

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAÏD
FACULTÉ DE MÉDECINE
DR. B. BENZERDJEB - TLEMCEM



وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد
كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN DES ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

**Epidémiologie et diagnostic du laboratoire des leishmanioses
au CHU de Tlemcen**

Présenté par :

Mme. MOUMNI HADJER

Soutenu le : 10/06/2015.

Le Jury

Président :

Pr. O. BOUDGHENE STAMBOULI

Membres :

Dr. N. BRIKCI. NIGASSA

Dr. F. BEGHDAI

Dr. I. SEBBAGH

Encadreur :

Dr. D. BENYAHIA

Remerciement

D'abord je remercie **Dieu** le tout puissant de m'avoir donné courage, santé, souffle et patience pour accomplir ce travail.

A mon Maître et l'encadreur de la thèse : Docteur BENYAHIA. D.

La chance que vous me avez donnée en me confiant ce travail m'a permis de découvrir une femme dont la simplicité, l'humilité, la gentillesse et la disponibilité forcent l'admiration. Vos qualités professionnelles, votre ouverture, vos connaissances et surtout vos multiples occupations font de vous un maître qui attire la sympathie et le respect de ceux qui ont le privilège de vous côtoyer.

Aux membres du jury :

A mon Maître et Président du jury : Monsieur le Professeur O. BOUDGHENE STAMBOULI

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.

A Madame le Docteur BRIKCI. NIGASSA et Madame le Docteur BEGHDADI. F :

Vous me faites un grand honneur en acceptant de faire partie de mes jurys de thèse. Soyez assurée de ma profonde gratitude et respectueuse considération pour le soutien important apporté à ce travail.

A notre maître le Docteur SEBBAGH. I ;

Qui me fait le plaisir de participer à mon jury. Sincères remerciements.

Au terme de ce travail nous ne pouvons pas manquer d'adresser nos sincères remerciements :

Aux Monsieur le Docteur EL AHMER. Z, Mademoiselle le docteur CHAIF. S et Monsieur le docteur BENMANSOUR.M. Pour toute l'aide qu'ils ont m'apporté lors de la réalisation de ce travail.

A tout le personnel du service de parasitologie mycologie médicales au CHU Tlemcen, maîtres, résidents, biologistes.....ayant eu la gentillesse de consacrer de leur temps pour répondre à nos questions. Merci.

Dédicaces

A Mes chers parents

Pour leur amour, leur soutien et leur lumière. Merci pour tout, ce que vous m'avez donné pour contribuer à notre épanouissement et construire mon avenir.

Je n'ignore rien des sacrifices que vous m'avez assuré par la grâce de Dieu une bonne éducation. Vous m'avez inculqué l'amour du prochain, le sens du travail, de la responsabilité, et du goût de la réussite.

C'est pourquoi aujourd'hui ce travail vous revient dans toute son intégralité. Je vous dédie mes très chers parents ce modeste présent, fruit de vos prières, de votre soutien sans faille, de vos sacrifices et de vos encouragements.

A mon cher mari.....

Pour vos prières et encouragement sans cesse. Merci pour leur amour et leur soutien. Qu'ALLAH vous accorde longue vie et bonne Santé. Veuillez agréer mon éternelle reconnaissance et ma profonde admiration.

A mes chers frères et sœurs et particulièrement ma sœur « ASMA »

Entre nous les mots n'ont pas leur place. Je souhaite simplement que Dieu nous accorde longue vie et une bonne santé pour que nous puissions cheminer ensemble sur la route du destin avec amour, respect mutuel, solidarité comme nous l'ont enseignés nos parents.

A toute ma famille et la famille MEDIANI

A mes amies Nora, Rima, Safia, Sara, Somia, Salma, Bakhta, Salima, et Kaltoum.

Tous mes camarades de promotion, en souvenir des bons moments passés ensemble.

A tous mes enseignants au cours de notre cursus. Profonde Gratitude.

A tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

A toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de notre travail trouve ici l'expression de notre profonde sympathie.

Sommaire

Liste des tableaux.....	
Listes des figures.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction	
Partie théorique.....	
1. Définition.....	3
2. Historique.....	3
3. Epidémiologie.....	4
3.1.L'agent pathogène.....	4
3.1.1. La classification.....	4
3.1.2. La morphologie du parasite.....	6
3.1.2.1. Le stade promastigote.....	6
3.1.2.2.Le stade amastigote.....	6
3.2.Le vecteur.....	7
3.3.Les réservoirs.....	8
3.4.Le cycle évolutif.....	9
3.5.La répartition géographique.....	11
4. Relation hôte-parasite.....	14
5. La clinique.....	14
5.1.La leishmaniose viscérale	15
5.1.1. La leishmaniose viscérale infantile (LVI).....	15
5.1.2. La leishmaniose viscérale de l'adulte immunocompétent.....	16
5.1.3. La leishmaniose viscérale de l'adulte immunodéprimé.....	16
5.2. La leishmaniose cutanée.....	17
5.2.1. La leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ).....	17
5.2.2. La leishmaniose cutanée du Nord (LCN).....	18
6. Le diagnostic des leishmanioses.....	20
6.1.Diagnostic de la leishmaniose viscérale.....	20

6.1.1. Arguments indirects de présomption.....	20
6.1.1.1. Épidémiologiques.....	20
6.1.1.2. Cliniques.....	20
6.1.1.3. Biologiques.....	20
6.1.2. Arguments directs de certitude	27
6.1.2.1. Le prélèvement.....	27
6.1.2.2. L'examen direct.....	28
6.1.2.3. La culture.....	28
6.1.2.4. La leucocytoconcentration (LCC).....	28
6.1.2.5. L'inoculation à l'animal.....	30
6.1.2.6. La biologie moléculaire.....	30
6.1.2.7. La recherche d'antigénurie.....	31
6.2. Diagnostic de la leishmaniose cutanée.....	31
6.2.1. Arguments indirects de présomption.....	31
6.2.1.1. Épidémiologiques.....	31
6.2.1.2. Cliniques.....	31
6.2.1.3. Tests immunologiques.....	31
6.2.2. Arguments directs de certitude.....	31
6.2.2.1. Le prélèvement.....	31
6.2.2.2. L'examen direct.....	32
6.2.2.3. La culture.....	32
6.2.2.4. L'inoculation à l'animal.....	32
6.2.2.5. Diagnostic moléculaire.....	32
6.3. Diagnostic différentiel.....	32
7. Traitement	32

Partie pratique.....	
1. Objectifs.....	37
1.1. Objectif principal.....	37
1.2. Objectifs secondaires.....	37
2. Matériels et méthodes	37
2.1. Matériels.....	37
2.1.1. Matériels biologiques	37
2.1.2. Matériel du laboratoire	38

2.1.2.1. Equipements.....	38
2.1.2.2. Réactifs	38
2.1.3. Exploration des données et analyse statistique.....	39
2.2. Méthodes	39
2.2.1. Type d'étude.....	39
2.2.2. Population d'étude.....	39
2.2.3. Déroulement d'étude.....	39
2.2.4. Démarche diagnostic.....	40
3. Résultats et interprétation.....	50
3.1. La leishmaniose cutanée	50
3.1.1. La fréquence de la LC	50
3.1.2. Description de la population (n= 12).....	50
3.2. La leishmaniose viscérale	61
3.2.1. La fréquence de la LV	61
3.2.2. Description des deux cas (n=02).....	61
4. Discussion.....	64
Conclusion.....	67
ANNEXE.....	
Références bibliographiques.....	

Liste Des Tableaux

Tableau I : Classification taxonomique des leishmanies selon les caractères isoenzymatiques.....	5
Tableau II : Traitement des leishmanioses.....	33-34
Tableau III : Nombre des prélèvements collectés dans la période s'étalant de septembre 2014 à avril 2015.....	37
Tableau IV : Les données clinique et biologique du patient A.M.....	62
Tableau V : Résultats de diagnostic parasitologique du patient A.M.....	62
Tableau VI : Résultats de diagnostic parasitologique du patient S.D.....	63

Liste Des Figures

Figure N° 01: Forme promastigote de <i>Leishmania sp.</i> (M.G.G *1000).....	6
Figure N° 02 : Forme amastigote de <i>Leishmania sp</i> sur un frottis de moelle.....	7
Figure N° 03 : Femelle du phlébotome gorgée du repas sanguin.....	8
Figure N° 04 : Cycle évolutif de <i>Leishmania sp</i>	10
Figure N° 05 : Répartition mondiale des zones d'endémies des leishmanioses cutanées, muco-cutanées et viscérales.....	12
Figure N° 07: Cas de leishmanioses cutanées en Algérie de 2000 à 2004....]	13
Figure N° 06: Cas de leishmanioses viscérales en Algérie années 2000 à 2004.....	13
Figure N° 08 : Aspect clinique d'un enfant atteint de la LV.....	16
Figure N°09: Aspect clinique de la LCZ.....	19
Figure N°10 : Aspect clinique de la LCN.....	19
Figure N° 11: Résultats de diagnostic de leishmaniose par le western blot.....	25
Figure N°12: Aspect d'une lésion ulcéro-croûteuse avant la réalisation du prélèvement.....	40
Figure N°13 : Aspect d'une lésion ulcéro-croûteuse après le prélèvement.....	41
Figure N° 14: Les étapes de coloration des frottis par le Giemsa.....	43
Figure N°15 : L'étape de lecture des frottis colorés.....	44
Figure N°16 : Formes amastigotes intramacrophagiques de <i>Leishmania infantum</i>	45
Figure N°17 : Forme amastigote libre de <i>Leishmania major</i> MON 25.....	45
Figure N°18 : les composants du test IT LEISH.....	46
Figure N°19 : Les étapes de la sérologie leishmanienne par le test IT LEISH.....	48
Figure N°20 : Les résultats de la sérologie leishmanienne (+) et (+).	49
Figure N°21: La fréquence de la leishmaniose cutanée.....	50
Figure N°22 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.....	51
Figure N°23 : Répartition des patients selon le sexe.....	52
Figure N°24: Répartition des patients selon la résidence.....	52

Figure N°25 : Répartition des patients selon leur origine.....	53
Figure N°26 : La répartition des malades selon le séjour dans une zone endémique pendant les deux dernières années.....	54
Figure N°27: Répartition des patients selon le nombre des lésions cutanées.....	54
Figure N°28 : Répartition des patients selon le siège des lésions.....	55
Figure N°29: Répartition des patients selon la durée d'apparition des lésions.....	56
Figure N°30 : Répartition des patients selon l'aspect des lésions.....	56
Figure N°31 : Répartition des malades selon la prise de traitement.....	57
Figure N° 32 : Répartition des patients selon le type du traitement pris.....	58
Figure N°33 : la lésion ulcéro-croûteuse de la jambe droite de la malade.....	59
Figure N° 34 : Formes amastigotes de lésion inflammatoire de la cuisse.....	60
Figure N° 35 : Evolution des trois lésions de : jambe gauche, jambe droite et cuisse droite (au sens de flèche).....	60
Figure N°36 : La fréquence de la LV.....	61
Figure N° 37:Résultats de l'ED du patient A.M	63

Liste Des Abréviations

LC : Leishmaniose cutanée

LCM : Leishmaniose cutanéomuqueuse

LCN (LCS) : Leishmaniose cutanée du nord ou (sporadique)

LCZ : Leishmaniose cutanée zoonotique

LPG : Lipophosphoglycane

LV : Leishmaniose viscérale

LVI : Leishmaniose viscérale infantile

PMO : Ponction de la moelle osseuse

INTRODUCTION :

Les leishmanioses sont des parasitoses du système réticulo-endothelial dont l'agent pathogène est un protozoaire flagellé du genre *Leishmania*. Il s'agit d'une anthroponose ou une anthrozoonose, transmise par un moucheron hématophage, le phlébotome. Ces maladies incluent des formes viscérales (LV), des formes cutanées localisées (LCL), cutanées diffuses (LCD) et des formes cutanéomuqueuses (LCM). Cette multiplicité de tableaux cliniques résulte à la fois d'un large éventail d'espèces et de la variation de la réponse immunitaire de l'hôte infecté^[1].

Les leishmanioses sont endémiques dans les zones tropicales et subtropicales de 88 pays et quatre continents : Afrique du nord et de l'est, Amérique centrale et du Sud, Asie du sud et Europe du sud. Au total, 370 millions de personnes sont exposées au risque de la maladie dont 12 millions sont atteints, on compte 500 000 nouveaux cas par an de leishmaniose viscérale et Un million à 1 500 000 nouveaux cas par an pour la leishmaniose cutanée ^[2], un tiers seulement des nouveaux cas étant officiellement déclarés ^[1]. Six pays recensent 90% des cas de leishmaniose viscérale : l'Inde, le Bangladesh, le Népal, le Soudan, le Soudan du sud et le Brésil. Cette situation alarmante résulte de l'augmentation de la transmission vectorielle et du réservoir humain lié à l'infection au VIH ^[2].

Les leishmanioses se révèlent aujourd'hui beaucoup plus répandues qu'on ne le croyait. L'Algérie compte parmi les pays les plus touchés dans le monde. Deux formes cliniques viscérale et cutanée sévissent à l'état endémique. L'augmentation de leur incidence annuelle ainsi que leur extension à travers le territoire national, avec une coexistence des deux formes au niveau d'un même foyer, font de ces maladies un problème de santé publique.

Dans notre laboratoire, la conséquence directe de cette forte incidence s'est traduite par une demande accrue de l'analyse parasitologique de cette affection. Il est nécessaire de confirmer le diagnostic des leishmanioses par l'examen parasitologique à cause de la fréquence non négligeable des formes cliniques atypiques et la toxicité des traitements prescrits, sachant que l'examen parasitologique reste le diagnostic de certitude de ces maladies.

De plus, vu l'augmentation du nombre des cas diagnostiqués au niveau de notre service, nous a poussé à pratiquer une étude portant sur l'étude de la fréquence des leishmanioses dans notre région basée sur le diagnostic parasitologique. Ce travail représente la première étude effectuée au service de parasitologie mycologie médicales du CHU de Tlemcen.

L'objectif de la présente étude est de discuter le profil épidémiologique de ces maladies ainsi que leur diagnostic dans la région de Tlemcen.

PARTIE THEORIQUE

PARTIE PRATIQUE

1. Définition :

Les leishmanioses constituent un groupe de maladies infectieuses dues au parasitisme de l'homme et de divers mammifères par un protozoaire flagellé appartenant au genre *Leishmania*, transmis par un insecte vecteur le phlébotome. Elles comprennent des formes tégumentaires et une forme généralisée, la leishmaniose viscérale, qui correspond à la dissémination du parasite aux organes profonds^[3].

2. Historique :

- 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*.
- En 1904, Rogers décrit dans une culture in vitro de sang citraté des formes flagellées, probablement des promastigotes^[4].
- La première culture fut obtenue par Nicolle et Sicre en 1908.
- 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^[3].
- 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*^[4].

- Le cycle du parasite ainsi que sa répartition géographique furent étudiés de 1925 à 1928 par Alder, Théoder et Christopher.
- En 1974, Chance, Gardener et Peters reconnaissent 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 ^[5].

3. Epidémiologie :

3.1. Agent pathogène :

3.1.1. Classification :

- **Règne** : Protista (Heackel 1866)
- **Embranchement** : Sarcomastigophora (infantum et Balamuth 1963)
- **Classe** : Zoomastigophora (Calkins 1909)
- **Ordre** : Kinetoplastida (infantum 1963, Emend Vichekrman 1976)
- **Famille** : Trypanosomatidae (Dolffin 1901, Emend Grabben 1905)
- **Genre** : *Leishmania* (Ross 1903).
- **Sous genre** : - *Leishmania*
 - *Viannia*^[7].

Dans le genre *Leishmania*, on distingue deux sous genres définis par le site de développement du parasite chez le vecteur ; le sous genre *Leishmania*, caractérisé par un développement suprapylorique, à la jonction intestin moyen-intestin postérieur du vecteur et le sous genre *Viannia* par un développement péripylorique à n'importe quelle portion de l'intestin.

Cette classification repose sur des critères morphologiques. Cependant les sous divisions du sous genre *Leishmania* nécessitent un typage enzymatique ou moléculaire. En effet il est impossible de

différencier les leishmanies par leur morphologie, aussi bien au microscope optique qu'électronique. Grace au polymorphisme important exprimé chez le sous genre leishmania, l'électrophorèse des iso-enzymes constitue aujourd'hui la méthode la plus courante pour l'identification des souches de leishmania, et qui a permis de créer des complexes et ainsi des zymodèmes caractéristiques. Les complexes à tropisme viscéral sont : le complexe Leishmaniadonovani (*L. donovani*, *L. archibaldi*) et le complexe *L. infantum* (*L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*) [6].

Selon le tropisme des espèces, les leishmanies peuvent être distinguées en espèces à tropisme pour les organes profonds (espèces viscérotropes: *L. donovani* et *L. infantum*) et espèces à tropisme cutané (*L. major* et *L. tropica*). *L. braziliensis* présente un tropisme cutanéomuqueux [8].

Tableau I : Classification taxonomique des leishmanies selon les caractères isoenzymatiques (OMS, 1990).

Géographie	Complexe	Espèce
Nouveau monde	Sous-genre Leishmania	
	<i>L. mexicana</i>	<i>L. venezuelensis</i>
		<i>L. mexicana</i>
		<i>L. amazonensis</i>
	Sous-genre Vianna	
<i>L. braziliensis</i>	<i>L. braziliensis</i> *	
	<i>L. peruviana</i>	
<i>L. guyanensis</i>	<i>L. guyanensis</i>	
	<i>L. panamensis</i>	
Ancien monde	<i>L. donovani</i>	<i>L. donovani</i> **
		<i>L. infantum</i> **
	<i>L. major</i> <i>L. tropica</i> <i>L. aethiopica</i>	<i>L. major</i>
		<i>L. tropica</i> <i>L. aethiopica</i>

*Principale forme cutanéomuqueuse ; **forme viscérale .

[9]

3.1.2. MORPHOLOGIE DU PARASITE :

Les leishmanies sont des protozoaires flagellés, ils présentent au cours de leur cycle évolutif deux stades successifs distincts : le stade promastigote et le stade amastigote qui se multiplient tous les deux par division binaire.

3.1.2.1. Le **stade promastigote** :est un organisme allongé d'environ 20 à 25 μ m de longueur. Le noyau est approximativement central, le kinétoplaste se situe en position antérieure et le flagelle libre s'échappe à l'extrémité antérieure. C'est le stade que présente le parasite dans le tube digestif du phlébotome et en milieu culture (**Figure N° 01**).

3.1.2.2. Le **stade amastigote** :est un petit corpuscule ovalaire ou arrondi de 2 à 6 μ m de diamètre, présentant un noyau, un kinétoplaste juxta nucléaire 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 (**Figure N°02**).



Figure N° 01: Forme promastigote de *Leishmania sp.* (M.G.G *1000)

[1]

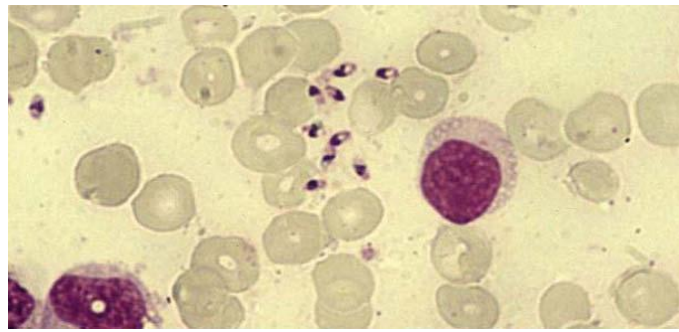


Figure N° 02 : Forme amastigote de *Leishmania sp* sur un frottis de moelle chez un enfant atteint de LV ^[10]

3.2.Vecteurs :

Les leishmanies sont des parasites transmis à l'homme par la pique des insectes vecteurs, les phlébotomes. Ces derniers sont des diptères nématocères appartenant à la famille des Psychodidae, la sous famille des Phlebotominae, le genre *Phlebotomus* dans l'ancien monde et le genre *Lutzomyia* dans le nouveau monde. Environ 700 espèces de phlébotomes sont retrouvés dont seulement une vingtaine est prouvée vectrice.

Le phlébotome est de petite taille (2 à 5 mm) possédant un corps grêle et allongé et des ailes dressées en V, il s'appelle aussi la mouche des sables. Il est velu de couleur jaune pâle d'aspect bossu avec de longes pattes, son vol est silencieux, sa pique est douloureuse mais ne laisse pas de trace. Ce sont des insectes à activité crépusculaire et nocturne dont le développement préimaginal (œuf, quatre stades larvaires et nymphe) se déroule dans la terre humide. Seule la femelle est hématophage et assure la transmission des leishmanies ^[3] (**figure N° 03**).

En Algérie existe trois espèces de phlébotomes qui sont : *Phlebotomus perniciosus* est le principal vecteur de la leishmaniose viscérale, *Phlebotomus papatasi* responsable de la transmission de la leishmaniose cutanée zoonotique et *perfliewide* la leishmaniose cutanée du nord, ces deux espèces sont très anthropophiles.



Figure N° 03 : Femelle du phlébotomegorgée du repas sanguin.

[22]

3.3.RESERVOIRS :

Les réservoirs naturels des Leishmanies sont des mammifères domestiques ou sauvages chez lesquels le parasite colonise les cellules du système des phagocytes mononuclées. L'homme peut dans certains complexes jouer un rôle de réservoir de parasite, constituant alors avec le vecteur un cycle anthroponotique.

En Algérie, à la suite de la notification du premier cas de leishmaniose canine à Alger par les frères Sargent en 1910, le chien est admis comme réservoir de la leishmaniose viscérale.

Concernant la LC, le chien est admis comme réservoir de la leishmaniose cutanée du Nord due à *Leishmania infantum*, alors que la LCZ, à *Leishmania major* zymoforme Mon 25 admet comme réservoir deux rongeurs sauvages, *Psammomys obesus* et *Meriones shawi*^[3].

3.4. Cycle évolutif:

Le parasite *Leishmania* a un cycle de vie dimorphique qui nécessite deux hôtes, le vecteur et le mammifère. (**Figure N° 04**)

Chez le vecteur : le parasite est entraîné avec le repas sanguin jusque dans la partie postérieure de l'estomac de l'insecte où il se transforme en promastigote. Dès le premier jour, on le retrouve dans l'intestin moyen jusqu'au pylore chez le sous genre *Leishmania* et occupant déjà la totalité du tube digestif (y compris l'intestin postérieur) chez le sous genre *Viannia*. A partir du 2^{ème} jour, le parasite ayant résisté aux enzymes digestifs de l'insecte entame une migration vers la partie antérieure. On le retrouve alors dans la partie moyenne de l'estomac.

Du 3^{ème} au 5^{ème} jour, la multiplication sous forme promastigote très rapide dans la partie antérieure de l'estomac. Il faut attendre le 9^{ème} et 10^{ème} jour après le repas infectant pour voir apparaître, en grand nombre, des formes promastigotes dans le pharynx et le proventricule qui communiquent avec la trompe. Lorsque les promastigotes arrivent dans les pièces buccales, elles vont être injectées chez l'hôte après régurgitation.

Chez le mammifère : Une fois introduit dans la circulation, les promastigotes vont être repris par un macrophage, histiocytes, monocytes de différents organes où ils se multiplieront sous formes amastigotes. La destruction des macrophages bourrés de parasites provoque leur dissémination dans le sang et la lymphe. Les amastigotes seront soit phagocytés par de nouvelles cellules réticulo-endothéliales, soit repris par l'hôte invertébré, le phlébotome, lors d'un nouveau repas sanguin^[12].

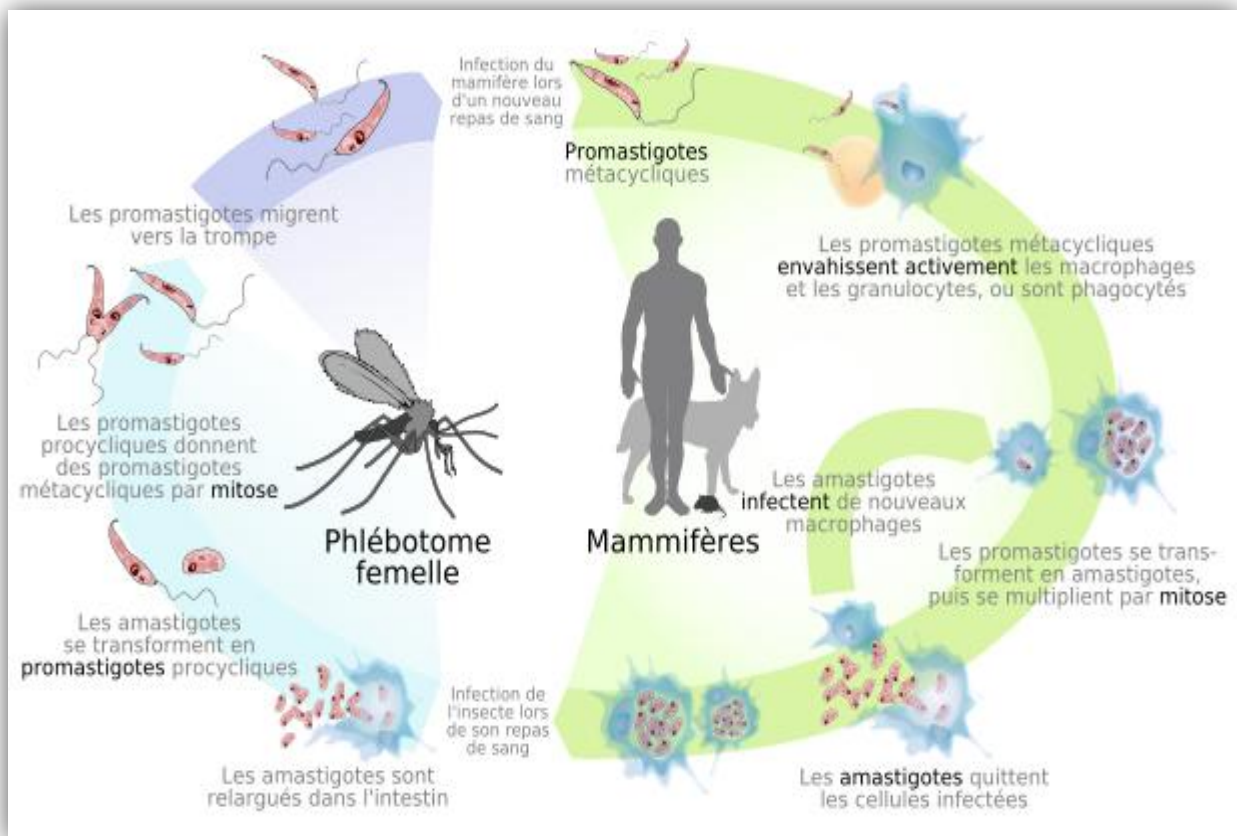


Figure N° 04 : Cycle évolutif de *Leishmania* sp.

[13]

3.5. Répartition géographique :

La distribution géographique de la leishmaniose est complexe en raison de la diversité des hôtes intervenant dans les complexes pathogènes. Les différentes formes cliniques viscérale, cutanée et cutanéomuqueuse, ont des territoires dont la délimitation dépend de facteurs intrinsèques liés aux espèces de parasite, de phlébotomes vecteurs et de mammifères réservoirs, mais également de facteurs extrinsèques environnementaux.

La LV s'observe dans les régions intertropicales, subtropicales et tempérées de l'ancien et du nouveau monde, elle existe dans 47 pays et elle est localisée dans des grands foyers historiques de l'est à l'ouest, en Chine, en Inde, en Asie centrale, en Afrique de l'est, au bassin méditerranéen et au Brésil. L'espèce leishmanienne anthroponotique *Leishmania donovani* est localisée en Chine, en Inde et en Afrique de l'est, alors que l'espèce zoonotique *Leishmania infantum* s'étend de la Chine au Brésil.

La LC de l'ancien monde est dû aux deux espèces de *Leishmania*, *Leishmania major* et *Leishmania tropica*.

La *Leishmania major*, espèce zoonotique, dans les steppes per arides, s'étend sur de vastes territoires, Afrique occidentale sub-saharienne, Afrique du nord, Afrique de l'est, Proche et moyen-orient et Asie centrale. L'espèce anthroponotique, *Leishmania tropica*, est présente dans le proche et moyen-orient, au Maroc et à la Tunisie. Les autres espèces de l'ancien monde ont une aire de distribution limitée, *Leishmania aethiopica* en Ethiopie et au Kenya, *Leishmania arabica* en Arabie saoudite et *Leishmania killicki* en Tunisie (Figure N° 05).

En Algérie : La LV se répartit sur toute la partie nord du pays au niveau des étages bioclimatiques humides et subhumides. Bien que sa fréquence ainsi que celle de la leishmaniose cutanée sporadique (LCS), varie d'une région à l'autre. Aussi elle peut survenir dans les régions arides et semi-arides, foyers de la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ)^[3]. (Figure N° 06)

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.

La LCZ est la forme la plus rencontrée en Algérie. Elle correspond au clou de Biskra ou est observée à l'état endémo-épidémique dans les régions arides et semi-arides, principalement au niveau de la frange nord du Sahara^[6]. Les foyers anciennement connus sont ceux de Biskra à l'Est et Abadla à l'Ouest. Les nouveaux foyers tels ceux de M'sila, Bousaada, 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.

Dans la Wilaya de Ghardaïa, à côté de *Leishmania major*, une nouvelle espèce, *Leishmania killicki* appartenant au complexe *tropica*, a été isolée au cours de l'année 2005 et identifiée comme *L.killicki Mon 301*^[14].

La LCS du Nord qui s'observe de façon permanente durant toute l'année, a une aire de distribution limitée au Nord algérien, s'inscrit dans la zone d'endémie de la LV, Kabylie, Nord constantinois, régions de Ténès et quelques cas sporadiques au niveau de tout l'Est algérien et à Tlemcen. Les foyers les plus touchés par cette forme sont, Tizi-Ouzou, Ténès, Bordj menaïl, Bouira et Alger^[6].(Figure N° 07)



Figure N° 05 : Répartition mondiale des zones d'endémies des leishmanioses cutanées, muco-cutanées et viscérales.

[3]

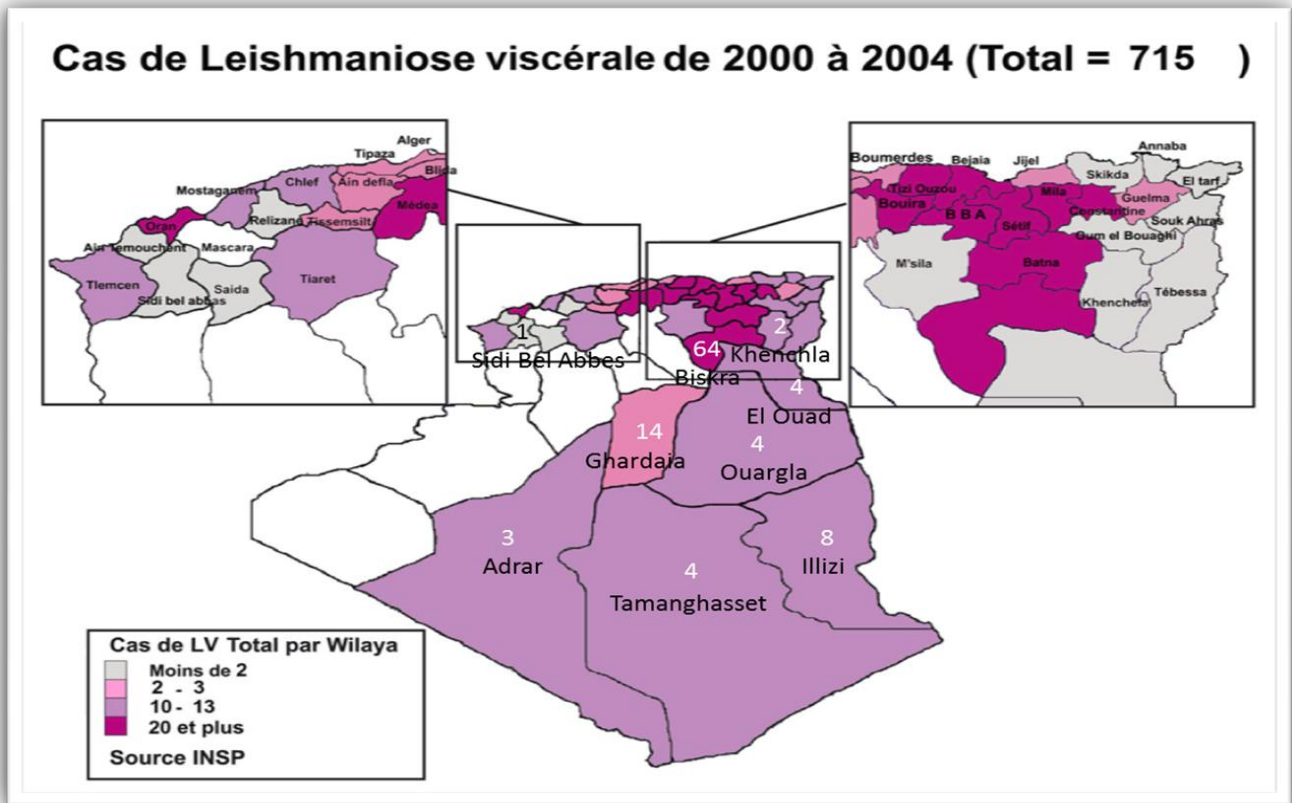


Figure N° 06: Cas de leishmanioses viscérales en Algérie années 2000 à 2004. [6]

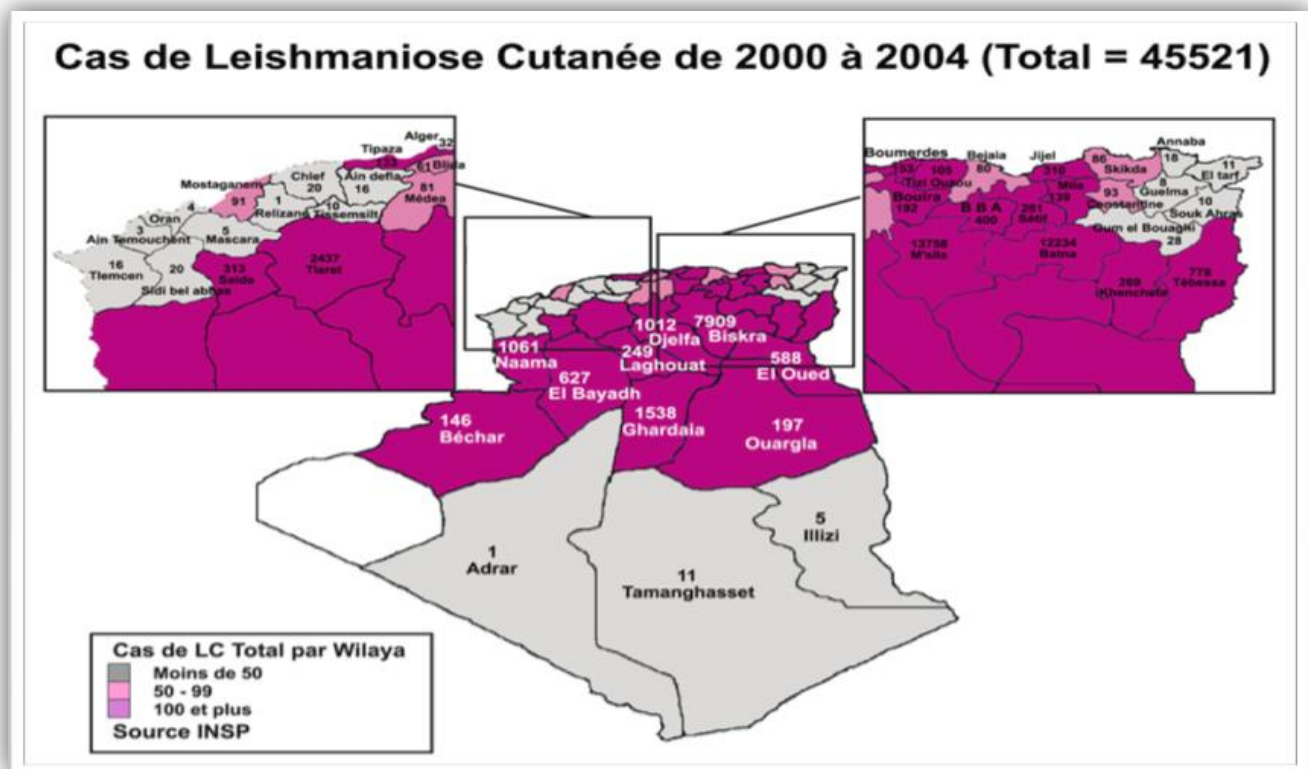


Figure N° 07: Cas de leishmanioses cutanées en Algérie de 2000 à 2004 [6].

4. Relation hôte- parasite :

Les promastigotes métacycliques inoculés dans la peau au moment de la piqure infectante sont phagocytés par des cellules hôtes (macrophages, monocytes, neutrophiles, cellules dendritiques). Le macrophage constitue la porte d'entrée du parasite commune à l'ensemble des leishmanioses. Les promastigotes pénètrent passivement dans les macrophages sans déclencher initialement les réponses de l'hôte. L'interaction des leishmanies et des cellules repose sur la reconnaissance, à la face externe du parasite, de molécules de liaison par divers récepteurs présents sur la membrane cellulaire (récepteurs de type lectine, récepteurs de fibronectine, de l'intégrine, du CR1 et du CR3). Cette interaction pourrait jouer un rôle important dans la tolérance initiale. Parmi les molécules de liaison, le lipophosphoglycane (LPG) apparaît de plus en plus comme la molécule clé de la virulence des *Leishmania*^[8].

A l'intérieur des cellules macrophagiques, les amastigotes sont localisés dans une vacuole parasitophore de PH très acide, dans laquelle ils survient à la digestion par les hydrolases lysosomales. Le parasitisme entraîne dans le macrophage une baisse des capacités de production de dérivés oxygénés et nitrogénés, complétant ainsi les mécanismes d'échappement des *Leishmania* à la digestion cellulaire.

Après multiplication intracellulaire et éclatement de la cellule hôte, les amastigotes infectent localement de nouvelles cellules phagocytaires et éventuellement migrent vers d'autres tissus. Chez l'immunocompétent, l'infection par *Leishmania* entraîne néanmoins l'activation parallèle de l'immunité innée et acquise. La mise en place efficace d'une réponse Th-1 active les macrophages et permet l'élimination des parasites. L'inflammation ainsi que l'activation du macrophage et de l'immunité cellulaire régissent donc la prolifération parasitaire et l'expression de la maladie après plusieurs semaines, ou quelques mois d'incubation. La persistance du parasite est probablement prolongée, même après résolution clinique spontanée ou liée au traitement. Cette quiescence intracellulaire explique la possibilité de réactivations tardives, en particulier en cas de déficit immunitaire acquis^{[8] [15]}.

5. La clinique :

Les manifestations d'infection *Leishmania* peuvent varier d'asymptomatique à la maladie cliniquement patente qui peut rester localisée à la peau ou disséminer aux muqueuses orales et respiratoires supérieures respiratoires ou partout dans le système réticulo-endothélial. L'expression clinique dépend à la fois du tropisme des espèces de *Leishmania* et de status immunitaire de l'hôte, ainsi que des modalités de sa réponse immunitaire^[15].

5.1. La leishmaniose viscérale :

La leishmaniose viscérale (LV) résulte d'une atteinte systémique généralisée de la lignée des phagocytes mononuclées par les parasites du genre *Leishmania*. Cependant, avec des augmentations du nombre des individus immunodéprimés, l'incidence de LV chez les adultes a monté^[16].

5.1.1. La leishmaniose viscérale infantile (LVI):

La LV infantile prédomine dans le pourtour du bassin méditerranéen. Elle touche de préférence le jeune enfant dans les tranches d'âge situées entre 6 mois et 4 ans. L'OMS déclare en 1990 que 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 cutanéomuqueuse et splénomégalie stade IV. (**Figure N° 08**)

La fièvre est le signe le plus précoce le plus courant et le plus constant. Elle est intermittente, irrégulière, élevée (40 à 41°C).

La pâleur est un signe d'anémie, est tout particulièrement évidente sur peau claire, dont la teinte cireuse attire l'œil^[8].

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 gites 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^[8].



Figure N° 08 : Aspect clinique d'un enfant atteint de la LV.
[1]

5.1.2. 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. Des signes cutanés peuvent être prédominants, d'installation brutale rendant le diagnostic difficile).

En Algérie, Bellazoug et al ont recensé 7 cas entre 1975 et 1985 et Belkaid et al 1997, 18 cas entre 1985 et 1997 en dehors du sida^[3].

5.1.3. 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 dermatotropes ^{[15] [11] [17] [18]}.

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-leishmaniens 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 ^[15].

LaLV survenant chez l'adulte immunodéprimé non VIH ne présente pas de caractéristiques cliniques particulières. Toutefois, le sérodiagnostic est ici plus constamment positif^[17]. 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 affection ou accompagner une greffe d'organe, sont également responsables de LV.

5.2. La leishmaniose cutanée :

En général, les caractéristiques cliniques de la leishmaniose cutanée ne sont pas uniformes dans toutes les régions ni même à l'intérieur d'une région donnée, par suite de différences touchant à l'espèce parasitaire ou aux types zoonotiques en cause.

En Algérie, la leishmaniose cutanée comprend deux entités nosoépidémiologiques, la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ), due à *Leishmania major* MON-25, largement répandue au centre et au sud du pays, qui regroupe à elle seule la quasi-totalité des cas des LC algériens et la leishmaniose cutanée sporadique (LCS) du Nord, due à *Leishmania infantum* avec un variant enzymatique dermatrope prédominant, le zymodème MON-24^[19].

5.2.1. La leishmaniose cutanée zoonotique

Elle est dite leishmaniose cutanée humide des zones rurales. Après une incubation courte, apparaît la lésion caractéristique : ulcération cutanée, à bords surélevés, avec une croûte centrale adhérente, indolore, de taille variable (habituellement de 1 à 4 cm de diamètre), d'évolution chronique. A côté de cette forme, la plus fréquente, s'observent les formes ulcéro-végétantes, verruqueuses et plus rarement lupoides^{[20][21]}. Les lésions peuvent se rencontrer sur une quelconque partie de la surface du corps, mais siègent en général sur les parties découvertes exposées au site de piqûre du phlébotome. Les formes cliniques multiples diffèrent d'un sujet à l'autre, d'une lésion à l'autre chez un même individu, selon la localisation sur le corps, d'une espèce à l'autre, d'un biotope à l'autre^[22].

Les lésions évoluent spontanément vers la guérison en 3 à 5 mois au prix d'importantes cicatrices disgracieuses ou invalidantes^[23].

La durée d'évolution de la leishmaniose cutanée zoonotique est habituellement courte et l'agent pathogène est *Leishmania major*.(Figure N° 09)

5.2.2. La leishmaniose cutanée du Nord (LCN) :

Elle s'oppose à la leishmaniose cutanée zoonotique en tout point de vue. Sur le plan clinique, elle se présente sous forme d'une petite lésion unique, siégeant au niveau de la face, souvent papuleuse, parfois infiltrée très inflammatoire, rarement ulcérée et sans croûte épaisse. Sa durée d'incubation est longue tout comme sa durée d'évolution qui est lente, allant de 1 à 2 ans vers une guérison spontanée avec une cicatrice, nécessitant souvent un traitement pour accélérer la cicatrisation^{[20][23]}.(Figure N°10)

Le diagnostic n'est pas toujours évoqué d'emblée. Il l'est devant la persistance de la lésion malgré différents traitements à base d'antiseptiques, antibiotiques, voire anti-inflammatoires.

A côté de ces deux entités nosoépidémiologiques différentes, une troisième forme a été récemment identifiée dans la wilaya de Ghardaïa, la forme cutanée anthroponotique due à : *Leishmania killicki* Mon 301^[6].

Les leishmanioses tégumentaires sont beaucoup moins fréquemment rencontrées en association avec l'infection par le VIH que les LV^{[17][36]}.



Figure N°09: Aspect clinique de la LCZ

[22]



Figure N°10 : Aspect clinique de la LCN

[22]

6. Diagnostic des leishmanioses:

Le diagnostic des leishmanioses, orienté par le tableau clinique et des notions épidémiologiques, conforté par des données biologiques non spécifiques ou sérologiques, repose sur des arguments parasitologiques complétés, plus récemment, par ceux des techniques de biologie moléculaire.

6.1. Diagnostic de la leishmaniose viscérale :

Parmi les leishmanioses, seule la forme viscérale est généralisée aux organes hématopoïétiques et voit les parasites se multiplier dans le sang et la moelle.

Le diagnostic est évoqué à partir d'arguments de présomption et de certitude.

6.1.1. Arguments indirects de présomption :

6.1.1.1. Épidémiologiques : l'origine géographique du malade et la notion de séjour dans des zones endémiques sont à prendre en considération par un interrogatoire soigneux, tout comme les notions éventuelles d'immunodépression, de coinfection avec le VIH ou de toxicomanie

6.1.1.2 Cliniques : associés à une triade classique : fièvre folle, splénomégalie et pâleur cutanéomuqueuse.

6.1.1.3. Biologiques :

6.1.1.3.1. Tests hémato-biochimiques :

Le tableau biologique associe une pancytopenie, un syndrome inflammatoire et une dysprotéinémie.

-L'anémie est extrêmement fréquente. Elle est normochrome, normocytaire et arégénérative, d'abord modérée puis s'aggrave progressivement au cours de l'évolution, pour atteindre dans les cas extrêmes des taux d'hémoglobine inférieurs à 4 g/dl^[24].

-La leucopénie est régulièrement observée, avec souvent moins de 2 000 leucocytes/mm³, et une neutropénie parfois importante voire une véritable agranulocytose aiguë, favorisant le développement d'infections intercurrentes. Les nombres de lymphocytes et de monocytes sont cependant normaux ou légèrement augmentés.

-La thrombopénie reste longtemps modérée. En fin d'évolution de la maladie, elle devient majeure et s'associe parfois à une altération dans la synthèse des facteurs de coagulation par le foie, ce qui provoque des hémorragies pouvant être graves, voire mortelles.

-Le syndrome inflammatoire est également marqué, la vitesse de sédimentation fortement élevée atteignant en général 50 à 100 mm la première heure, et la CRP très augmentée aussi.

-La protidémie totale est très variable, elle peut être normale, ou abaissée ; ou plutôt élevée surtout chez l'adulte. L'électrophorèse des protides est en revanche très perturbée de façon quasiment constante. Elle met en évidence une hypoalbuminémie avec une hypergammaglobulinémie polyclonale touchant surtout les IgG^[24].

6.1.1.3.2. Tests immunologiques :

La LV s'accompagne d'une réponse immunitaire humorale, avec apparition de titres élevés d'anticorps circulants qui peuvent toutefois faire défaut en cas d'immunodépression. Les différentes techniques sérologiques utilisées présentent une très bonne sensibilité et spécificité pour le diagnostic des leishmanioses viscérales. La mise en évidence des anticorps circulants se fait par les tests sérologiques classiques comme: l'immunofluorescence indirecte (IFI), l'ELISA et l'HAI^[24].

- **Immunochromatographique** : se fait par le test IT LEISH et cette technique sera expliquée ultérieurement dans la partie pratique.
- **Immunofluorescence indirecte** :

C'est la technique la plus éprouvée dans le diagnostic de LV, elle peut être utilisée seule ou couplée avec une autre méthode sérologique.

L'IFI utilise un antigène figuré qui constitue de promastigotes de *Leishmania infantum* et le conjugué une antiglobuline polyclonale. Son principe consiste à mettre en présence un antigène figuré avec des dilutions successives de sérum. La fixation des anticorps spécifiques sur l'antigène figuré correspondant forme le complexe antigène – anticorps révélé par l'adjonction d'anti-immunoglobuline marquée à l'isothiocyanate de fluoroscéine. La présence d'un liseré.

Mode opératoire :

-Les lames sorties du congélateur sont séchées sous ventilation puis fixées dans un bain d'acétone pendant 10min.

-On effectue des dilutions de sérum dans du tampon PBS pH 7,2 dans des tubes de Khan au 1/20, 1/40 et 1/80. Si c'est positif, on poursuit les dilutions.

-On dépose une goutte de chaque dilution par spot et on incube en chambre humide à 37°C pendant 30 min.

-Deux lavages en tampon phosphate de 5 min chacun sont effectués.

-On ajoute une goutte par spot d'anti-immunoglobuline marquée diluée au 1/30 dans du PBS pH 7,2 et on incube en chambre humide à 37°C pendant 30 min.

-Deux lavages en tampon phosphate de 5 min chacun.

-Enfin la contre coloration au bleu d'Evans au 1/10.000, 30 min à 37°C en chambre humide.

-Les deux derniers lavages sont suivis par le montage avec de la glycérine tamponnée (9 volume de glycérine et un volume de tampon PBS pH 7,2). On recouvre d'une lamelle et on fait la lecture au microscope à ultra-violet.

-Une réaction positive s'exprime par un liseré vert fluorescent autour de toute la forme promastigote, flagelle compris. Une fluorescence limitée au noyau correspond soit à une réaction croisée dans le cadre d'une connectivité soit à un portage asymptomatique lié à la présence d'anticorps anti 14 et/ou 18 Kd en immunoempreinte. Dans les conditions opératoires du laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur d'Algérie, la limite de spécificité du test correspond à la dilution 1/80. Il y a des interférences sérologiques (faux positif) chez les sujets atteints de paludisme ou de trypanosomose^{[25][26]}.

-Une réaction négative, la leishmanie est rouge.

Chaque série de malade est traitée en parallèle avec un témoin positif, un témoin négatif et un témoin réactif.

L'IFI est de plus en plus délaissée pour la méthode Elisa qui a pris une place importante comme une technique de diagnostic quotidien.

- **Hémagglutination indirecte :**

Le sérum du patient est mis en contact avec des hématies recouvertes d'antigènes. Le test est pratiqué sur des plaques de microtitration, le sérum dilué dans un tampon tris à pH 8,0 et la lecture se fait après trois d'incubation à la température du laboratoire. La positivité se manifeste par l'agglutination des hématies (ou hémagglutination). Au contraire, la négativité provoque la chute des hématies dans le fond des cupules, formant un « bouton ». Le seuil de positivité est de 1/32.

Pour le diagnostic de LV, actuellement, on utilise un kit commercial (Cellognost Behring). Il s'agit d'une préparation antigénique lyophilisée (érythrocytes sensibilisés avec un antigène soluble de *Leishmania donovani*)^[26].

Ce test possède une bonne sensibilité et une reproductibilité satisfaisante. Cependant, sa faible spécificité impose la confirmation du diagnostic par un laboratoire de référence pratiquant l'IFI.

- **Immunoenzymatique /ELISA :**

C'est un test de diagnostic rapide et sensible pour la LV, on utilisant l'antigène soluble spécifique des leishmanies appartenant au complexe *Leishmania donovani*, le rK39. Elle présente une sensibilité et une spécificité de 99 % pour les patients immunocompétents avec une LV. Chez les patients VIH positif, le rK39-ELISA a montré une sensibilité plus élevée (82 %) que l'IFI (54 %). Dans cette technique, il y a peu ou pas de réactions croisées avec d'autres maladies^{[27][24]}.

La technique ELISA consiste à fixer des antigènes solubles sur un support en polystyrène (plaques de microtitration). Puis le sérum est mis en contact avec ces antigènes. Une fixation antigène-anticorps est révélée par addition d'un conjugué anti-immunoglobuline couplé à la peroxydase et à un chromogène (par exemple l'orthophénylènediamine) et de l'eau oxygénée.

La lecture s'effectue au spectrophotomètre à 492 nm. Cette technique a l'avantage d'être automatisable et peut être répétée (avec un sérum précédent) pour le suivi post-thérapeutique, mais elle nécessite un matériel de lecture adapté ; ne facilite pas leur utilisation dans tous les laboratoires^[25].

Des approches nouvelles dans les techniques ELISA sont utilisées à la fois pour le diagnostic et l'appréciation du stade évolutif de la maladie, mettant en évidence les IgE anti-leishmaniens qui représentent un facteur pronostic. Ces derniers posent le diagnostic dans 100% des cas de leishmaniose viscérale. Leur disparition rapide après traitement, est un signe de bon pronostic^[20].

Le Dot-ELISA c'est un parmi plusieurs types d'ELISA qui peut être réalisé sur sérum ou sur un volume de sang précis. Le sang est collecté sur des bandes de papier absorbant approprié. L'échantillon est élué et testé à une seule dilution déterminée auparavant pour donner une spécificité et une sensibilité acceptables. Cette technique peut être utilisée pour des enquêtes séro-épidémiologiques dans les conditions du terrain^[3].

Immunoempreinte ou Western-Blot :

Le western-blot est une technique d'immunoempreinte, introduite comme technique de diagnostic pour la première fois par Towbin et al en 1979.

Principe :

L'extrait protéique résolu par électrophorèse verticale sur gel de polyacrylamide en présence de SDS (SDS-PAGE) est transféré sur une membrane de nitrocellulose par électrophorèse transversale permettant d'avoir une réplique fidèle des protéines transférées.

Les protéines transférées sont incubées avec les sérums et les couples Ag-Ac sont révélés par l'adjonction d'anti-immunoglobuline marquée à la phosphatase alcaline.

La révélation du ligand immunoenzymatique se fait par l'addition du substrat spécifique de l'enzyme.

Les différentes étapes de cette technique sont :

- Electrophorèse des protéines antigéniques des formes promastigotes de *Leishmania* en gel d'acrylamide, et on laisse migrer pendant 1 heure 30min.
- Transfert électrique du profil protéique obtenu sur un support solide, la membrane de nitrocellulose.
- Mise en contact de la membrane avec les sérums à tester, dilués au 1/10^{ème} ainsi que les sérums témoins positif et négatif.
- Incuber 30 min sur un agitateur à bascule à température ambiante.
- Elimination des anticorps non spécifiques par lavage avec du tampon TBS TritonX100 et marquage du complexe Ag-Ac avec des anticorps anti globuline marqués à la phosphatase alcaline.
- Incuber 1heure 30min sous agitation.
- Lavage en tampon phosphate 1x concentré.
- Révélation avec un substrat spécifique de l'enzyme pendant 5 à 10 mn sur agitateur, à l'obscurité puis arrêt de la réaction par un rinçage à l'eau.
- La lecture, stade final, consiste en une comparaison entre la bandelette test et les bandelettes témoins et un marqueur de taille.

Tout l'intérêt de cette technique réside dans la mise en évidence des anticorps spécifiques d'antigène de *Leishmania*. Les antigènes recherchés sont ceux pour lesquels il n'existe pas de réactions croisées connues, dont les plus importants sont ceux correspondant aux poids moléculaires suivant : 14-16 KDa, 30-46 KDa et la 90 KDa qui se révèlent immunogènes et spécifiques, notamment ceux de 16 et 14 KDa dont leur présence seule suffit pour poser le diagnostic^[3]. (**Figure N° 11**)

Cette technique n'est pratiquée que dans quelques laboratoires spécialisés. La sensibilité approche 100 % chez l'immunocompétent par les techniques les plus performantes. Alors que sa sensibilité est moindre en cas de sida mais reste supérieure à 80 % [25].

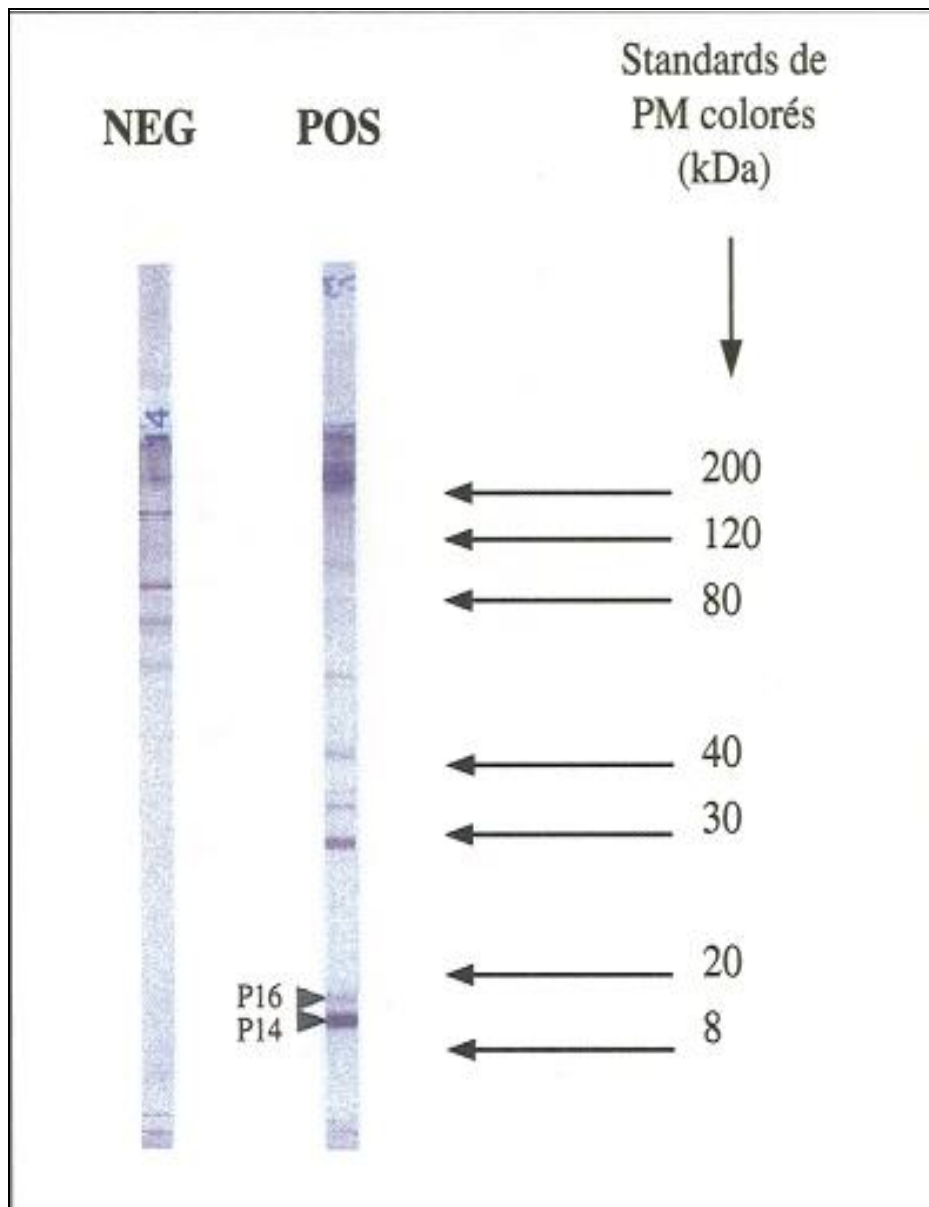


Figure N° 11: Résultats de diagnostic de leishmaniose par le western blot.

[25]

- **L'agglutination directe (DAT) :**

Elle consiste à mettre en présence des dilutions successives de sérum avec des formes promastigotes de *Leishmaniatrypsinées* et colorées au bleu d'Evans ou au bleu de Coomassie. La présence d'anticorps se traduit par un tapis d'agglutination. Le titre seuil se situe autour de 1/1600^e ou de 1/3200^e, des titres élevés persistent au décours de la maladie. Le seuil élevé fait perdre à la technique sa valeur.

Des améliorations proposées par El Harith et coll, en 1996, comme le traitement de l'antigène lui-même par le β - mercapto-éthanol (2ME) ou l'adjonction d'urée au milieu réactionnel, seraient susceptibles de répondre, en partie, aux critiques habituelles sur le défaut de spécificité ^[6].

- **Agglutination passive (AP) ou test au latex :**

Le sérum du patient est mis en contact avec des particules inertes (latex) sur lesquelles ont été fixés des antigènes leishmaniens solubles. La positivité de la réaction se manifeste par l'agglutination de ces particules (voile), la négativité par le dépôt, en « bouton », des particules dans le fond de la cupule. Ce test aurait une sensibilité comparable et parfois même supérieure à l'IFI avec le gros inconvénient de n'être que qualitatif ^[25].

- **Électrosynérèse (ES):**

C'est une technique d'immuno-électrodifusion où l'antigène est introduit dans un puits de gel d'agarose et soumis à une migration électrophorétique. Puis le sérum est déposé dans une rigole parallèle à la migration. La positivité se manifeste par la formation d'un ou plusieurs arcs spécifiques suite à la formation des complexes Ag-Ac, à la rencontre des zones de migration.

La sensibilité de l'ES est de 96,8% et est supérieure à celle de l'immunofluorescence, sa spécificité est de 100% ^[20]. L'électrosynérèse est plus sensible en début de la maladie qu'à la fin. La concentration d'anticorps précipitant diminue avec le traitement spécifique, ce qui la rend aussi adaptée au suivi thérapeutique ^[3].

Des techniques sérologiques par bandelette ont été évaluées pour les contextes sanitaires difficiles. La sensibilité est de plus de 90 % chez l'immunocompétent. Néanmoins, en cas de co-infection VIH/LV, les sensibilités des différents kits disponibles n'atteignent que 20 % ^[15].

Dans la grande majorité des cas, la recherche d'anticorps par l'IFI, l'HAI et la confirmation par le western blot sont suffisantes pour diagnostiquer la LV. Les techniques de recherche de leishmanies dans le sang et dans la moelle sont alors indiquées, mais elles sont dépassées par celles de biologie moléculaire ^[28].

- **Test d'hypersensibilité retardée :**

Il est provoqué par l'injection intradermique de promastigotes de culture (réaction de monténégro), lavés et mis en suspension dans une solution saline contenant 0,5% de phénol. L'espèce de leishmanie utilisée n'a pas d'importance (il n'y a pas de spécificité d'espèce). La « leishmanine » contient un million de parasites par ml. La dose individuelle comporte 0,1 ml (100.000 parasites). Une injection de 0,1 ml de solution phénolée sans parasites est faite à proximité, comme témoin d'une éventuelle sensibilité du patient au phénol.

Après 48 à 72 heures, une réaction positive donne un nodule induré entouré d'érythème. Les degrés sont exprimés de 1 à 4, d'après le diamètre (de <4 mm à > 8 mm) [23].

Dans le cas de la LV, il est négatif lors de la phase aiguë, mais il se positive, généralement, après plusieurs mois de la guérison. Son intérêt est épidémiologique [8][29].

6.1.2. Arguments directs de certitude :

Classiquement, le diagnostic de certitude repose sur la visualisation du parasite sur un prélèvement de moelle osseuse coloré au May-Grünwald-Giemsa ou Giemsa seul (sternum chez l'adulte, crête iliaque chez l'enfant) et de son ADN.

6.1.2.1. Prélèvements :

-La ponction de moelle osseuse (PMO) pratiquée au sternum chez l'adulte ou à la crête iliaque chez le jeune enfant qui est le plus souvent utilisée.

Procédure d'envoi de POM :- Frottis de POM pour examen direct après coloration au MGG

- 0,5 ml de POM sur tube EDTA pour recherche PCR.

- 0,5 ml de POM sur tube citraté pour culture sur milieu NNN^[30].

-Le sang total de l'immunodéprimé pour la recherche d'ADN, en raison du caractère peu invasif du prélèvement. Il doit être recueilli sur tube citraté (10ml) pour la culture sur milieu NNN et sur tube EDTA (5ml) pour la PCR^{[30][31]}.

-La recherche de leishmanies peut aussi s'effectuer sur du foie, des ganglions lymphatiques, la muqueuse digestive ou le liquide bronchioloalvéolaire(LBA)^[32].

6.1.2.2. Examen direct :

L'examen direct permet la visualisation des leishmanies dans le produit du prélèvement. Il a fait l'objet de notre travail (détaillé dans la partie pratique).

6.1.2.3. La culture :

Elle rend plus sensible le diagnostic en permettant de retrouver des parasites qui ne l'auraient pas été à l'examen direct. Elle permet également d'obtenir la souche de leishmanies en vue de son identification. Le milieu le plus utilisé reste le milieu historique de Novy, Mc Neal et Nicolle (NNN)^{[34][33]}. (ANNEXE 03)

La culture : L'ensemencement est réalisé de préférence sous hotte flux laminaire ou près d'un bec bunsen car le milieu est très sensible à la contamination bactérienne ou fongique. Le prélèvement, 2 à 3 gouttes de PMO ou pour un sujet immunodéprimé, 0,5 ml de sang périphérique, est déposé dans la phase liquide du milieu (exsudat) au fond du tube.

L'incubation des tubes s'est faite entre 25 à 26 °C. La lecture et les repiquages sur un nouveau milieu ont été effectués tous les sept jours, pendant trois semaines, l'examen est réalisé entre lame et lamelle, au microscope au grossissement moyen (objectif x 40), en fond clair. Les parasites sont alors aisément repérés grâce à leur mobilité. Ils se présentent sous leur forme promastigote^{[34][33]}.

La culture sur milieu N.N.N. est systématique. La culture est délicate et lente car elle nécessite trois repiquages à 1 semaine d'intervalle avant de conclure à une négativité. L'intérêt de la culture est aussi d'isoler la souche de leishmanie afin de la typer^[32].

6.1.2.4. Leucocytoconcentration (LCC):

Son principe consiste à concentrer les parasites sanguins sur la plus petite surface possible d'une lame porte-objet en éliminant les globules rouges et les plaquettes. Cette concentration est réalisée en plusieurs étapes^[3]:

*Calcul du volume de sang à utiliser : Pour avoir une répartition homogène des leucocytes et une concentration des parasites, il est impératif de travailler sur un volume de sang calculé selon la formule suivante pour les prélèvements humains :

$$\text{Volume (ml)} = 1250 / \text{nombre de leucocytes par mm}^3.$$

Le volume du sang pour la réalisation du test doit être pris dans les conditions d'asepsie afin d'éviter toute contamination pour le reste du prélèvement, destiné à la culture^[3]

*Hémolyse : Dans un tube conique pour centrifugation, hémolyser 0,5 ml de sang en le mélangeant avec 2,5ml de la solution hémolysante qui est composée de :

Saponine à 0,4%,

Formol à 2,5%,

Solution mère de merthiolate (pour MIF coloration) à 0,5%.

Glycérine à 0,5%,

Eau salée à 0,9% qsp 1000 ml.

- Filtrer soigneusement la solution obtenue à l'aide d'un filtre de 0,2µm, l'aliquoter en tubes de 5ml et conserver au congélateur à -20°C.

- Homogénéiser soigneusement le mélange par agitation au « vortex ».

- Laisser hémolyser et veiller à obtenir une hémolyse parfaite avant de passer à l'étape suivante. L'hémolyse parfaite est obtenue en 10 à 20 mn lorsque le sang prend un aspect « laqué ».

*Leucoconcentration :

- Concentrer les leucocytes et les parasites par une première centrifugation de 10 minutes à 2500 tours par mn.

-Jeter le surnageant et essuyer les bords du tube avec une gaze.

* Etalement des frottis sur lame porte-objet :

-Reprendre le culot dans 100 µl d'eau salée à 0,9%.

-Homogénéiser soigneusement par agitation au « vortex ».

-Centrifuger une deuxième fois pendant 10 mn à 2000 tours par mn.

-Jeter le surnageant.

-Confectionner des frottis à partir du culot de centrifugation sur deux lames porte-objet.

-Le reste du culot était destiné dans un premier temps à la culture.

*Coloration :

Sécher les lames et réaliser une coloration, après fixation au méthanol, par le Giemsa dilué au 1/10^{ème} et soigneusement filtrés. Pour éviter tout dépôt de colorant, la coloration se fait pendant 30 à 45 mn et est immédiatement suivi par un rinçage à l'eau de robinet. Puis, Sécher les lames, et lire au microscope optique au G x100.

*Résultats :

L'hémolyse, la concentration et la coloration par le Giemsa, permettent d'obtenir un étalement uniforme des leucocytes dont les noyaux apparaissent en rouge sur un fond blanc. Les parasites sont aisément repérés et identifiés.

Les Leishmanies sont identifiées grâce à leurs noyaux volumineux et leur kinétoplastes rouges dans un cytoplasme bleu clair^[3].

6.1.2.5. Inoculation à l'animal :

Cette technique exige une animalerie et une compétence particulière, qui rendent la non disponibilité dans tous les laboratoires, l'animal de choix est le Hamster dore syrien.

Elle consiste à injecter en intra-péritonéal quelques gouttes à 0,5 ml de PMO diluée dans du sérum physiologique stérile. Très sensibles à l'infection par les leishmanies, les animaux développent en quelques semaines à plusieurs mois une véritable leishmaniose. L'inoculation à l'animal est sensible et permet sans risque d'isoler la souche de leishmanies, contrairement à la culture qui existe toujours le risque de contamination. Pour ces raisons, elle reste une technique de choix^[33].

6.1.2.6. La biologie moléculaire :

Le diagnostic moléculaire est basé sur la détection et l'analyse des acides nucléiques du parasite dans le sang ou la PMO même si le prélèvement est plus pauvre. Il complète les approches parasitologiques et sérologiques dans le cadre du diagnostic initial. Elle permet un diagnostic précoce avant que le tableau clinique ne soit complet, elle a montré son efficacité dans la mise en évidence du portage asymptomatique du parasite chez le sujet infecté par le VIH. et elle permet aussi de distinguer les souches sensibles des souches résistantes au traitement, ce qui contribue à une meilleure prise en charge thérapeutique et un meilleur suivi des patients ^{[2][33][31][32]}.

Plusieurs techniques sont utilisées et différentes séquences génomiques peuvent être recherchées. Les PCR-ELISA et RT-PCR semblent les plus couramment employées Les résultats

atteignent souvent 100 % de leishmanioses diagnostiquées contre seulement 60 à 80 % pour la sérologie ou l'examen direct et la culture. L'amplification et la détection de l'ADN parasitaire par PCR, méthode sensible, spécifique et rapide, elle présente l'avantage d'éviter les contaminations mais elle nécessite un matériel coûteux et une formation spécialisée des personnels [33].

6.1.2.7. La recherche d'antigénurie :

Elle a récemment été évaluée pour *Leishmania infantum* et *Leishmaniadonovani*, chez l'immunodéprimé en cas de sida. Les premières études montraient des résultats encourageants avec une sensibilité supérieure à 85 % et une spécificité à 96 %. La valeur prédictive négative paraît donc insuffisante pour que l'on puisse se contenter de ce test sur le terrain. Cette technique détecte parfois aussi le portage asymptomatique [15].

6.2. Diagnostic de la leishmaniose cutanée :

6.2.1. Arguments indirects de présomption :

6.2.1.1.Épidémiologique : En raison de l'extension des LC avec apparition de nouveaux foyers, l'origine géographique des malades ou la notion de séjour dans des régions endémiques doit être prise en considération [29].

6.2.1.2.Clinique : Les lésions de la LC sont indolores et se caractérisent par leur localisation au niveau des zones découvertes du corps et par une chronicité attirant souvent l'attention [9][29].

6.2.1.3.Tests immunologique :

6.2.1.3.1.L'intradermoréaction à leishmanine : Cette réaction de Monténégro est positive chez les sujets atteints de la LC dont elle est positive au cours de la LCL mais toujours négative dans les formes diffuses anergiques. La positivité de ce test témoigne d'un contact préalable et a donc peu d'intérêt en zone d'endémie. Il n'y a pas actuellement d'antigène commercialisé [21][6].

6.2.2. Arguments directs de certitude :

La mise en évidence du parasite ou de son acide désoxyribonucléique (ADN) se fait sur un prélèvement de la lésion cutanée et qui constitue un diagnostic de certitude.

6.2.2.1.Prélèvements :-Raclage des lésions: la méthode sera détaillée dans la partie pratique.

-Certains auteurs préfèrent le prélèvement par aspiration à l'aiguille après injection de sérum physiologique fait à l'aide d'une seringue de 1 ml munie d'une aiguille hypodermique^[35].

- Biopsie cutanée est indiquée lors de lésions papulo-nodulaires non ulcérées.

6.2.2.2. Examen direct : Il a fait l'objet de notre étude et il sera expliqué dans la partie expérimentale.

6.2.2.3. La culture :

La mise en culture est effectuée de la même manière que pour la LV. *Leishmaniamajor* se développe assez rapidement en milieu de culture. Les promastigotes peuvent être observés dès le 5^e jour d'incubation. Plus rarement, la culture ne se développe qu'au bout de 3 à 4 semaines. Au contraire, les variants enzymatiques de *Leishmania infantum* sont plus difficiles à obtenir en culture, 4 à 5 semaines sont souvent nécessaires avant de voir apparaître quelques promastigotes^{[8] [9] [6]}.

6.2.2.4. Inoculation à l'animal :

En plus du Hamster doré syrien, d'autres rongeurs peuvent être utilisés tels que souris BalbC, *Meriones libycus* ou *M. shawi* qui peuvent aussi être élevés en laboratoire. L'inoculation consiste à injecter 0,5 à 1 ml du broyat de la biopsie ou du produit de la ponction-biopsie dans un coussinet plantaire ou le museau de l'animal, voire en intrapéritonéale. L'animal développe la LCL ou LCD en quelques semaines à quelques mois^[9].

6.2.2.5. Diagnostic moléculaire :

Il est réalisé sur les biopsies ou ponctions-aspirations, dans les mêmes conditions que pour la LV^[9].

6. 3. Diagnostic différentiel :

Les principaux diagnostics différentiels de la LC sont les pyodermites, l'ulcère tropical, les myases, les piqûres d'insectes, les mycoses profondes, la sarcoïdose, le lupus, les néoplasies, les mycobactérioses. Les LCM font discuter une histoplasmosse, une tréponématose (syphilis tertiaire, pian), la lèpre, un granulome centrofacial, une coccidiomycose^[29].

7. Traitement :

Le traitement de LV doit toujours être réalisé en milieu hospitalier^{[8] [6]}.

8. Prévention :

La prophylaxie restait longtemps très limitée, mais l'apparition de vaccin et de produits à action répulsive contre les moustiques permet de mieux protéger l'homme.

Laprophylaxie individuelle : est basée sur l'application des répulsifs et des moustiquaires sur la peau et les vêtements. Afin d'augmenter l'efficacité de ces moustiquaires, ils doivent être imprégnés d'insecticides ou constituées de mailles très fines les rendant difficilement supportables en climat chaud^[11].

La prophylaxie collective :

La lutte anti-vectorielle diminue le risque de contamination mais n'a pas amené de succès durables à l'échelle des populations ^[16]. Elle comporte la lutte contre les vecteurs par des insecticides à activité rémanente à l'intérieur et autour des habitations (sans oublier la niche du chien, les murs de pierre, ainsi que les poulaillers et clapiers où se reproduisent les phlébotomes...). Elle doit tenir compte des différences de comportement des vecteurs liées aux différences d'espèces. L'utilisation massive de DDT (diméthylchloro.....) ou d'autres molécules a montré une efficacité certaine. L'aspersion péri-domiciliaire de répulsifs, si le vecteur est domestique, a montré une efficacité partielle, au moins dans la leishmaniose cutanée, mais est difficile à appliquer sur de longues périodes.

La lutte ciblant le réservoir a été essayée pour la zoonose à *Leishmania infantum*. La protection du réservoir canin par des colliers imprégnés de deltaméthrine, (Scalibor®) et l'ectoparasiticide à base de perméthrine (Adventix® spot-on) est porteuse d'espoir sur la diminution de la LV humaine ^[8].

La vaccination :

Un premier vaccin polyprotéique a été autorisé au Brésil après avoir montré 90 % d'efficacité à deux ans au Brésil puis en France. La vaccination canine au Brésil s'est accompagnée d'une diminution de l'incidence des cas humains. Chez l'homme, des essais de vaccination préventive de phase I et II ont été initiés en Amérique du Sud et en Inde ^[15].

PARTIE PRATIQUE

1. Objectifs :

1.1. Objectif principal :

L'objectif du présent travail est d'essayer à travers les cas recensés d'apprécier l'évolution de l'incidence et de la distribution géographique de la leishmaniose et d'actualiser le profil des populations touchées.

1.2. Objectifs secondaires :

- Diagnostiquer sur les données anamnestiques, cliniques et biologiques une leishmaniose cutanée ou viscérale.
- Comparer entre la sérologie et l'examen direct dans le diagnostic de la leishmaniose viscérale.
- Décrire la situation épidémiologique de la wilaya de Tlemcen en matière des leishmaniose.

2. Matériels et méthodes :

2.1. Matériels :

2.1.1. Matériels biologiques :

Sur une période de 08 mois s'étendant de septembre 2014 à avril 2015, nous avons collectés 56 prélèvements répartis en 35 prélèvements cutanés, 12 prélèvements de moelle osseuse et 09 prélèvements sanguins (Tableau N°03).

Les deux derniers prélèvements provenaient de différents services : service de pédiatrie, de maladies infectieuses et de néphrologie du CHU de Tlemcen, alors que les prélèvements cutanés étaient réalisés par nous même au sein du service de parasitologie mycologie médicales.

Tableau III : Nombre des prélèvements collectés dans la période s'étalant de septembre 2014 à avril 2015	
Type de prélèvements	Nombre
Cutanés	35
PMO	12
Sanguins	09

2.1.2. Matériel du laboratoire :

2.1.2.1. Equipements : (ANNEXE 01)

- Centrifugeuse.
- Microscope optique.
- Micropipettes.
- Lames port objets.
- Lames bistouris.
- Sparadrap.
- Compresses purifiées.
- Embouts de pipette.
- Tubes coniques.
- Plateau.
- Support des lames pour la coloration.
- Papier filtre.
- Pot.

2.1.2.2. Réactifs : (ANNEXE 02)

- Eau oxygénée (comme un désinfectant au cours du prélèvement).
- Huile d'émersion (pour la lecture des lames).
- Méthanol.
- Giemsa.
- Eau distillée.
- IT LEISH (Individual Test for antibody detection in Human Visceral Leishmaniasis).

2.1.3. Exploration des données et analyse statistique :

La gestion des données est totalement informatisée.

Les réponses aux questionnaires ont été reportées dans un tableau au fur et à mesure à l'aide du logiciel Microsoft Excel. Le logiciel IBM SPSS 21.0 (Statistical Package for the Social Sciences) a été utilisé pour l'analyse des données et la réalisation des tests statistiques.

2.2. Méthodes :

2.2.1. Type d'étude :

Il s'agit d'une étude épidémiologique descriptive transversale, monocentrique, réalisée au niveau du service de Parasitologie Mycologie médicales du CHU de Tlemccen durant la période allant de septembre 2014 à avril 2015.

2.2.2. Population d'étude :

Notre étude a porté sur les malades suspects atteints de la leishmaniose cutanée ou viscérale, hospitalisés au CHU de Tlemccen ou orientés par le biais d'une consultation externe vers notre service.

2.2.3. Déroulement d'étude :

Notre travail représente la première étude effectuée au laboratoire de parasitologie du CHU de Tlemccen.

La collecte des données de nos malades a été réalisée par le biais d'une fiche de renseignement (**ANNEXE 01**). Cette dernière était remplie par le médecin traitant des malades suspects atteints de LV ou par nous même s'il s'agit d'une LC.

La fiche de renseignement porte toutes les informations nécessaires pour le diagnostic d'orientation des leishmanioses : l'identité du malade (nom et prénom), le sexe, l'âge, le lieu de résidence, l'origine du malade, la notion de séjour dans des zones endémique durant les deux dernières années.

Pour la LC, il faut préciser, l'aspect et le nombre des lésions retrouvées et pour la LV, cette fiche doit porter, en plus des données citées ci dessus, la symptomatologie clinique et toutes les perturbations biologiques sans oublier de mentionner le type du traitement antérieur ou actuel pris par le malade.

2.2.4. Démarche diagnostic :

a. Prélèvement : C'est un temps essentiel ; de sa qualité dépendra la réussite des étapes ultérieures.

Le prélèvement cutané a été effectué d'une façon spécifique par grattage avec une « lame bistouris » à la périphérie de la lésion où le parasite est actif, dans la partie infiltrée en bordure sur le versant interne loin des zones surinfectées. Ce prélèvement permet de ramener des sérosités, après avoir arraché la croûte s'il s'agit d'une lésion ulcéro-croûteuse.

Avant de commencer, on doit tout d'abord faire un nettoyage soigneux de la lésion par un désinfectant « l'eau oxygénée » à l'aide d'une compresse purifiée. Le prélèvement doit être fait pour chaque lésion à part concernant le même patient en changeant le matériel utilisé à chaque fois.

Les sérosités obtenues par raclage des lésions serviront à la confection des frottis sur deux lames port objet ou plus, selon le nombre des lésions prélevées.



Figure N°12: Aspect d'une lésion ulcéro-croûteuse avant la réalisation du prélèvement.

(Photo personnelle-Service de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tlemcen)



Figure N°13 : Aspect d'une lésion ulcéro-croûteuse après le prélèvement.

(Photo personnelle-Service de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tlemcen)

En cas d'une surinfection de la lésion, le prélèvement doit être effectué après prise d'un traitement antibiotique.

Les frottis confectionnés doivent être sécher à l'air libre avant de lancer la coloration.

Le prélèvement de la moelle osseuse « PMO » est envoyé à notre laboratoire par les médecins traitants, il est déjà étalé sur des lames port objet et est accompagné par un prélèvement sanguin sur tube sec.

b. La coloration :

b1. Fixation : la fixation des frottis doit se faire avant toute coloration par le Giemsa, elle consiste à déposer une quantité suffisante de méthanol afin de couvrir toute la lame et laisser en contact pendant 05 minutes.

b2. Coloration : parallèlement à la fixation, on procède à la dilution du Giemsa au 1/10^{ème} et cette dernière doit être précédée par une simple filtration de ce colorant.

La coloration des frottis fixés se fait en versant le Giemsa d'une façon à couvrir toute la surface des lames et en laissant en contact pendant 30 à 40 minutes (Figure N°).

b3. Lavage et séchage :

Après l'achèvement du temps de coloration, le Giemsa doit être chassé par un faible jet d'eau puis on passe au séchage des lames à l'air libre (Figure N°).

b4. Lecture au microscope :

La recherche du parasite s'effectue par lecture des lames colorées au microscope optique à fort grossissement $G \times 100$, avec l'huile à immersion. Les parasites apparaissent sous formes amastigotes intramacrophagiques groupées en amas, ou à l'état libres (Figure N°).

D'après les résultats de l'examen direct des frottis dermiques, on trouve deux formes amastigotes qui se différencient par la taille. Les formes retrouvées chez les malades originaires ou ayant séjournés dans les zones arides et semi-arides de l'Algérie sont de grande taille (Figure N°), à l'inverse de celles issues des régions du Nord qui sont des formes de petite taille (Figure N°).

Cette différence de taille peut nous faire suspecter, en plus des données épidémiologiques et cliniques, que les amastigotes de petite taille appartiennent à l'espèce *Leishmania infantum* et celles de grande taille reviennent à l'espèce *Leishmania major* MON 25.

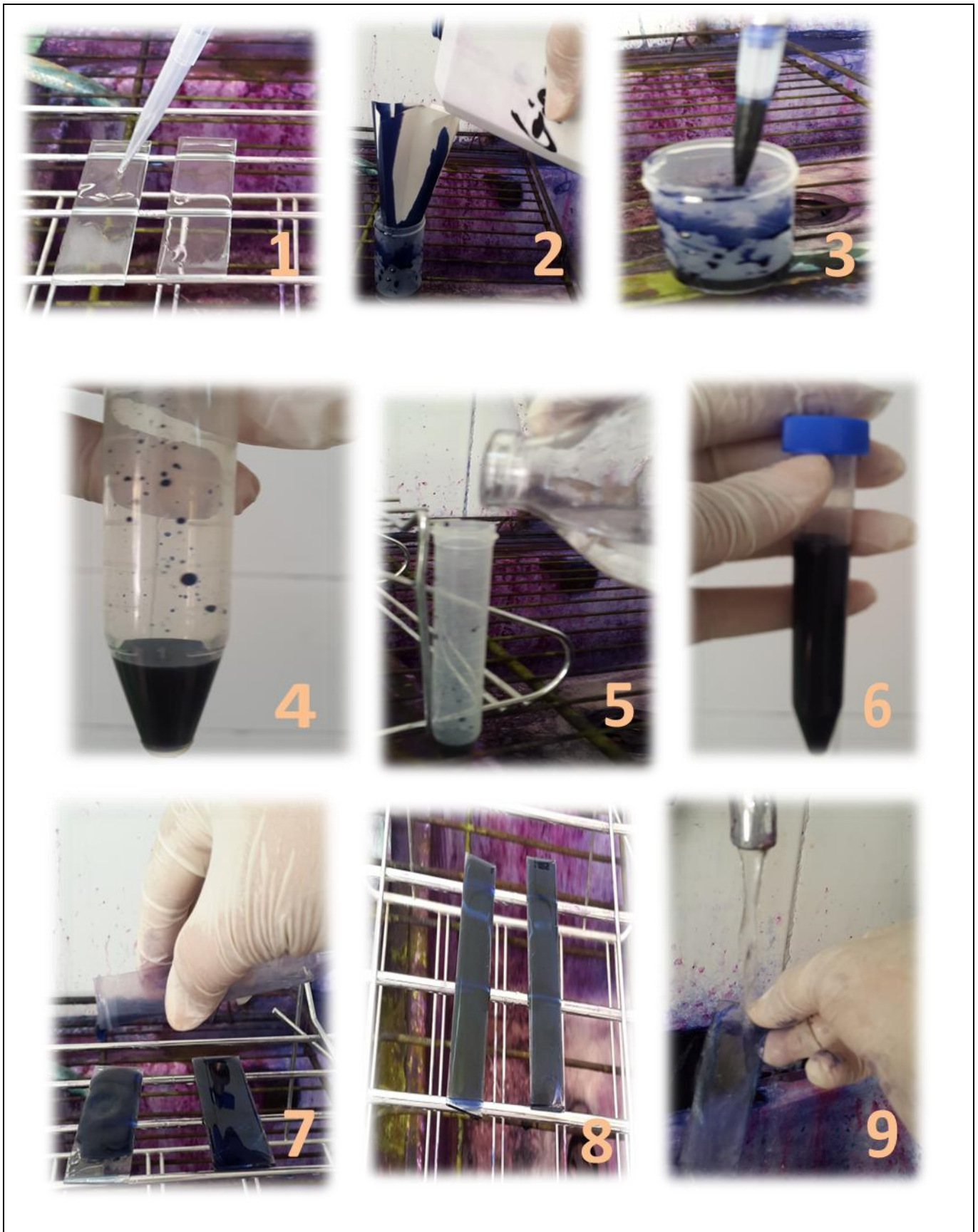


Figure N° 14: Les étapes de coloration des frottis par le Giemsa.

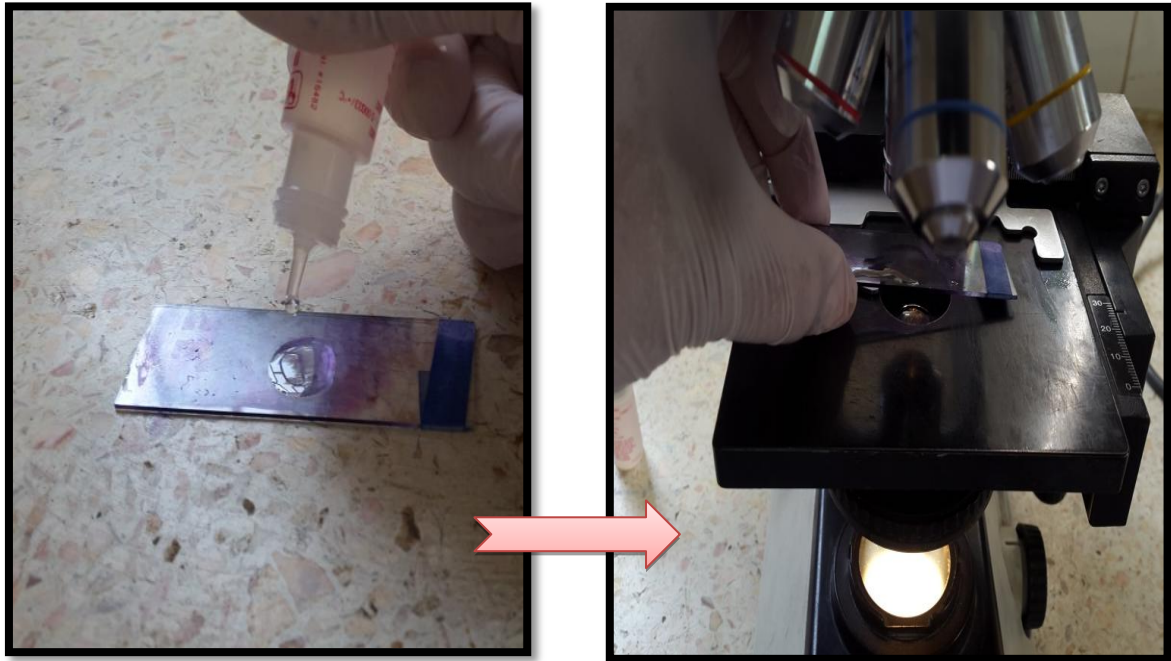


Figure N°15 : L'étape de lecture des frottis colorés.

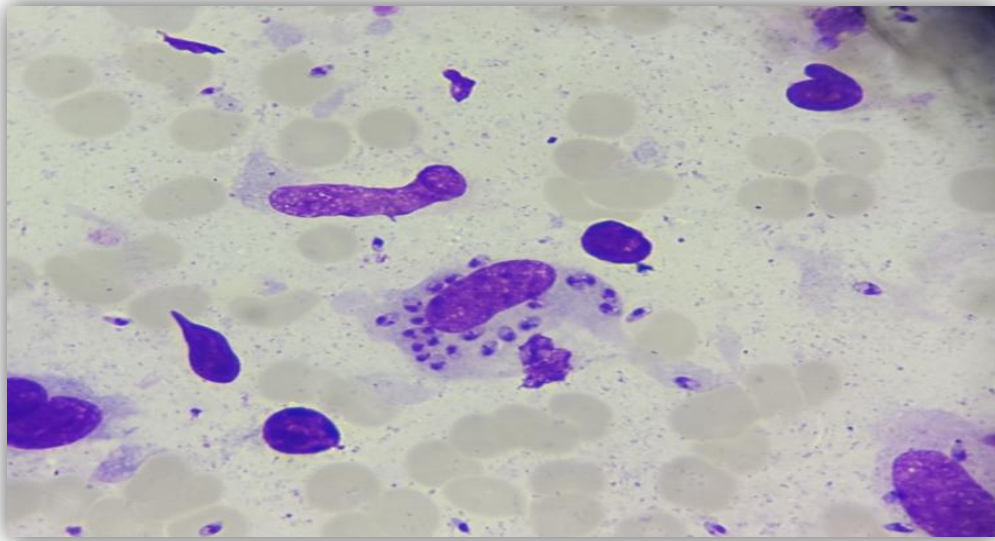


Figure N°16 : Formes amastigotes intramacrophagiques de *Leishmania infantum*.

(Photo personnelle-Service de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tlemcen)



Figure N°17 : Forme amastigote libre de *Leishmania major* MON 25.

(Photo personnelle-Service de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tlemcen)

c. La sérologie leishmanienne :

Le test utilisé est le test **IT LEISH** BIO-RAD (ANNEXE 03).

***Principe :** IT LEISH est un test de diagnostic rapide d'immuno-chromatographique de référence, utilisant l'antigène rK39 pour conférer à une grande spécificité et une sensibilité élevée de détection.

Ce test est basé sur la détection d'anticorps-anti leishmaniens dirigés contre la protéine rK39.

***Les composants :**

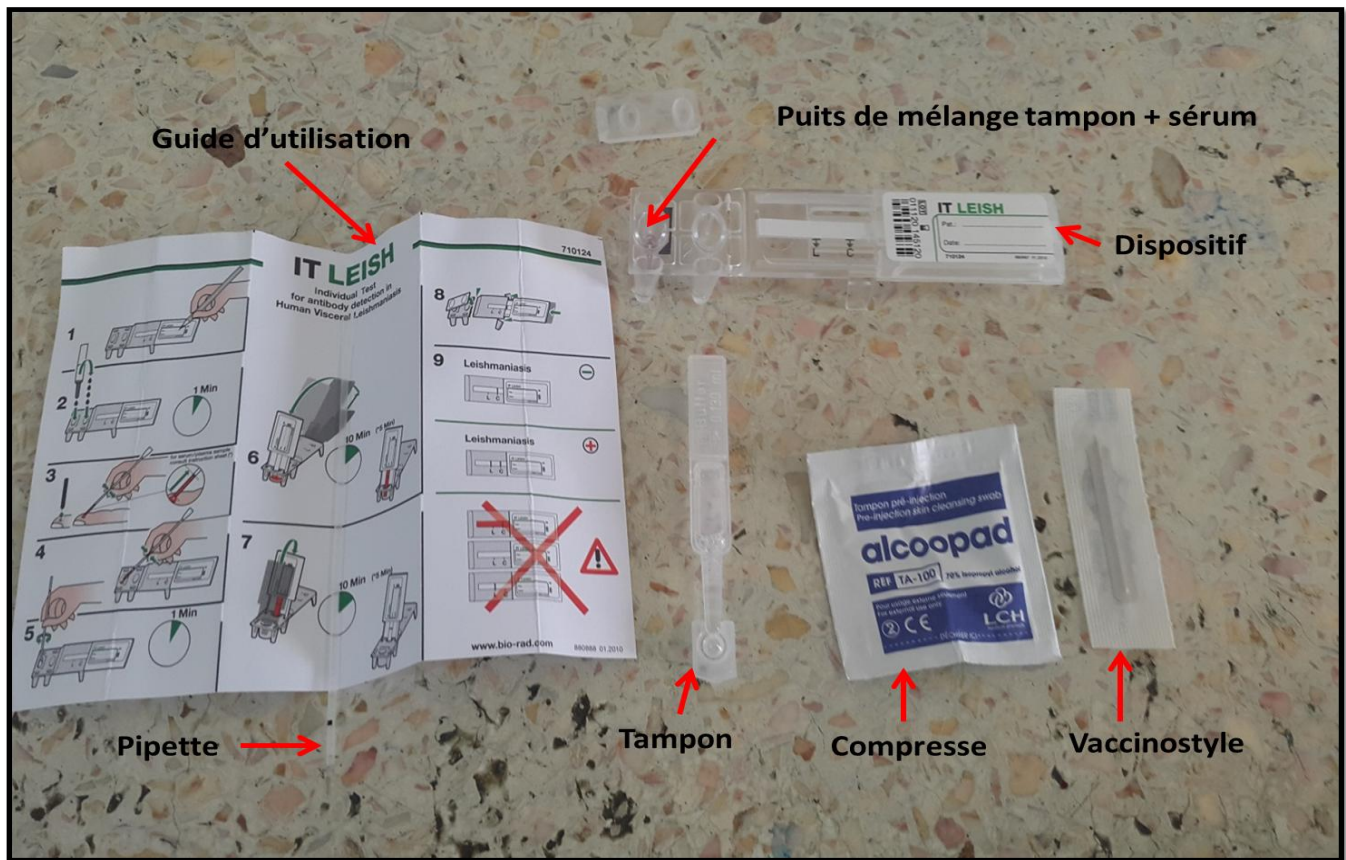


Figure N°18 : les composants du test IT LEISH.

(Photo personnelle-Service de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tlemcen)

***Protocole :**

1. Faire centrifuger le sang total du malade à 4000 T/min pendant 05 min
 2. Ecrire sur le dispositif le nom et le prénom du malade et aussi la date du prélèvement (Figure N°19. 1).
 3. Mettre une goutte de tampon dans le 1^{ier} puits conjugué avec l'antigène rK39 (a) et quatre goutte sur l'autre puits et laisser le pendant 1min (b) (Figure N°19. 2).
 4. Prélever à l'aide de pipette par capillarité le sérum jusqu'au trait noir (sur la pipette) (Figure N°19. 3).
 5. Déposer le sur le 1^{ier} puits et agiter avec la pipette pendant 1 min (Figure N°19. 4).
 6. Mettre la bandelette du test sur le puits de sérum pendant 10 min (Figure N°19. 5).
 7. Après que la bandelette absorbe tout le sérum, déplacer la bandelette sur le 2^{ème} puits pour qu'elle absorbe aussi le tampon seul et laisser pendant 10 min (Figure N°19. 6).
 8. Lecture de bandelette : *le test est positif, si on trouve deux traits L (leishmaniose) et C (contrôle).
- *le test est négatif, si on trouve que le trait C de contrôle (Figure N°20).

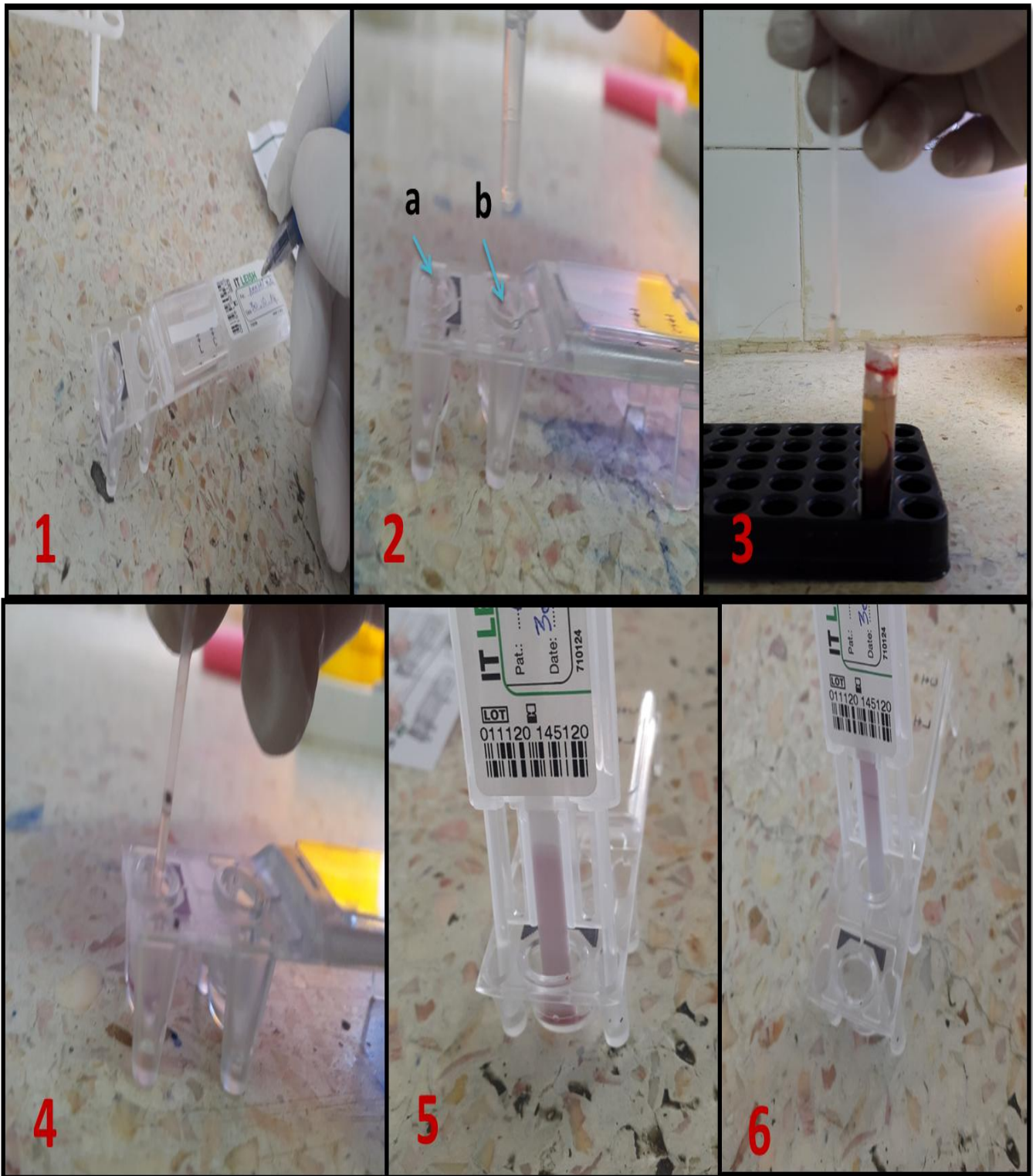


Figure N°19 : Les étapes de la sérologie leishmanienne par le test IT LEISH.



Figure N°20 : Les résultats de la sérologie leishmanienne (-) et (+).

(Photo personnelle-Service de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tlemcen)

3. Résultats et interprétation :

3.1. La leishmaniose cutanée :

3.1.1. La fréquence de la LC :

Parmi les 35 patients recrutés pour le diagnostic parasitologique de la LC, on a trouvé que 12 cas étaient prouvés atteints de LC avec un pourcentage de 34% (**Figure N°21**).

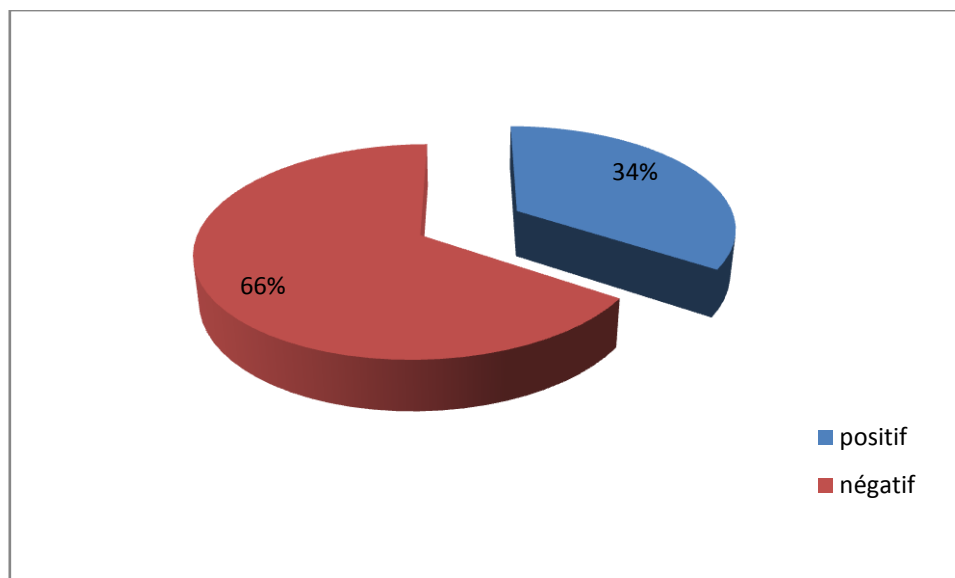


Figure N°21: La fréquence de la leishmaniose cutanée

3.1.2. Description de la population (n= 12) :

- **L'âge :**

L'âge moyen de nos patients est de 33.17 ± 24 ans, s'étalant entre 03 et 71 ans.

Le graphe suivant représente la répartition des cas positifs en fonction de l'âge.

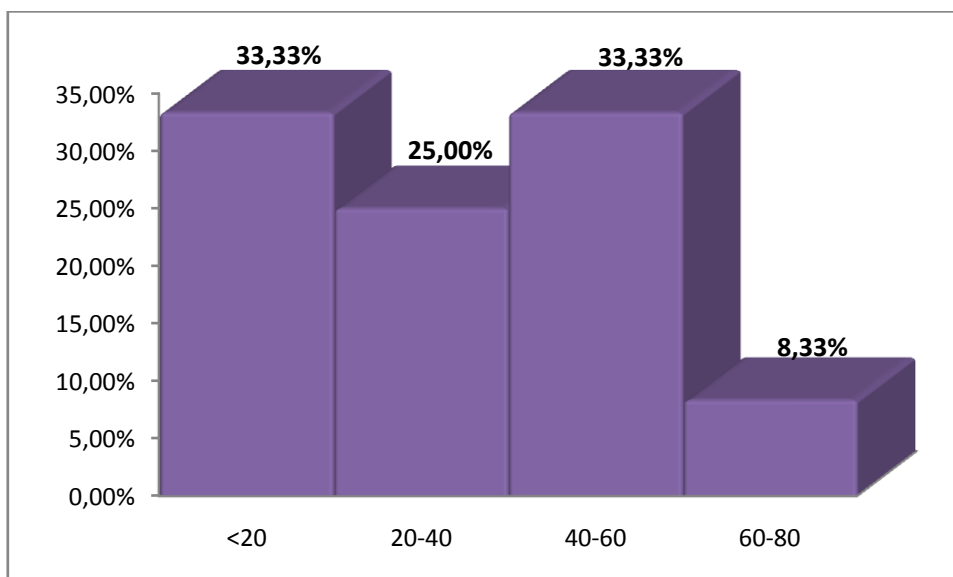


Figure N°22 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.

Au niveau de cet histogramme, on remarque que les deux tranches d'âge (< 20ans et 40-60 ans) sont les plus touchées avec un pourcentage de 33,33 % alors que la tranche d'âge 60-80 ans représente le faible taux de positivité dans notre série.

- **Sexe :**

La répartition des cas positifs selon le sexe est représentée au niveau de la figure N°23.

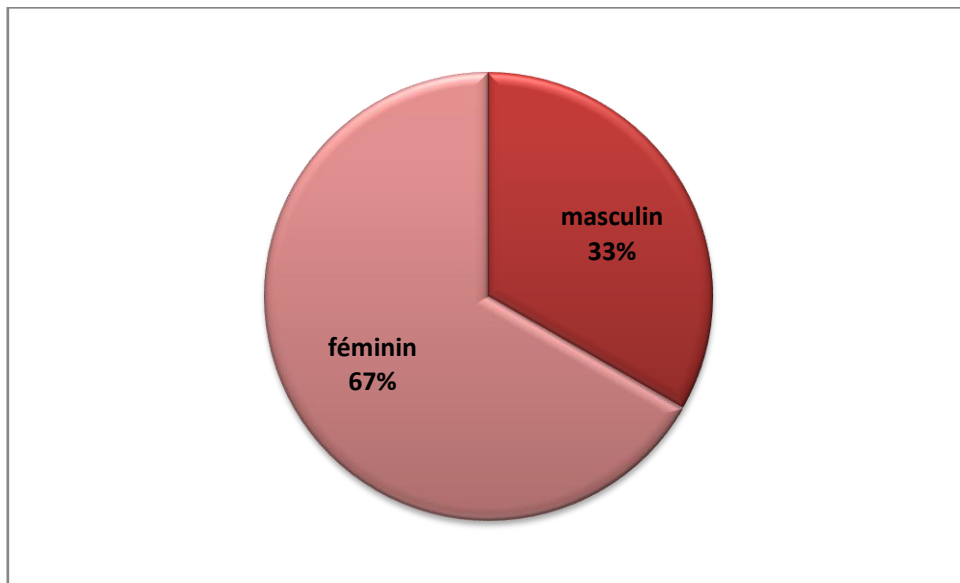


Figure N°23 : Répartition des patients selon le sexe.

On note sur ce secteur que le sexe ratio de notre population est de 0.49 en faveur du sexe féminin.

- **La résidence :**

La population recensée dans notre étude provient de différentes régions et qui sont représenté au niveau de la figure N°24.

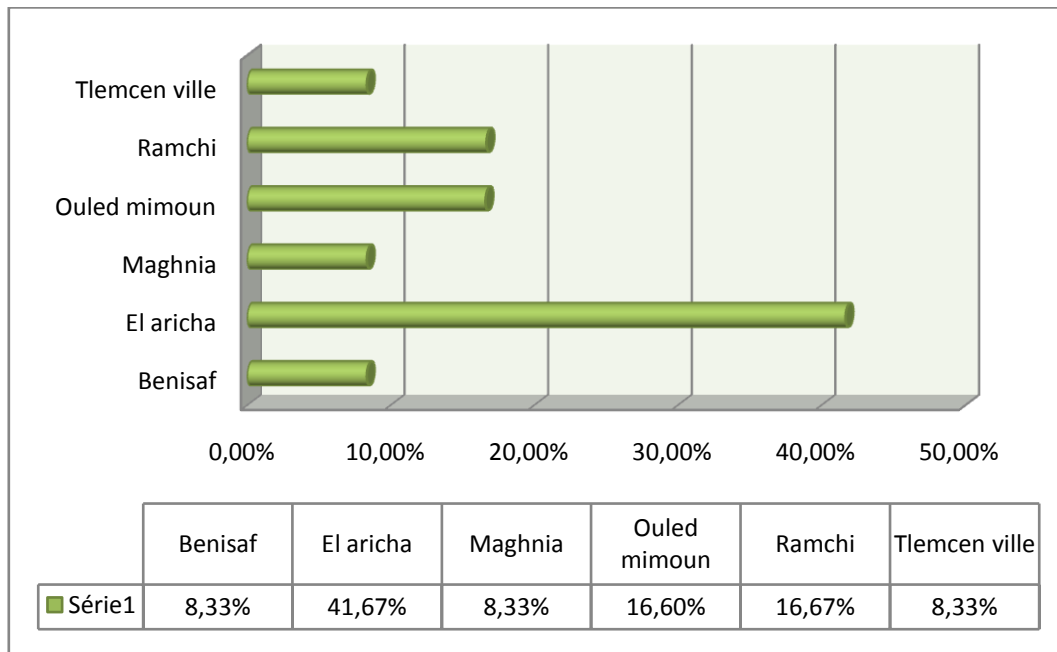


Figure N°24: Répartition des patients selon la résidence.

On note que un nombre élevée des cas appartient à la région d'El Aricha avec un pourcentage de 41.67%, suivie par les régions de Ramchi avec 16.67% et Ouled Mimoun avec 16.60%. Par conclusion, on remarque que la majorité des cas positifs réside dans la wilaya de Tlemcen.

L'origine géographique : est représenté par le graphe suivant :

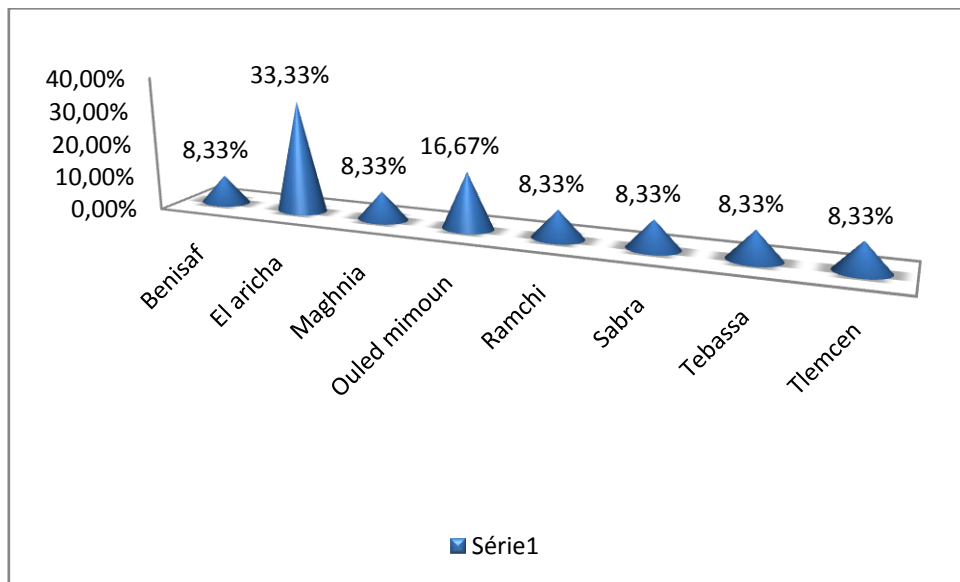


Figure N°25 : Répartition des patients selon leur origine.

D'après les résultats portant sur l'origine géographique des patients, on déduit que la totalité des malades reçus de Ouledmimoun sont au même temps originaire et résidents de cette régions. Concernant El Aricha, on remarque qu'un seul patient réside dans la région mais est originaire de Tébessa.

- **Notion de séjour dans des zones endémiques :**

Le secteur suivant montre le pourcentage des patients ayant séjournés ou non en dehors de leur lieu de résidence.

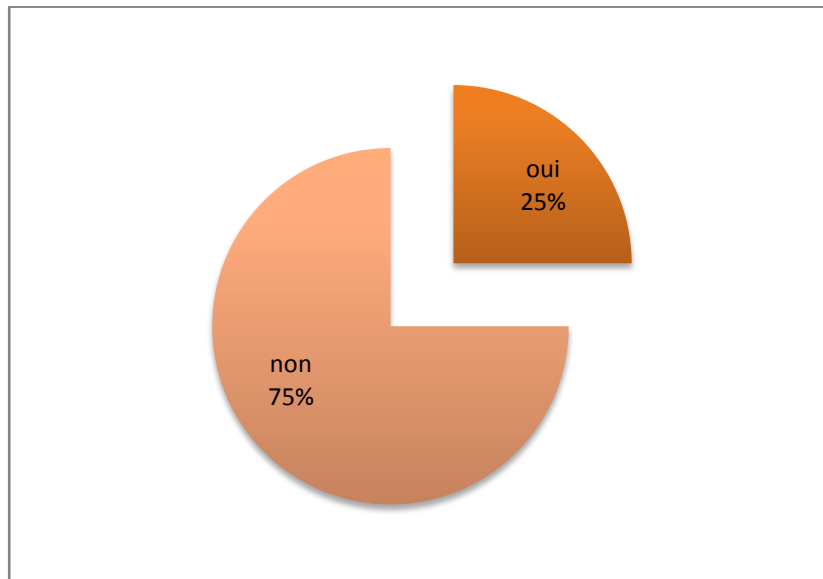


Figure N°26 : La répartition des malades selon le séjour dans une zone endémique pendant les deux dernières années.

Selon ce secteur, on note que 25% des patients ont séjournés dans des zones endémiques classiques : Tébessa, Batna, Biskra et Naâma, durant les deux dernières années avant le début des lésions.

- **Nombre des lésions cutanées :** est représenté au niveau de la figure N°27.

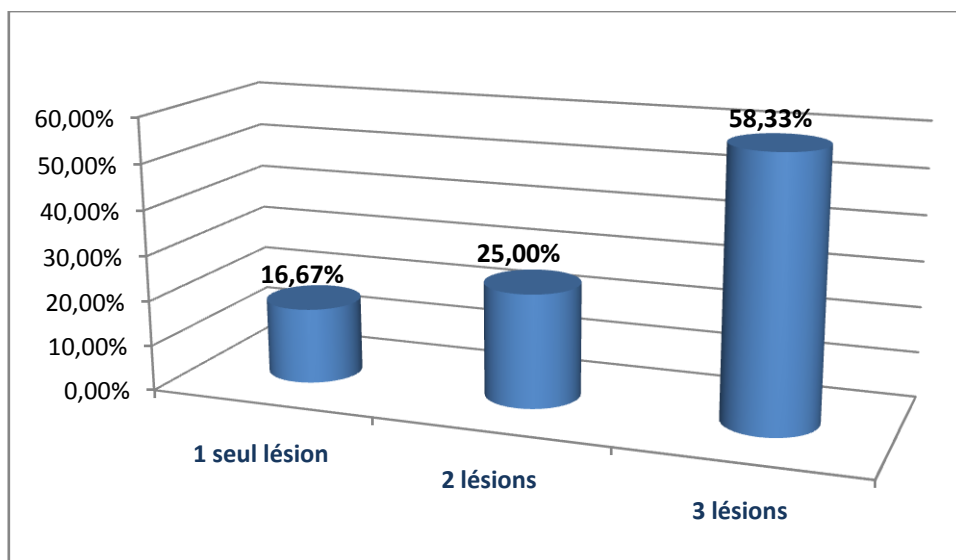


Figure N°27: Répartition des patients selon le nombre des lésions cutanées.

Dans notre série d'étude, on a trouvé que la majorité des patients présentent plus qu'une lésion avec 58.33% des malades ayant 03 lésions et 25% ayant 02 lésions.

Ces résultats signifient une multiplicité de piqure par le phlébotome chez le même malade.

- **Localisation des lésions cutanées :**

Le siège des lésions retrouvées chez nos patients est mentionné sur le diagramme suivant :

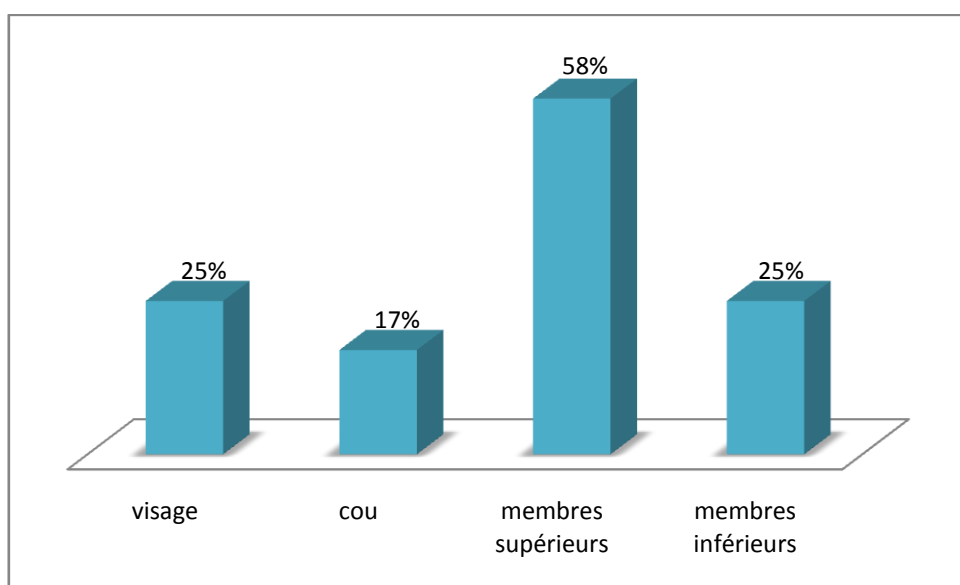


Figure N°28 : Répartition des patients selon le siège des lésions.

Dans la plus part des cas on note que le membre supérieur est le plus touché avec un pourcentage de 58% tandis que membre inférieur et le visage viennent en second plan et présentent le même pourcentage (25%).

On remarque que les parties les plus touchées sont celle des zones découvertes du corps et qui sont plus accessibles au phlébotome.

- **Date d'apparition des lésions cutanées** : se voit sur le graphe suivant :

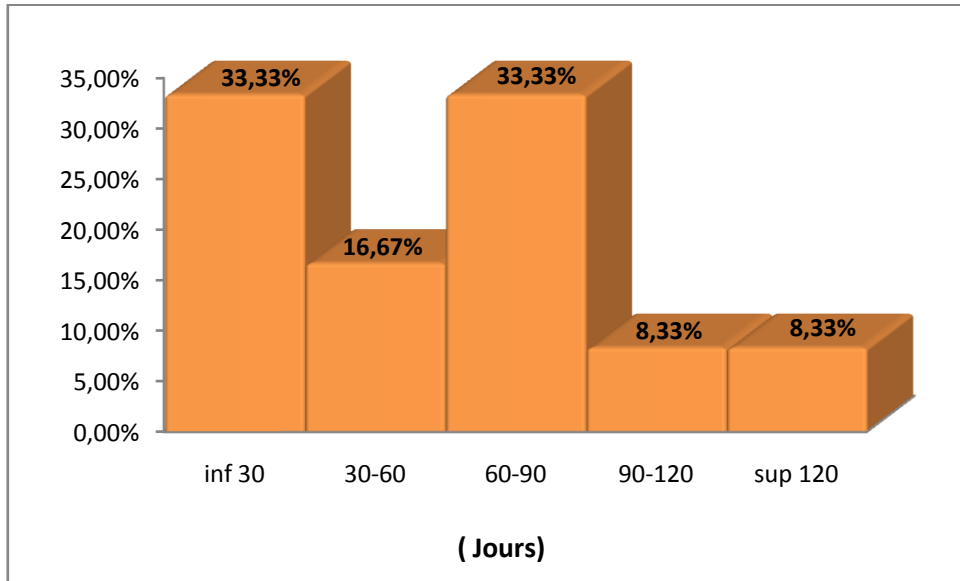


Figure N°29: Répartition des patients selon la durée d'apparition des lésions.

Parmi les 12 patients diagnostiqués, on note que l'évolution des lésions varie en fonction des cas dont le pourcentage le plus élevé est représenté par 33.33% des patients atteints. Ce taux concerne deux périodes (inférieur à 30 jrs et entre 60 et 90 jrs).

- **Aspect des lésions** :est montré dans le secteur suivant :

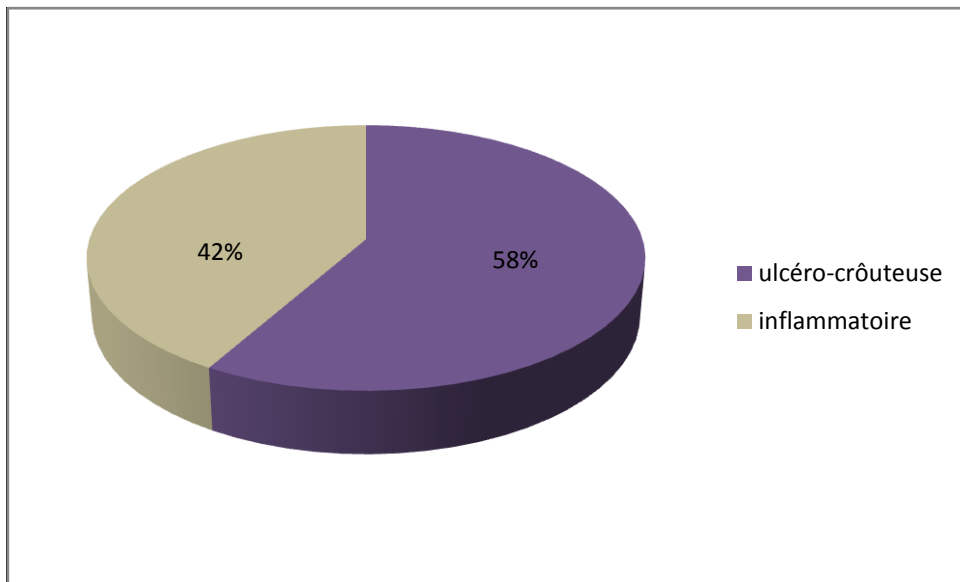


Figure N°30 : Répartition des patients selon l'aspect des lésions.

On remarque que les lésions ulcéro-croûteuses sont prédominantes dans notre série (58%).

- **La prise du traitement avant le prélèvement :**

Cette notion est montrée au niveau du secteur suivant :

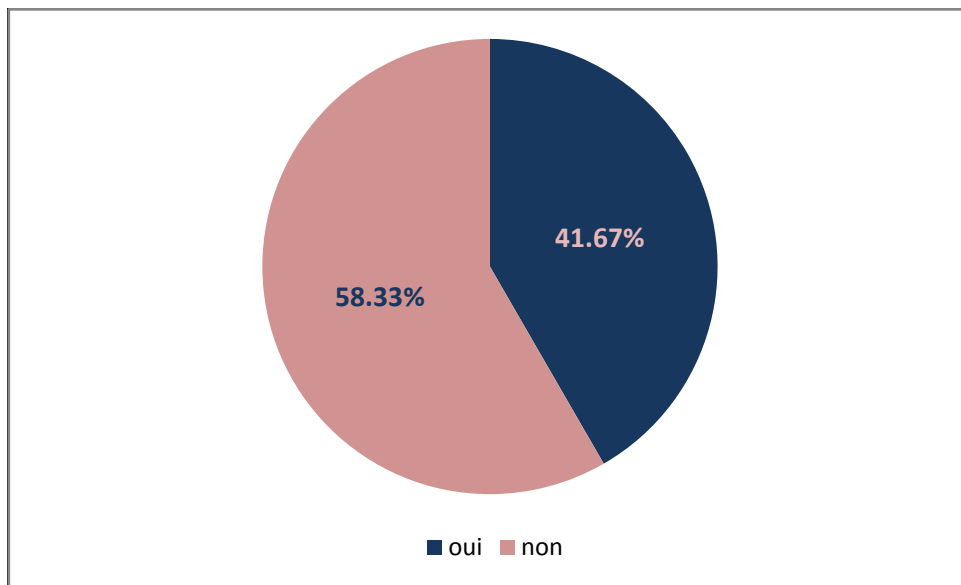


Figure N°31 : Répartition des malades selon la prise de traitement.

On note que près de 58,5 % des patients atteints n'ont pas pris traitement avant d'être prélevés.

Les molécules utilisées chez les patients traités avant le prélèvement sont représenté sur la figure N°32.

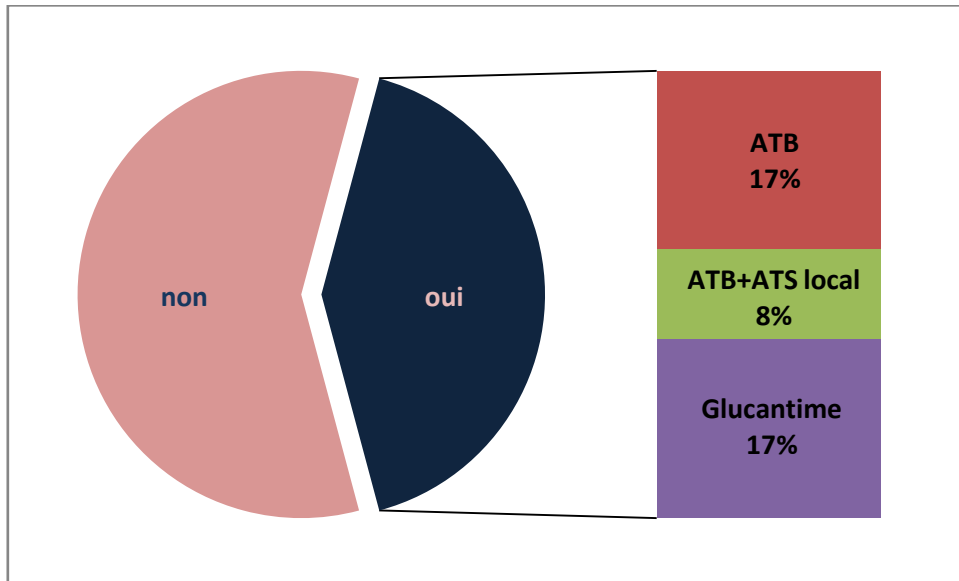


Figure N° 32 : Répartition des patients selon le type du traitement pris.

Selon ce secteur, on remarque que parmi ces patients, une partie était traitée par des ATB avec ou sans ATS mais qui ne possèdent aucun effet sur les leishmanies. Néanmoins, on note que 17 % des malades positifs ont pris du Glucantime®, anti-leishmanien de référence avant le prélèvement, cela peut être expliqué par l'échec au traitement ou la prise thérapeutique est encore en phase de début.

- **Description à propos d'un cas :**

Il s'agit d'un enfant C.A du sexe féminin âgé de 03 ans, originaire de Ouledmimoun a été hospitalisée au service de dermatologie au CHU pour des lésions ulcéro-croûteuses au niveau des deux jambes et une lésion inflammatoire au niveau de la cuisse droite.

Le 06/01/2015, la patiente était adressée à notre service pour une suspicion d'une LC. Le prélèvement était fait sur les lésions de la jambe dont l'examen direct est revenu négatif (-) car la malade a présentée des lésions surinfectées avec présence du pus qui peut masquer la présence des formes parasitaires (**Figure N°33**).

On a recruté de nouveau la patiente, le 08/01 pour pratiquer un prélèvement chez elle mais cette fois ci c'était effectué sur la lésion inflammatoire de la cuisse. L'examen direct a objectivé la présence des formes amastigotes de *Leishmania sp*(**Figure N°34**), et un écouvillonnage du pus pour ECB (examen cytobactériologique) qui est revenu positif à *Proteiusp*.

La malade était mis sous traitement : Glucantime® à raison de 10mg/kg/j pendant 15 jours et un traitement antibiotique (Augmentin®) , mais malheureusement elle est revenu le 04/03 pour aggravation d'état de ces lésions qui ont pris de l'étendue et elles sont devenus plus purulentes même pour celle de la cuisse.

On s'est déplacé au service de dermatologie, avec le matériel nécessaire pour le prélèvement. On a commencé d'abord par un écouvillonnage du pus des trois lésions puis un grattage profond à la périphérie de ces dernières.

L'ECB du pus a montré la surinfection par l'*Escherichia coli* présentant une résistance à l'Augmentin® et les examens directs des frottis montrent des formes amastigotes de *Leishmania sp*, ce qui s'explique la chronicité et l'aggravation de l'état purulent donnant par conséquent un terrain favorable à la leishmanie pour prendre de l'étendue.

La patiente était traitée à la suite par une 2^{ème} cure de Glucantime®, à raison de 30mg/kg/j pendant 21 jours, avec un antibiotique (céphalosporine de 3^{ème} génération).

L'évolution clinique après ces traitements était favorable.

La malade était adressée à notre service pour un contrôle parasitologique de ses lésions le 22/04 et le résultat était satisfaisant avec stérilisation totale des foyers atteints (**Figure N°35**).

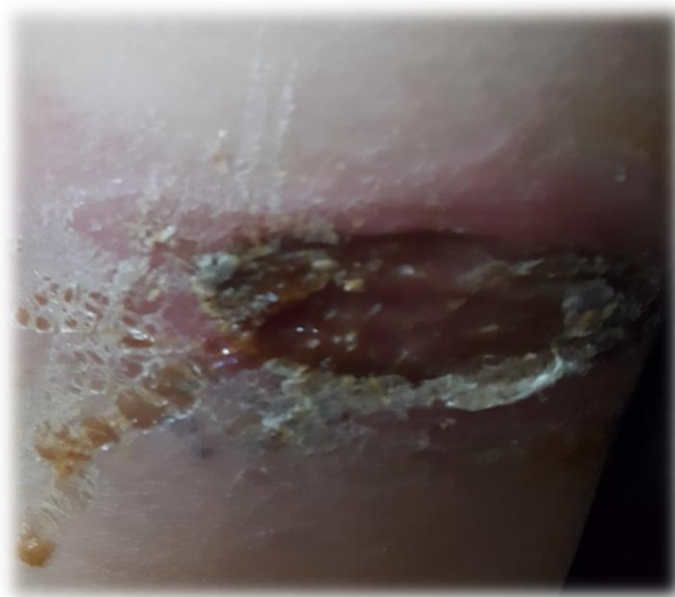


Figure N°33 : la lésion ulcéro-croûteuse de la jambe droite de la malade.

(Photo personnelle-Service de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tlemcen)

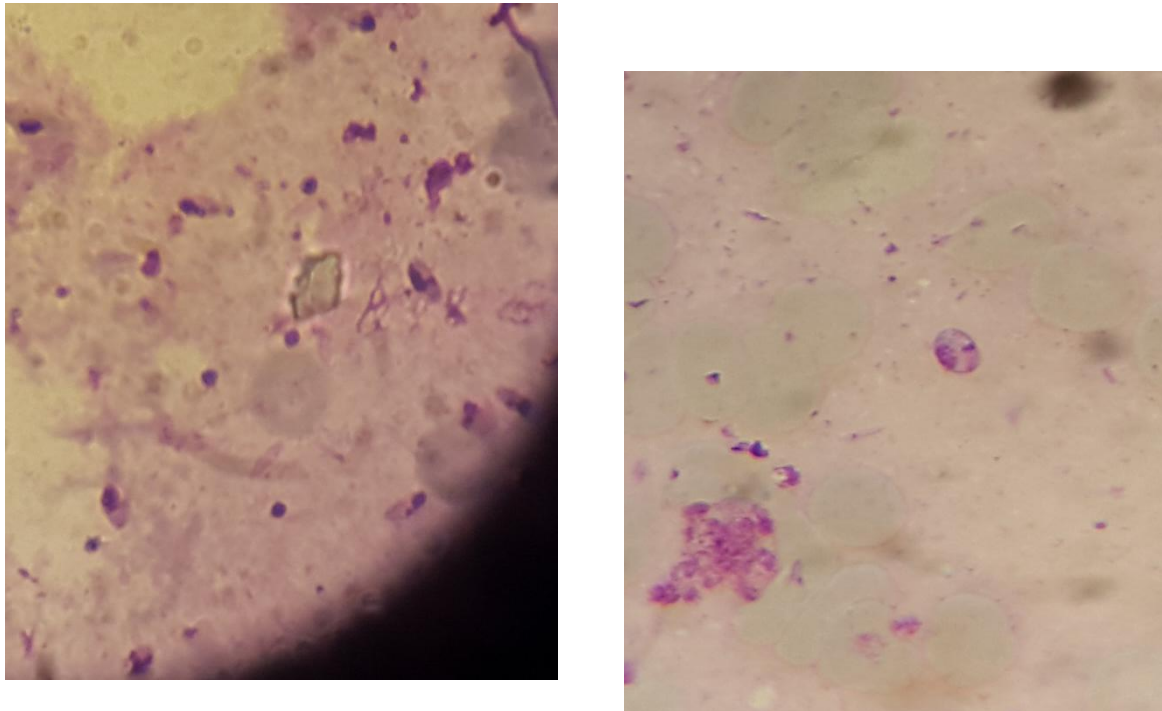


Figure N° 34 : Formes amastigotes de lésion inflammatoire de la cuisse.

(Photo personnelle-Service de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tlemcen)



Figure N° 35 : Evolution des trois lésions de : jambe gauche, jambe droite et cuisse droite

(au sens de flèche)

(Photo personnelle-Service de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tlemcen)

3.2. La leishmaniose viscérale :

3.2.1. La fréquence de la LV :

Durant la période de notre étude, on a reçu les prélèvements de 12 cas suspects de LV, ou on a eu affaire à 12 prélèvements de PMO et 09 prélèvements sanguins. Parmi les 12 patients, on n'a trouvé que 02 cas positifs, donc la fréquence de la LV dans notre série est de 17 % et cela est mentionné au niveau du graphe suivant :

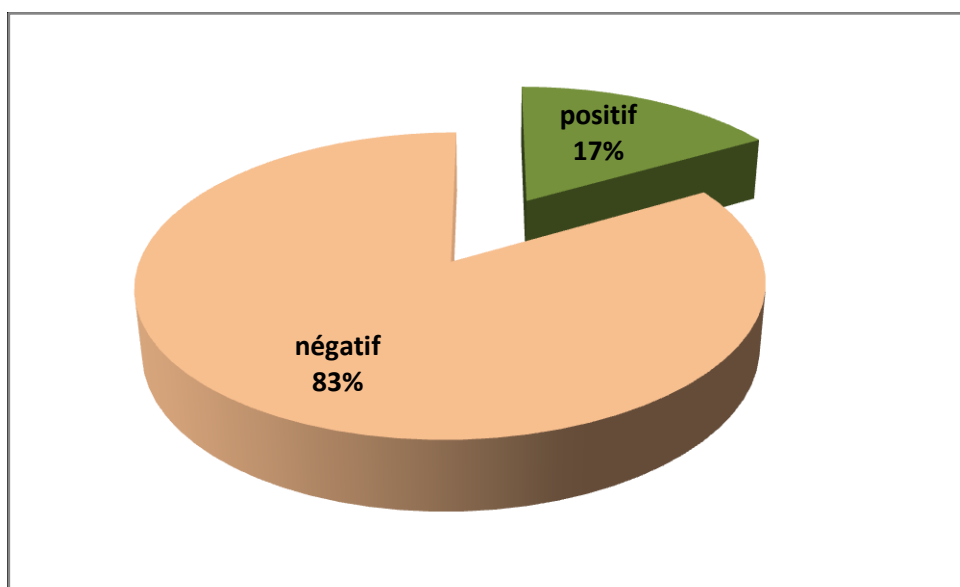


Figure N°36 : La fréquence de la LV.

3.2.2. Description des deux cas (n=02) :

Concernant ces deux cas positif atteint de LV, on va donner une description détaillée pour chaque cas.

- **1^{ier} cas :**

Il s'agit d'un jeune homme A.M, âgé de 28 ans, originaire d'Ain Talout, hospitalisé au niveau du service des maladies infectieuses pour la prise en charge d'une infection virale chronique (HIV+) et est traité par les antirétroviraux. Le patient a déjà présenté un épisode de leishmaniose viscérale qui remonte à 02 ans et qui a été diagnostiqué au sein de notre service.

Ce malade présentait un tableau clinique et biologique typiques de la LV dont la symptomatologie est représenté au niveau du tableau suivant:

Tableau IV : Les données clinique et biologique du patient A.M .	
Données cliniques	Données biologiques
Fièvre SPM Pâleur Amaigrissement	Pancytopénie (anémie, leucopénie, thrombopénie)

Une ponction de moelle osseuse était pratiquée et dont l'examen direct des frottis a objectivé la présence de formes amastigotes de *Leishmania sp*(**Figure N°35**). Un prélèvement sanguin sur tube sec était adressé par la suite à notre service afin de pratiquer une recherche d'anticorps anti-leishmaniens et est revenues négative.

Tableau V : Résultats de diagnostic parasitologique de patient A.M.	
Type de diagnostic	Résultats
ED de PMO	Positif (+)
Sérologie leishmanienne par IT LEISH	Négatif (-)

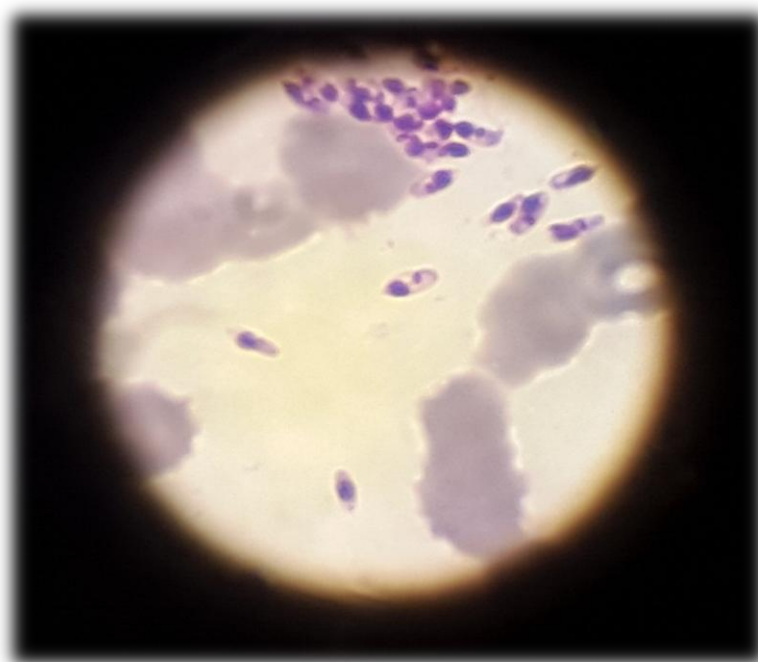


Figure N° 37:Résultats de ED du patient A.M .

(Photo personnelle-Service de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tlemcen)

- **2^{ème} cas :**

Il s'agit du patient S.D âgé de 35 ans et hospitalisé au niveau de service des maladies infectieuses pour une prise en charge d'une infection virale chronique (HIV+). Chez ce malade la suspicion de la leishmaniose viscérale était basé sur un tableau clinique fait d'une fièvre, d'une SPM stade II et d'ADP profondes abdominales objectivées au scanner abdomino-pelvien, une cœliomésentérique et l'autre au niveau du hile hépatique.

Son bilan biologique a objectivé une anémie avec hémoglobine à 6 g/dl, une leucopénie à 1200 éléments/mm³, une neutropénie et une lymphopénie, et une thrombopénie à 140 000 éléments/mm³.

Des frottis de PMO et un prélèvement sanguin sur tube sec était adressés à notre service afin de confirmer le diagnostic d'une leishmaniose viscérale. Les résultats des examens effectués pour ce patient sont représenté par le Tableau suivant :

Tableau VI : Résultats de diagnostic parasitologique de patient S.D.	
Type de diagnostic	Résultats
ED de PMO	Négatif (-)
Sérologie leishmanienne (IT LEISH)	Positif (+)

4. Discussion :

Cette étude descriptive transversale exhaustive a été effectuée dans le but de diagnostiquer les deux formes cliniques des leishmanioses, qui existent dans notre pays, d'apprécier leurs fréquences et d'apporter le maximum de renseignements sur les aspects épidémiologiques de ces maladies. Le travail était réalisé au niveau du service de parasitologie mycologie médicales du CHU de Tlemccen.

Il s'agit de la première étude qui traite la question des leishmanioses dans notre CHU d'où son originalité. Malgré les limites rencontrées en matière du matériel (faible approvisionnement en réactifs et absence des milieux de culture) on a pu tirer quelques conclusions sur les cas de leishmanioses diagnostiqués au sein de notre service.

Les maladies à transmission vectorielle (MTV) ont connu une explosion ces dernières années en Algérie. Leur incidence s'est multipliée par 5 de 1989 à 2012, en passant de 5,23 à 27,12 cas pour 100 000 habitants ^[36].

Dans notre étude, les cas recensés présentent essentiellement des lésions cutanées positives sur le plan parasitologique alors que cette positivité était vue dans seulement deux cas coinfectés par la LV et la maladie virale chronique (HIV+).

Nous exposerons en un premier temps les résultats du diagnostic parasitologique de la leishmaniose cutanée accompagné d'une confrontation avec les données de la littérature.

Le diagnostic de la LC dans ce présent travail a reposé sur la mise en évidence du parasite *Leishmania sp* par un examen direct après coloration au Giemsa des frottis confectionnés à partir des sérosités dermiques.

Les résultats de ce diagnostic ont objectivés la positivité chez 12 malade de notre série avec une fréquence de 34%, ce pourcentage apparait proche de celui retrouvé par Djeddar Mihoubi. I dans la région de Constantine et sur une période de 03 ans (septembre 2003 à mai 2006), où elle a recensé 137 cas positifs sur 302 cas prélevés (42%) par l'examen direct ^[23].

Concernant la répartition de cette localisation en fonction de l'âge, on a remarqué que toute les tranches d'âge peuvent être touchées, cela concorde avec les résultats retrouvés dans tous les travaux algériens qui ont précédé ce travail ^[37]. Néanmoins, chez certains auteurs, on remarque que les enfants étaient les plus atteints comme c'est le cas dans le travail de Zait. H et al qui a montré que la tranche d'âge de 0 à 10 ans était la plus touchée avec 143 cas (37 %), parmi les 386 cas diagnostiqués ^[15].

Dans notre série, le sexe ratio était de 0.49, en faveur du sexe féminin (67%), contrairement aux résultats décrits par Zait. H qui a trouvé le sexe ratio= 0,95^[15].

Le nombre de lésions retrouvé chez nos patients variait d'une à trois localisations, dont ceux présentant trois lésions représente la majorité des cas (58.33%), ce résultat diffère avec celui retrouvé par Zait. H ou elle a décrit que la majorité de ses patients présentent une seule lésion (52 %).

Le siège des lésions de notre série se voit au niveau des parties découvertes du corps, dont le membre supérieur (58%) était le plus atteint cette observation ne concorde pas avec d'autres études faites par Zait. H et DjeddarMihoubi. I qui ont retrouvé que le visage était le siège de prédilection dans leur séries de malades à un pourcentage de 52.5% et 61.8% respectivement.

Nos résultats montre que 58% des patients ont présentés des lésions ulcéro-croûteuses, tandis que les nodules inflammatoires étaient retrouvés chez 42% de nos malades. Notre observation diffère avec celle observés par Zait. H, avec 48,1 % de personnes présentant des lésions de type inflammatoire. Cela peut être expliqué par l'origine et le nombre des patients recensé par cet auteur et qui a montré que la majorité des cas inclus dans cette étude appartenait aux wilayas du centre algérien, zone où se localise la LCN responsable de lésions inflammatoire.

L'évolution des lésions, variait entre moins de 30 jours à plus de 04 mois dont 33,33% des patients se sont présentés dans notre service avec une évolution ne dépassant pas 01 mois, même pourcentage était retrouvé chez les malades ayant consulté après un délai de 02 à 03 mois d'apparition des lésions. Ces observations peuvent être expliquées pour les premiers malades par l'aspect creusé et douloureux des lésions alarmant par conséquent les patient, par contre pour le second groupe, le caractère indolent des lésions retarde la consultation.

La majorité des malades atteints de LC recensés dans notre étude provenaient de la région d'El Aricha soit 41.67% contre 8.33% qui proviennent de la ville de Tlemccen. Les questionnaires révèlent que 25% des patients avaient effectué des déplacements dans les foyers connus comme endémique pour la LC par contre la majorité de nos patients avait, semble-t-il, contracté la maladie au sein de leurs résidences habituelles. Ce résultat ne coïncide pas avec ceux retrouvés par Zait. H et qui a montré que 57.5% de ses cas diagnostiqués ont séjourné dans des zones endémiques^[15].

Dans cette série d'étude, 58.33% des cas diagnostiqués n'ont pas reçus un traitement antérieur au diagnostic parasitologique alors que 41.67% ont pris des antibiotiques et des injections sous dosées de Glucantime®.

La fréquence de la leishmaniose viscérale diagnostiquée dans notre service représente 17% des cas prélevés ce qui correspond à deux cas positifs, chacun de ces deux cas a été diagnostiqué par une technique différente (l'examen direct de PMO pour un cas et la sérologie pour l'autre cas). La négativité de frotti de PMO chez le deuxième malade peut être expliquée soit par un prélèvement mal fait soit par un pauciparasitisme retrouvés au niveau de la moelle osseuse.

La positivité de la sérologie, associée à un examen direct négatif chez le sujet immunodéprimé (en particulier HIV+), était trouvée dans d'autres études parmi ces dernières on cite celle faite par K. Aknouch et al qui ont travaillé sur 15 cas coinfectés^[38].

Concernant la LV, ce faible nombre de cas positifs diagnostiqués dans notre étude ne permet pas de tirer des conclusions sur la fréquence réelle de cette forme dans notre région.

A la fin de ce travail, on peut dire que notre objectif principal est atteint et se voit beaucoup plus pour la localisation cutanée de ces maladies. Cette étude peut servir comme un point de départ pour d'autres travaux portant sur le problème discuté.

CONCLUSION

Les leishmanioses sont des maladies à transmission vectorielle (MTV) est représentent un problème de santé public dans le monde qui compris l'Algérie. Ces parasitoses font partie des maladies à déclaration obligatoire de notre pays.

L'Algérie connaît ces dernières années une augmentation remarquable de l'incidence annuelle des deux formes cliniques de la leishmaniose. Cette extension est de plus en plus importante à travers tout le pays avec une coexistence des deux formes de la maladie au sein d'un même foyer.

Dans la région de Tlemccen, la fréquence de ces maladies est mal établie à cause de l'absence de diagnostic parasitologique qui permet de confirmer les cas déclarés et de faire la part des choses entre les deux affections présentant les mêmes tableaux cliniques avec cette parasitose.

Les problèmes marqués en amant nous ont poussés à réaliser un travail qui vise à préciser la vraie fréquence des leishmanioses dans cette région avec preuve parasitologique. Les résultats obtenus dans cette étude ont permis de déterminer cette fréquence au niveau de la wilaya de Tlemccen et d'identifier les différentes régions touchées.

L'outil de diagnostic utilisé pour la mise en évidence du parasite *Leishmania* était représenté par l'examen direct des différents frottis (cutané s'il s'agit d'une LC ou de la PMO s'il s'agit d'une LV). Cette examen était associé à une technique sérologique (le test IT LEISH) en cas de LV.

L'examen direct reste le moyen du diagnostic de certitude de première intention en matière de LC et LV mais il nécessite pour sa fiabilité des manipulateurs compétents et expérimentés afin d'effectuer une bonne lecture des frottis.

Malgré les limites rencontré au cours de notre travail représentées par :l'absence du milieu de culture NNN et les différentes techniques sérologiques de haute sensibilité, on a pu donner une description générale des leishmanioses diagnostiquées au sein de notre laboratoire ainsi que leurs caractéristiques.

Nous avons aussi constaté que la LC existe avec deux aspects cliniques ulcéro-croûteuse et inflammatoires, au niveau de la wilaya de Tlemccen.

Nos observations soulignent l'importance du diagnostic parasitologique, que ce soit direct ou indirect, des leishmanioses pour aider les cliniciens à la bonne prise en charge des malades d'un côté et permettre aux épidémiologistes de faire une déclaration documentée d'un autre côté.

A la fin il faut dire que la surveillance de la situation épidémiologique en matière des maladies à transmission vectorielles et Le suivi biologique des patients doivent être réguliers et nécessitent une collaboration étroite entre biologiste, épidémiologiste et clinicien.

Tableau II : Traitement des leishmanioses.

	Molécules	Mode d'action	Pharmacocinétique	Indication/Posologie	Effets indésirables
Produits classiques	Antimoniés pentavalents : - Glucantime® (antimonié de méglumine) - Pentostam® (stibogluconat de sodium)	-Action inhibitrice sur l'oxydation glycolytique et la production d'ATP -Concentration dans les macrophages et transformation en métabolites actifs	-Absorption digestive nulle -Possibilité d'accumulation -Elimination urinaire rapide	-Glucantime® : 20mg/kg/j, IM pdt 20 j (LC) ou 28 j (LV, LCM) -Début d'administration est progressif jusqu'à l'obtention de dose complet au 3 ^{ème} j du traitement.	-Type anaphylactique Frisson, hyperthermie, ... etc, Troubles digestives et cardiaques.
	Amphotéricine B : -Desoxycholat®	-Modification de la perméabilité de membrane des leishmanies. -Action sur les macrophages en stimulant leur production et leur capacité phagocytaire.	-Concentration plasmatique efficace est rapidement atteinte. - Demi-vie courte - élimination urinaire lente	- Perfusion lente en IV ; 1j/2j - administration progressive jusqu'à la dose maximale en 4 ^{ème} jr. - On ajoutant à la préparation un anti-histaminique ou corticoïde pour éviter les intolérances.	- Signes d'intolérances (frisson, céphalées, hypotension, vertige....) - Toxicité rénale et hématologique.
	Amphotéricine B liposomale : -Abelcet®	- Accumulation dans les tissus infectés et les cellules. - Pas de dissociation dans la circulation sanguine où elle se capte par les cellules phagocytaires.	- Demi-vie longue = 26-28 h - accumulation dans : foie , rate...	- Perfusion lente en IV - Indiqué pour la LV ;dose 5 inj quotidien de 3à4 mg/kg - Une injection supplémentaire au 10 ^{ème} jr.	- Toxicité inférieure à celle de la drogue libre.
	Pentamidine : -Pentacarinat®	- inhibition de synthèse d'ADN parasite par blocage de la thymidine synthétase et par fixation de l'ARNt	- Absorption digestive nulle - Distribution rapide - Elimination urinaire lente	- Dose : 4 mg/kg à jeun en 1j/2j ; voie parentérale de 3 à 5 injections.	- type allergiques

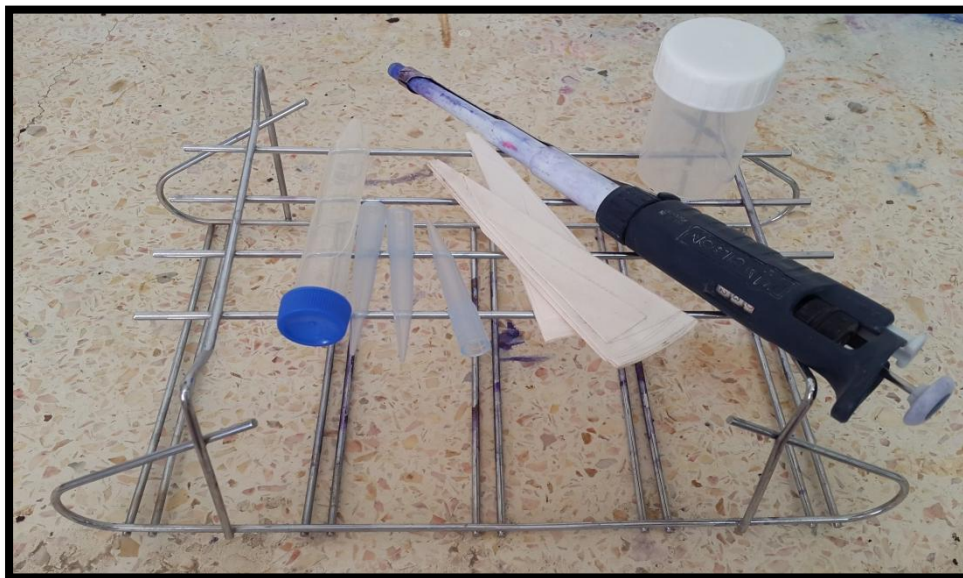
Produits alternatifs	Mitéfosine® (antitumorale)	-Active sur la membrane des leishmanies (sur la synthèse des phospholipides) - Activité immunomodélatrice sur : Lym T et macrophages.	- Absorption intestinale rapide - T1/2 =08 j	- S/f comprimé de 50 mg - Dose : 50 à 100 mg/j (selon le poids soit >25 kg ou <25 kg) pdt 04 semaines, et enfant : 2.5mg/kg - Traitement de LV résistant aux antimonies. - CI : femme enceinte	- Troubles digestives légères : vomissement, diarrhée.....
	Aminosidine sulfate : -Paromomycine®	- inhibition de synthèse protéique parasitaire (fixation au ribosome)	- Pic plasmatique 40mg/L en 1h (voie parentérale)	- LV : inj IM ou perfusion IV ; dose de 15mg/kg/j pdt 10 j.	-Toxicité rénale
	Imidazolés : -Itraconazole® -Kétoconazole®	- inhibe le cyt P450. - Bloque la synthèse des stérois membranaires.	- Distribution dans les organes profonds - Solubilité accrue en milieu acide et riche en graisse.	- Kétoconazole : comprimés de 20mg - Itraconazole : gélule de 100mg. - Indiqué pour la LC : adulte :200 à400mg/j pdt 1à 3mois	- Rares, - Kétoconazole : signes d'intolérances digestives et cutanées sont exceptionnels.
	Allopurinol	-Incorporation avec l'ARN des leishmanies : effet léthal	- Elimination urinaire rapide.	- Efficacité in vitro	-Troubles digestives et des intolérances cutanées. -Hypersensibilité généralisée rare
	Atovaquone	-Inhibiteur sélectif des transporteurs d'e mitochondriaux. -Active contre les sporozoaires.			
	Interféron gamma	-Immunomodélateur		-En association avec l'antimoniate de méglumine -Efficace pour la LV et LCM -Pas utilisé en pratique courante.	

ANNEXES

ANNEXE 01 : Matériels du laboratoire.



***Matériels de la coloration :**

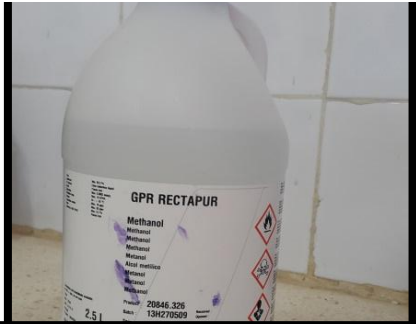


ANNEXE 02 : Réactifs de notre laboratoire :



*Colorant « Giemsa »

*Eau oxygénée



*Méthanol



*Eau distillée

ANNEXE 03 :

***le test « IT LEISH »**





Les composants de IT LEISH

ANNEXE 04 :

Le milieu NNN (Novy-McNeal-Nicolle)

Préparation du milieu de culture NNN :

1-La verrerie, soigneusement lavée, est stérilisée au Poupinel à 180°C pendant 40 mn.

2-Préparation de la gélose :

Bacto-agar Difco10g

NaCl pur06g

Eau distillée.....01 litre

Mettre le NaCl dans l'eau froide et chauffer. Quand l'eau frémit ajouter le Bacto-agar et remuer avec un agitateur jusqu'à dissolution complète. Laisser bouillir 5 mn.

Répartir en tubes à visse à raison de 8 ml de gélose par tube.

Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 mn.

Conserver à +4°C.

3-Prélèvement du sang par ponction cardiaque du lapin.

Prendre un lapin adulte et en bonne santé, le placer sur le dos et nettoyer la peau à l'alcool iodé. Repérer la zone de forts battements cardiaque et piquer l'aiguille, enfoncée en inclinant à 30° environ. Lorsque le sang arrive, aspirer lentement sans bouger la seringue. Retirer l'aiguille d'un seul coup après avoir ponctionné 40 ml de sang.

Le sang est immédiatement refoulé, devant une flamme, dans un Erlenmeyer contenant 3 ml de citrate de sodium à 10 % et 250.000 UI de pénicilline .Bien agiter le flacon d'un mouvement circulaire pour mélanger l'anticoagulant au sang.

4-Mélange du sang et de la gélose :

Placer les tubes de gélose dans l'eau froide chauffée à ébullition pour faire fondre la gélose. Laisser refroidir jusqu'à 45°C et ajouter 1 ml de sang par tube. Agiter sans faire de bulle. Incliner sur un portoir et laisser refroidir. Placer ensuite 24 h à l'étuve à 37°C pour contrôle de stérilité.

Conserver le milieu au réfrigérateur a + 4°C pendant 1mois au maximum.

ANNEXE 05 : Fiches de renseignement de la LC et de la LV.

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE TIDJINI DAMARDJI
TLEMCEN
SERVICE DE MICROBIOLOGIE
UNITE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE
LEISMANIOSE CUTANEE

N° d'enregistrement :

NON :PRENON :

AGE :SEXE :

Originaire de :

Adresse :

Séjour ces deux dernière années :

Lésion (s) cutanée (s)

Nombre :Siège :

Aspect :

Date d'apparition de la lésion :

TRAITEMENT :

La Sérologie a-t-elle été demandée :

Date :

Résultat :

La recherche de Leismanies faite le :

• **Résultat :**

Examen direct :

Culture :

**CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE TIDJINI DAMARDJI
TLEMCEM
SERVICE DE MICROBIOLOGIE
UNITE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE**

DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE LA LEISHMANIOSE VISCERALE

N° d'enregistrement :

Nom : Hôpital :

Prénom : Service :

Date de naissance : Sexe : Lit N° :

Origine géographique précise :

Notion de séjour en zone d'endémie :

Médecin traitant :

Date du prélèvement :

Date du début de la maladie :

SYMPTOMATOLOGIE CLINIQUE :

Fièvre..... Hépatomégalie.....

Pâleur..... Adénopathies.....

Splénomégalie..... Hémorragies.....

Autres symptômes..... Amaigrissement.....

SYNDROME BIOLOGIQUE :

Anémie..... Thrombopénie.....

Leucopénie..... Formule blanche.....

Electrophorèse des protéines.....

Autres signes.....

Le malade a-t-il déjà traité..... Par.....

En particulier a-t-il reçu : - glucantime.....

- Lomidine.....

- Corticoïdes.....

Références Bibliographiques

- [1]. ANOFEL (Association Françaises des Enseignants de parasitologie et mycologie), Leishmanioses, 2014.
- [2]. P. Aubry. Leishmanioses, diplôme de médecine tropicale des pays de l'océan indien, 2012, P 01-08.
- [3]. D. Benyahia. 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.
- [4]. C. Matte. 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.
- [5]. H.S. Touria. Profil épidémiologique et biologique de la leishmaniose viscérale infantile dans l'ouest algérien, mémoire d'obtention de diplôme de magister option parasitologie, 2012.
- [6]. L. Rezalleh. Evaluation in vitro de l'activité antileishmanienne de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien Laghouat et Ain oussara,mémoire de fin d'étude de résidanat en parasitologie mycologie médicale, 2008-2009
- [7]. H.Tammy. La leishmaniose viscérale infantile, à propos de 73 cas à Fès; mémoire d'obtention de doctorat en médecine,thèse N°089/11, Mai 2011.
- [8]. J.P. Dedet. Leishmanies, Leishmanioses : biologie, clinique, thérapie ; Paris,maladies infectieuses, 8-506-A-10, 2009.
- [9]. E. Caumes, P.Bourée, Diagnostic des parasitoses cutanées en France, Volume 2008, Issue 399, February 2008, Pages 55-62.
- [10].W.G. Christell,G.Eperon,A.Mauris.Leishmanioses cutanées de l'ancienmonde ; article thématique : Médecine des voyages ;Revue Med Suisse 2013.

- [11]. E. Papot, J. Dufour, D. Ste Marie, E. Clyti, D. Blanchet, B. Carme, P. Couppié. La leishmaniose à *Leishmania braziliensis* en Guyane : expérience du service de Dermatologie, Volume 39, Supplement 1, June 2009, Page S66
- [12]. M Wery Livre protozoologie, Editeur de Boeck, vo l279 ,P 127.
- [13]. <http://www.esccap.fr/maladies-vectorielles/leishmaniose.html>.
- [14]. A. Izri, S. Bellazzoug. Diagnostic de laboratoire des leishmanioses rencontrées en Algérie ; dossier scientifique supplément au N°396, P 3-10.
- [15]. B. Faucher, R. Piarroux ,Actualités sur les leishmanioses viscérales, Volume 32, Issue 9, September 2011, Pages 544-551, P 547.
- [16]. D. Peace. Leishmaniasis. Department of Paediatrics, Mater Dei Hospital, Tal-Qroqq , Msida MSD 2090, Malta; Journal of Infection (2014) 69, S10eS18.
- [17]. F. Pralong , M. Lambert , P. Bastien , J.P. Dedet . Leishmanioses et immunodépression, aspects biocliniques actuels, Revue française des laboratoires, mars 1997, N ° 291 ; P 161-168, 164, 17 janvier 1997.
- [18]. E. Gambarelli, R. Piarroux, D. Lamouroux, C. mary, S. Dunan et H. Dumon. La leishmaniose viscérale à l'ère du SIDA : les difficultés du diagnostic biologique. Méd Mal Infect. 1994 ; 24, Spécial : 572-5.
- [19]. H. Zait, B. Hamrioui, Leishmanioses cutanées en Algérie Bilan de 386 cas diagnostiqués au CHU Mustapha d'Alger de 1998 à 2007, Volume 2009, Issue 412, May 2009, Pages 33-39.
- [20]. Bachi. F. Amélioration des moyens diagnostiques des leishmanioses en Algérie. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences Médicales, 2001.
- [21]. P. Buffet. Leishmanioses cutanées ; revue med suisse ; 98-395-A-15 ; 2008.
- [22]. Karim Aoun* and Aïda Bouratbine. Cutaneous Leishmaniasis in North Africa: a review; Institut Pasteur de Tunis, Laboratoire de Parasitologie, 21, 14, 2014.
- [23]. I. Djezzar-Mihoubi. Etude des leishmanioses diagnostiquées au centre hospitalo-universitaire ben baddis de Constantine ; thèse en vue de l'obtention du diplôme : doctorat d'état es-microbiologie, 2006.

- [24]. A. H. Moncef, H. Lahlou, M. Alami, A. Filali Baba, Gh. el Youssfi, L. Ismaili, S. Chaouki, S. Atmani, M. Hida .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), Volume 2011, Issue 429, February 2011, Pages 55-60.
- [25]. P. Bouree , F. Botterel , P. Resende . Sérologies parasitaires en pratique courante : intérêt et limites ; Revue Française des Laboratoires, octobre 2004, N° 366 ; P 51-57-59.
- [26]. M. Belkaid, S. Belazzouq, B. Hmrrioui. Livre de Guide pratique du laboratoire de parasitologie (Tome 2), diagnostic immunologique. Page 84, 36. 1988.
- [27]. Dedet. J.P. Les leishmanioses, Ed, Ellips Paris 1999.
- [28]. T. H. Duong, D. Richard-Lenoble. Diagnostic des parasitoses à parasites sanguicoles, Volume 2008, Issue 399, February 2008, Pages 29-39
- [29]. C. Rapp, R. Roui. Les leishmanioses. AKOS <<<<<<<< encyclopédie pratique de médecine ; 4-1310, 2001 ; p5.
- [30]. Centre National de Référence des Leishmanioses informations pratiques : modalités de fonctionnement (www.parasitologie.univ-montp1.fr)
- [31]. E. Rosenthal, P. Marty. Actualités sur la leishmaniose viscérale méditerranéenne, Volume 30, Supplement 2, June 2009, Pages S24-S28
- [32]. Association française des enseignants de parasitologie et mycologie médicales, Livre Abrégés de parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales, 2^{ème} édition. P 83-90
- [33]. Y. Jabourri. Profil épidémiologique, thérapeutique et évolutif de la leishmaniose cutanée (à propos de 52 cas), 2013.
- [34]. E. Chouih, F. Amri, N. Bouslimi, E. Siala, K. Selmi, N. Zallagua, R. Ben Abdallah, A. Bouratbine, K. Aoun. Les cultures sur milieu NNN dans le diagnostic biologique des leishmanioses. Pathologie Biologie 57 (2009) 219-24.
- [35]. M. Develoux Prélèvements parasitologiques en dermatologie, Volume 2, Issue 4, November 2005, Pages 161-169

[36].M. Taleb.S. Beradai Evolution de la leishmaniose cutanée en Algérie, Quel impact du climat, vol 2, 2014 ;p 93-123.

[37].Dedet JP. Les leishmanioses tégumentaires In: Dedet JP. Les leishmanioses. AUPELF-UREF Ed., Ellipses, Paris, 1999, P 173-178.

[38]. K. Aknouche, F. Z. Aissat, A. Amrane, A. Ramaoune, B. Hamrioui , Leishmaniose viscérale chez des adultes infectés par le VIH-1. Étude de 15 observations 2013 ; Vol. 43 - N° 4HS - p. 24-25

Résumé :

Les leishmanioses, cutanées et viscérale, représentent les maladies vectorielles les plus fréquentes en Algérie. Leur confirmation biologique est nécessaire avant l'administration des traitements contraignants, coûteux et toxiques qui leurs sont réservés.

L'objectif de cette étude descriptive transversale est de diagnostiquer les leishmanioses dans le service de parasitologie mycologie médicale au CHU de Tlemcen afin de décrire la situation épidémiologique de cette maladie dans la willaya de Tlemcen.

Durant la période d'étude s'étalant de septembre 2014 à avril 2015 on a recensé 12 cas de la LC parmi 35 patients recrutés et 02 cas de la LV parmi les 12 malades suspect atteints. Les résultats des cas positifs ont montré que 34% et 17% de la population étudiées sont atteints de la LC et la LV respectivement. L'examen direct est l'outil remarquable du diagnostic des leishmanioses dans notre laboratoire mais on doit l'accompagner par les autres méthodes comme la culture et les techniques sérologiques afin de corriger un résultat faussement négatif.

Ce travail nous a permis de conclure que la willaya de Tlemcen est très touchée par cette parasitose, cela est confirmé par les résultats retrouvés et qui affirme la coexistence des deux formes de la LC (LCZ et LCN) en plus de la forme viscérale.

Mots clés : Diagnostic, leishmaniose cutanée, leishmaniose viscérale, examen direct, Tlemcen.

Abstract: Cutaneous leishmaniasis CL and visceral leishmaniasis VL belong to vectorial diseases. These ones are the most frequent diseases in Algeria. Because their treatments are restrictive, expensive and at the same time toxic, a biological analysis is necessary.

The purpose of this study is to diagnose the two types of leishmaniasis in the service of parasitology mycology which is located at the hospital of Tlemcen in order to describe the epidemiological status of these diseases in Tlemcen city. To reach such an aim, a transversal descriptive study has been conducted.

The period of the study last eight months from September 2014 to April 2015. Direct examination analysis has been used to diagnose the two types of leishmaniasis. The results have shown that 15 cases of CL have been identified among 35 patients enrolled and 02 cases of VL among 12 patients with suspected leishmaniasis which means statistically that 34% and 17% of the study population were affected by CL and VL respectively.

The direct examination analysis has been used with great success to diagnose these types of leishmaniasis but in cases of suspected results especially false negative results, other analysis such as specific culture in medium NNN and serologic techniques must be carried out.

Finally, we can conclude Tlemcen town is remarkably affected by these types of leishmaniasis VL and CL.

Keywords: Diagnosis, cutaneous leishmaniasis, visceral leishmaniasis, direct examination, Tlemcen.

ملخص:

داء الليشمانيا الجلدي و العضوي يعتبر من الأمراض المنتقلة بالنواقل الأكثر شيوعا في الجزائر. التحليل البيولوجي ضروري لتأكيد قبل أخذ العلاجات الضرورية، السامة و المكلفة، للوقاية منه.

الهدف من هذه الدراسة يتمثل في تشخيص داء الليشمانيا بمخبر الطفيليات و الفطريات الطبية بمستشفى جامعة تلمسان لوصف وضعه الوبائي في ولاية تلمسان.

خلال فترة الدراسة الممتدة من سبتمبر 2014 إلى أبريل 2015، كانت هناك 12 حالة داء الليشمانيا الجلدي من بين 35 مريض مسجل وحاليتين من داء الليشمانيا العضوي من بين 12 مريضا محتمل حامل للمرض. وقد أظهرت نتائج الحالات الإيجابية أنه 34% و 17% من الفئة المدروسة مصابين بداء الليشمانيا الجلدي و داء الليشمانيا العضوي على التوالي. الفحص المباشر هو أداة لتشخيص داء الليشمانيا في مختبرنا ولكن يجب أن يكون مصحوبا بأساليب أخرى مثل الزراعة والتقنيات المصلية لتصحيح نتيجة سلبية.

هذا العمل يتيح لنا أن نستنتج أن ولاية تلمسان معرضة لهذا الطفيلي، و هذا مؤكد بالنتائج المحصل عليها التي تبين تواجد شكلين من داء الليشمانيا الجلدي (داء الليشمانيا الجلدي الجنوبي و داء الليشمانيا الجلدي الشمالي) بالإضافة الى داء الليشمانيا العضوي.

كلمات البحث: التشخيص، داء الليشمانيا الجلدي، داء الليشمانيا الحشوي، الفحص المباشر، تلمسان.