: drug effect or spontaneous evolution?*The American journal of tropical medicine and hygiene, 2007. **76**(1): p. 48-52.
42. Hamiroune, M., et al., *Situation épidémiologique de la leishmaniose cutanée humaine dans la région steppique de Djelfa en Algérie: Incidence et facteurs de variation*. International Journal of Innovation and Applied Studies, 2019. **26**(1): p. 253-261.
43. Mahmoud, M., et al., *Geographical distribution and new situation of leishmania species after the control of cutaneous leishmaniasis foci in errachidia province, Morocco, in 2014*. BioMed research international, 2016. **2016**.
44. ANOFEL, *Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales*. 2007. 80-81-83.
45. Guerin, P.J., et al., *Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda*. The Lancet infectious diseases, 2002. **2**(8): p. 494-501.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIE

46. Kevric, I., M.A. Cappel, and J.H. Keeling, *New world and old world Leishmania infections: a practical review*. *Dermatologic clinics*, 2015. **33**(3): p. 579-593.
47. Marty, P. and P. Desjeux, *Leishmanioses viscerales*. *Revue Francaise des Laboratoires*, 1995. **1995**(273): p. 77-80.
48. Faucher, B. and R. Piarroux, *Actualités sur les leishmanioses viscérales*. *La revue de médecine interne*, 2011. **32**(9): p. 544-551.
49. Pratlong, F., et al., *Leishmanioses et immunod'epression: Aspects biocliniques actuels*. *Revue française des laboratoires*, 1997. **1997**(291): p. 161-168.
50. Gambarelli, F., et al., *La leishmaniose viscérale à l'ère du SIDA: Les difficultés du diagnostic biologique*. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 1994. **24**: p. 572-575.
51. Dardé, M.-L., É. Fougère, and J. Buxeraud, *Les médicaments de la leishmaniose*. *Actualités Pharmaceutiques*, 2018. **57**(581): p. 18-21.
52. Mokni, M. *Leishmanioses cutanées*. in *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*. 2019. Elsevier.
53. Minodier, P., et al., *Le traitement des leishmanioses*. *Archives de pédiatrie*, 2010. **6**(17): p. 838-839.
54. Eddaikra, N., et al., *Leishmania antimony resistance/susceptibility in Algerian foci*. *Open J Trop Med*, 2017. **1**(1): p. 024-032.
55. EurekaSanté.vidal. *GLUCANTIME*. 21 Avril 2020; Available from: <https://eurekasante.vidal.fr/medicaments/vidal-famille/medicament-dgluca01-GLUCANTIME.html>.
56. Organization, W.H., *Manuel pour la prise en charge de la leishmaniose cutanée dans la Région OMS de la Méditerranée orientale*. 2014.
57. GDD, P. *Glucantime 1,5g / 5ml solution injectable 5 ampoules*. 2019; Available from: <https://www.pharma-gdd.com/fr/glucantime-1-5-g-5-ml-solution-injectable-5-ampoules-de-5-ml>.
58. *GLUCANTIME 1,5 g/5 ml, solution injectable*. 2010; Available from: <http://document-rcp.vidal.fr/af/47a0efc6b6d7463e8afd818c02e223af.pdf>.
59. ANTIMOINE, S.P., *Antimony and salts*. *Evolution*. **9**: p. 6.
60. Caballero, A., J. Salas, and M. Sánchez-Moreno, *Metal-based therapeutics for leishmaniasis*. *leishmaniasis-trends in epidemiology, diagnosis and treatment*. In Tech, 2014: p. 465-493.
61. Bourgeade, A. and Y. Nosny, *Leishmaniose viscérale: actualités thérapeutiques*. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 1994. **24**(5): p. 614-621.
62. Edouard, B., X. Bohand, and J. Maslin, *Médicaments des infections à protozoaires (paludisme exclu)*. *EMC-Maladies infectieuses*, 2004. **1**(4): p. 293-301.
63. *Service dermatologie CHU Tlemcen*.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIE

64. Docavenue. *GLUCANTIME 1,5 g/5 ml, solution injectable, boîte de 5 ampoules de 5 ml*. Available from: <https://www.docavenue.com/info-medicament/glucantime-1,5g-5ml-amp-5>.
65. RA, C., F. SI, and M. DO, *L'antimoniote de N-méthyl glucamine, ou glucantime®*. Médecine tropicale, 2000. **60**(4): p. 342.
66. Ephros, M. and N.E. Aronson, *Leishmania Species (Leishmaniasis)*, in *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. 2018. p. 1323-1334. e3.
67. Doctissimo, *GLUCANTIME 1,5 g/5 ml, solution injectable, boîte de 5 ampoules de 5 ml*. 2019
68. MÉDICAMENTS, B.D.D.P.D. *GLUCANTIME 1,5 g/5 ml, solution injectable*. 2020; Available from: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/extrait.php?specid=60576634>.
69. *Antimony and antimonials*, in *Meyler's Side Effects of Drugs*. 2016. p. 619-624.
70. Masmoudi, A., et al., *Glucantime® par voie parentérale: bénéfique versus toxicité*. Médecine et maladies infectieuses, 2005. **35**(1): p. 42-45.
71. Benmously, R., et al. *Doit-on continuer à indiquer le Glucantime® en première intention pour le traitement des leishmanioses cutanées en Tunisie?* in *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*. 2011.
72. Sundar, S. and M. Chatterjee, *Visceral leishmaniasis-current therapeutic modalities*. Indian Journal of Medical Research, 2006. **123**(3): p. 345.
73. Gebel, T., *Arsenic and antimony: comparative approach on mechanistic toxicology*. Chemico-biological interactions, 1997. **107**(3): p. 131-144.
74. Johanna, F., M. Nolwenn, and N. Eléonore. *FORMATION D'INGÉNIEUR DU GÉNIE SANITAIRE .ATELIER SANTÉ-ENVIRONNEMENT .EVALUATION ET GESTION DES RISQUES LIES A L'EXPOSITION A L'ANTIMOINE*. avril 2004; 24-27]. Available from: file:///C:/Users/pc/Documents/glucantime%201.Data/PDF/1283995713/03-Antimoine.pdf.
75. De Wolff, F., *Antimony and Health - Incriminating stibine in the sudden infant death syndrome is difficult on current evidence*. BMJ: British medical journal, 1995. **310**: p. 1216-1217.
76. Registry, A.f.T.S.a.D. and U.S.P.H. Service, *TOXICOLOGICAL PROFILE FOR ANTIMONY AND COMPOUNDS*. September 1992.
77. INRS. *Antimoine et composés inorganiques*. 2020; Available from: <http://www.inrs.fr/dms/biotox/Substance/ANTIMOINE-ET-COMPOSES-INORGANQUES-1/Antimoine%20et%20compos%C3%A9s%20inorganiques.pdf>.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIE

78. Passero, L.F.D., et al., *In vivo antileishmanial activity of plant-based secondary metabolites*, in *Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and Their Components*. 2013, Elsevier. p. 95-107.
79. Donovan, K., et al., *Pancreatitis and palindromic arthropathy with effusions associated with sodium stibogluconate treatment in a renal transplant recipient*. *Journal of Infection*, 1990. **21**(1): p. 107-110.
80. *Erythrocyte normal : Morphologie, structure, composition chimique, métabolisme érythrocytaire*. January 15, 2018; Available from: https://nanopdf.com/download/erythrocyte-normal_pdf#.
81. KOHLER, C., *Les cellules sanguines*. Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes cytologistes et cytogénéticiens, 2010. **2011**.
82. Lang, E. and F. Lang, *Triggers, inhibitors, mechanisms, and significance of eryptosis: the suicidal erythrocyte death*. *BioMed research international*, 2015. **2015**.
83. Pretorius, E., *The adaptability of red blood cells*. *Cardiovascular diabetology*, 2013. **12**(1): p. 1-8.
84. Joyez, E. *Physiologie du globule rouge*. 2015-2016; Available from: <https://www.fichier-pdf.fr/2015/10/06/30-09-15-8h00-9h00-tagzirt/>.
85. transfusion, T.s.l. *Transfusion sanguine*. 2013; Available from: <https://www.toutsurlatransfusion.com/transfusion-sanguine/transfusion/qu-est-ce-qu-une-transfusion-sanguine.php>.
86. d'Angers., M.Z.-L.d.H.C.d.C. *physiologie du globule rouge* 2011.; Available from: <http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/globules-rouges-et-leur-pathologie/26-physiologie-du-globule-rouge>.
87. Melo, D., et al., *Interplay between Erythrocyte Peroxidases and Membrane*, in *Erythrocyte*. 2019, IntechOpen.
88. Pasricha, S., *The red cell membrane, part 1: the role of the red cell membrane*. *Clinical advances in hematology & oncology: H&O*, 2014. **12**(8): p. 533.
89. NM Weijers, R., *Lipid composition of cell membranes and its relevance in type 2 diabetes mellitus*. *Current diabetes reviews*, 2012. **8**(5): p. 390-400.
90. de Oliveira, S. and C. Saldanha, *An overview about erythrocyte membrane*. *Clinical hemorheology and microcirculation*, 2010. **44**(1): p. 63-74.
91. Delaunay, J., *The molecular basis of hereditary red cell membrane disorders*. *Blood reviews*, 2007. **21**(1): p. 1-20.
92. Portier, K., et al. *Paramètres influençant la structure et la fonction du globule rouge chez le cheval*. in *Annales de Médecine Vétérinaire*. 2007. Université de Liège.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIE

93. David Germanaud, G.F. *Groupes sanguins et conséquences médicales*. 2003; Available from: <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/animaux/groupes-sanguins-et-consequences-medicales>.
94. John, M., N. Mohandas, and R. Sinju, *Electrophoretic Protein Analysis of Red blood cell Membrane Proteins upon Ionic and Non-ionic detergent lysis*. International Journal of Biosciences and Technology, 2018. **11**(6): p. 52-59.
95. Narla, J. and N. Mohandas, *Red cell membrane disorders*. International journal of laboratory hematology, 2017. **39**: p. 47-52.
96. SIMON, M. *Les membranes cellulaires (Biologie cellulaire) Cours Pharmacie* 15 mai 2011; Available from: <https://www.cours-pharmacie.com/biologie-cellulaire/les-membranes-cellulaires.html>.
97. Kulbacka, J., et al., *Cell membrane transport mechanisms: ion channels and electrical properties of cell membranes*, in *Transport across natural and modified biological membranes and its implications in physiology and therapy*. 2017, Springer. p. 39-58.
98. faculté, b., *transport membranaire* 2015.
99. Rossini, G.P. and A. Bigiani, *Palytoxin action on the Na⁺, K⁺-ATPase and the disruption of ion equilibria in biological systems*. Toxicon, 2011. **57**(3): p. 429-439.
100. Pivovarov, A.S., F. Calahorro, and R.J. Walker, *Na⁺/K⁺-pump and neurotransmitter membrane receptors*. Invertebrate Neuroscience, 2019. **19**(1): p. 1.
101. Butcher, J.T., et al., *Hemoglobin α in the blood vessel wall*. Free Radical Biology and Medicine, 2014. **73**: p. 136-142.
102. Bauer, D.E., S.C. Kamran, and S.H. Orkin, *Reawakening fetal hemoglobin: prospects for new therapies for the β -globin disorders*. Blood, 2012. **120**(15): p. 2945-2953.
103. LIFE'STYLE, D. *QU'EST CE QUE L'HÉMOGLOBINE* 2018; Available from: <https://drepanolifestylefr.wordpress.com/2018/05/24/quest-ce-que-lhemoglobine/>.
104. Wajcman, H., *Hémoglobines: structure et fonction*. EMC-Hématologie, 2005. **2**(3): p. 145-157.
105. Nakagaki, S., et al., *The Research on Porphyrins and Analogues in Brazil: A Small Review Covering Catalytic and other Applications since the Beginning at Universidade de São Paulo in Ribeirão Preto until the Joint Venture between Brazilian Researchers and Colleagues from Universidade de Aveiro, Portugal*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2019. **30**(12): p. 2501-2535.
106. H, D.H. *hemolyse normale et pathologique*. 2020; Available from: <https://fmedecine.univ->

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIE

- setif.dz/ProgrammeCours/16.03.HEMOLYSE%20NORMALE%20ET%20PATHOLOGIQUE%20%202020.pdf.
107. santé, d. *Hémolyse intravasculaire*. 2018; Available from: <https://www.doctissimo.fr/sante/dictionnaire-medical/hemolyse-intravasculaire>.
 108. Jauréguiberry, S., *Rétention et " pitting " splénique des globules rouges au cours du paludisme aigu traité par dérivé de l'artémisinine*. 2015, Paris 6.
 109. Ali, D., et al. *Interférence de l'hémolyse sur le dosage de vingt-deux paramètres biochimiques*. in *Annales de biologie clinique*. 2014.
 110. Jeney, V., et al., *Natural history of the bruise: formation, elimination, and biological effects of oxidized hemoglobin*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013. **2013**.
 111. Mégarbane, B., *Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase: quand y penser et quelles précautions prendre?* *Réanimation*, 2008. **17**(4): p. 399-406.
 112. santé, A.n.d.s.d.m.e.d.p.d. *MEDICAMENTS ET DEFICIT EN GLUCOSE-6-PHOSPHATE DESHYDROGENASE (G6PD)*. 2014; Available from: [file:///C:/Users/pc/Downloads/Rapport-Medicaments-deficit-G6PD-24052019%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/pc/Downloads/Rapport-Medicaments-deficit-G6PD-24052019%20(1).pdf).
 113. Goldstein, B.D. and I.L. Office, *Haematopoietic and Lymphatic System*. International Labour Office (ILO). *Encyclopaedia of occupational health and safety*. 4ed. Geneva: ILO, 1998: p. 1.2.
 114. *Hémolyse* 2015-2016; Available from: <http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/hemato05-hemolyse.pdf>.

Résumé :

En terme de maladies dermiques très fréquentes en Algérie on trouve les maladies leishmanioses qui engendrées par un protozoaire flagellé du genre *leishmania*. Il s'agit par un groupe des maladies à transmission vectorielle et ne sont pas marginales

Dans les cas courants, les Antimoniates de Méglumine (Glucantime®) est considéré comme le traitement premier intention contre la leishmaniose. D'autre part ce médicament est également une source de danger pour l'homme, car il effectuée la membrane de la cellule animale et provoque la lyse de celle-ci.

Dans notre recherche nous l'avons testé cette molécule sur les globules rouges in vitro, pour étudier et évaluer l'effet toxique de Glucantime® par le dosage de sodium et d'hémoglobine. Alors nous avons conclu que ce médicament est responsable de la toxicité hémolytique.

Les mots clés :

Leishmaniose, Glucantime®, la membrane de la cellule, globules rouges, potassium, l'hémoglobine, la toxicité hémolytique.

ملخص :

فيما يتعلق بالأمراض الجلدية المتكررة جدًا في الجزائر ، نجد أمراض الليشمانيات التي تسببها طفيليات سوطية من جنس الليشمانيا. هذه مجموعة من الأمراض المنقولة بالنواقل وليست هامشية.

في الحالات الشائعة ، يعتبر مضادات الميغلويمين (Glucantime®) هو خط العلاج الأول لداء الليشمانيات. من ناحية أخرى ، يعتبر هذا الدواء أيضًا مصدر خطر على الإنسان ، لأنه يؤثر على غشاء الخلية الحيوانية ويسبب تحلل الأخيرة. في بحثنا ، اختبرنا هذا الجزيء على خلايا الدم الحمراء في المختبر ، لدراسة وتقييم التأثير السام لـ Glucantime® عن طريق تحديد الصوديوم والهيموجلوبين..

لذلك من خلال عملنا، استنادًا إلى الاختبارات المعملية لدراسة وتقييم التأثير السام لـ Glucantime® على نموذج خلية حيوانية عالمي وهو خلايا الدم الحمراء لموضوع سليم.

كلمات مفتاحية :

داء الليشمانيات ، Glucantime® ، غشاء الخلية ، خلايا الدم الحمراء ، الصوديوم ، التسمم الانحلالي ، الهيموغلوبين .

Abstract:

In terms of very frequent skin diseases in Algeria, we find leishmaniasis diseases which are caused by a flagellated protozoan of the genus *leishmania*. These are a group of vector-borne diseases and are not marginal

In common cases, Meglumine Antimoiniate (Glucantime®) is considered the first-line treatment for leishmaniasis. On the other hand, this drug is also a source of danger for humans, because it affects the membrane of the animal cell and causes lysis of the latter.

In our research we tested this molecule on red blood cells in vitro, to study and evaluate the toxic effect of Glucantime® by the determination of sodium and hemoglobin. then we concluded that this drug is responsible for the hemolytic toxicity.

Keys words :

Leishmaniasis, Glucantime®, the membrane of the animal cell ,red blood cells, sodium, hemoglobin, hemolytic toxicity.