

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

A ma très chère mère FOUZIA

*Comment te dire en quelques lignes tout l'amour, toute la reconnaissance et toute l'estime
que j'ai pour toi
Ta tendresse, ta présence et ton soutien inconditionnel demeurent pour nous tous une source
de quiétude et de motivation.
Les sacrifices que tu as consentis pour le bien être de chacun d'entre nous est certainement
pour beaucoup dans ce que nous sommes devenus aujourd'hui.*

A mon chère père RABEH

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le respect et l'amour que je vous porte.
Vous vous êtes investi à me transmettre le sens de la responsabilité, de la persévérance et de
la droiture.
Vous nous avez inculqué le sens du sacrifice afin de construire notre réussite*

***Puisse le bon Dieu vous accorder tout le bonheur et la sérénité
que l'on vous souhaitez et que vous méritez.***

Ma chère sœur & Mes chers frères

« Hadil, Akram & Abd El Rahim »

*Je ne peux pas exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'Amour et de tendresse
envers vous ; je vous souhaite un avenir radieux plein de réussite.*

A la mémoire de mon grand-père Mohamed et ma grand-mère Faroudja

*Puissent vos âmes reposent en paix. Que Dieu, le tout puissant, vous
couvre de Sa Sainte miséricorde et vous accueille dans son éternel paradis.*

A mon grand-père Kadour et ma grand-mère fatma

pour son affection, sa patience, et ses prières.

A ma tante Hakima, tata Souad, et mes anges Ilyes, Mouna et Nada

A Mes amis (es)

Yacine, Hocine, Hadi, Nassima, Imane, Nadia, Mila, Silia, Thiziri, Karima

HANAA

Dédicaces

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à ceux qui me sont chers,

A MA CHERE MERE Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A MON CHER PERE qui ne cesse constamment de m'entourer de son affection grandissant, de m'enrichir de son expérience, de me prodiguer ses conseils, et qui mon permis de mieux comprendre la vie.

Je vous dédie ce travail en témoignage de ma reconnaissance infinie pour les énormes sacrifices consentis à mon éducation.

A MES SŒURS Zahia et Lylia pour leur patience, soutien et leurs sentiments d'amour aux moments les plus difficiles. Je vous souhaite plein de succès, de joie et bonheur. Que dieu vous garde et illumine vos chemins. Ainsi qu'à mes nièces Lyticia et Ania.

A MON FRERE Yanis, que dieu te garde, je te souhaite la réussite dans tes études et à mes beaux-frères Redouane, Adel et Koussaila.

A MON FIANCE Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entouré. Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.

A MA BELLE FAMILLE Je dédie ce travail à ce qui m'a été toujours la garante d'une existence paisible et d'un avenir radieux

Nadia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de bonheur, celui qui s'est sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père. Que dieu vous garde pour moi et vous accorde longue et heureuse vie.

A mes adorables frères, Med Amine, Ali Mounir et Aymen, qui étaient toujours là pour moi et qui m'ont apporté leur précieux soutien.

A ma très chère sœur Malak et ma belle-sœur Imane, je vous souhaite une vie heureuse, pleine de bonheur et réussite.

A mon cher Abdou, je ne pourrais jamais exprimer l'amour que j'ai pour toi. Je te dédie ce travail en te souhaitant beaucoup de bonheur, de prospérité et de réussite.

*A ma meilleure **Latifa**, qui a su partager mes joies, mes peines et qui me redonne toujours le sourire.*

A ma deuxième famille « AOUDIA », que Dieu vous garde et vous préserve.

A mes grands-parents maternels et paternels, que Dieu vous donne la santé et vous accorde une longue vie.

A mes tantes et oncles ; cousins et cousines.

A mes p'tits anges : Iyad, Mizou et Douaa, je vous souhaite un avenir radieux et plein de réussite.

A mes consœurs : Houda, Ikram, Amina, Selma, Imane, Sissi, Samia, Amel, Hana, Hanane, Mila et Thiziri, je vous remercie pour tous les moments qu'on a passés ensemble, et je vous souhaite une vie pleine de succès et de bonheur.

A mes chers amis : Yacine, Abdou, Mohamed, Hichem, Hocine et Achiou, je vous souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.

A tous mes enseignants qui m'ont formé tout au long de mon cursus et à tous ceux qui me sont chers, merci.

Imane

Liste Des Figures

Figure 1 : Taxonomie des Leishmania connus dans le monde.....	07
Figure 2 : Formes promastigotes de <i>Leishmania</i>	08
Figure 3 : Les formes amastigotes.....	09
Figure 4 : Phlébotome mâle et femelle.....	10
Figure 5 : Cycle biologique de <i>Leishmania</i>	13
Figure 6 : Répartition géographique des leishmanioses cutanée et cutanéomuqueuse.....	14
Figure 7 : Répartition géographique de la leishmaniose cutanée en Algérie en 2009.....	18
Figure 8 : Lésions ulcéro croûteuses. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	21
Figure 9 : Lésion Inflammatoire. Avant et après guérison. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	21
Figure 10 : Seringue (1) et Vaccinostyle (2). Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	32
Figure 11 : Lame porte-objet et lamelle. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	32
Figure 12 : Bec bunsen. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	32
Figure 13 : Bain Marie. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	32
Figure 14 : Microscope optique. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	32
Figure 15 : Différentes verreries. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	32
Figure 16 : Etuve d'incubation à 24°C et Etuve d'incubation à 37°C. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	33

Figure 17 : Etapes de préparation de la gélose NNN. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	34
Figure 18 : Répartition de la gélose NNN dans les tubes à vis. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	34
Figure 19 : Stérilisation de la gélose NNN. Tubes à vis. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	34
Figure 20 : Contention du lapin. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	35
Figure 21 : Rasage de la partie thoracique du lapin. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	35
Figure 22 : Désinfection de la partie thoracique du lapin. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	35
Figure 23 : Ponction du lapin. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	36
Figure 24 : Récupération de sang du lapin. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	36
Figure 25 : Etapes de Préparation du milieu NNN. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	36
Figure 26 : Composition du Milieu blanc d'œuf. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	37
Figure 27 : Séparation des blancs d'œufs. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	38
Figure 28 : Agitation du milieu blancs d'œufs. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	38
Figure 29 : Répartition du milieu blanc d'œufs sur les tubes stériles. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	39
Figure 30 : Coagulation du blanc d'œufs au bain Marie à 100°C. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	39

Figure 31 : Prélèvement avec un vaccinostyle. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	40
Figure 32 : Etapes de coloration des frottis par le Giemsa.....	42
Figure 33 : Lecture des frottis colorés. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	43
Figure 34 : Formes amastigotes de <i>Leishmania sp.</i> Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	43
Figure 35 : Forme amastigote libre de <i>Leishmania sp.</i> Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	44
Figure 36 : Ponction aspiration. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	44
Figure 37 : Premier repiquage des milieux. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	45
Figure 38 : Deuxième repiquage des milieux. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	46
Figure 39 : Formes promastigotes. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU de Tizi Ouzou. Novembre 2018- Février 2019.....	46
Figure 40 : Répartition de la population étudiée selon le sexe. CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.....	47
Figure 41 : Répartition de la population étudiée selon la wilaya d'origine, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.....	48
Figure 42 : Répartition de la population étudiée selon la notion de séjour, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.....	49
Figure 43 : Répartition de la population étudiée selon le siège des lésions, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.....	50
Figure 44 : Répartition de la population étudiée selon le type des lésions, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.....	51

Figure 45 : Répartition de la population étudiée selon les résultats de l'examen direct, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Fevrier 2019.....	52
Figure 46 : Répartition de la population étudiée selon les résultats de la culture, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.	53
Figure 47 : Répartition des cas positifs selon le sexe, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.	54
Figure 48 : Répartition des cas positifs selon la wilaya d'origine, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.	55
Figure 49 : Répartition des cas positifs selon la notion de séjour, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.	56
Figure 50 : Répartition des cas positif selon la wilaya de séjour, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.....	57
Figure 51 : Répartition des cas positifs selon le siège des lésions, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.....	58
Figure 52 : Répartition selon le type des lésions, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.....	59

Liste Des Abréviations

ADN : Acide DésoxyriboNucléique.

ATB : Antibiotique.

LC : Leishmaniose cutanée.

LCD : Leishmaniose cutanée diffuse.

LCN : Leishmaniose cutanée sporadique du nord.

LCS : Leishmaniose cutanée sporadique.

LCZ : Leishmaniose cutanée zoonotique.

LV : Leishmaniose viscérale.

MGG: May-Grunwald-Giemsa.

NNN :Novy-Nicole-Neal.

OMS : Organisation mondial de la santé.

PCR : Polymérase Chain Réaction.

VIH : Virus d'Immunodéficience Humaine.

WHO: World Health Organization.

°C: degré Celsius.

Liste Des Tableaux

Tableau 1 : Les principaux foyers de leishmaniose.....	15
Tableau 2 : Répartition de la population étudiée selon le sexe, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.....	47
Tableau 3: Répartition de la population étudiée selon la wilaya d'origine, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.....	48
Tableau 4 : Répartition de la population étudiée selon la notion de séjour, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.....	49
Tableau 5 : Répartition de la population étudiée selon le siège des lésions, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.....	50
Tableau 6 : Répartition de la population étudiée selon le type des lésions, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.....	51
Tableau 7: Répartition de la population étudiée selon les résultats de l'examen direct, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.	52
Tableau 8 : Répartition de la population étudiée selon les résultats de la culture, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.....	53
Tableau 9 : Comparaison entre les résultats de la culture et de l'examen direct.....	53
Tableau 10: Répartition des cas positifs selon le sexe, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.	54
Tableau 11 : Répartition des cas positifs selon la wilaya d'origine, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.....	55
Tableau 12: : Répartition des cas positifs selon la notion de séjour, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.....	56
Tableau 13 : Répartition des cas positifs selon la wilaya de séjour, CHU Tizi Ouzou, Novembre 2018- Février 2019.....	57

Tableau 14 : Répartition des cas positifs selon le siège des lésions, CHU Tizi Ouzou,
Novembre 2018- Février 2019.....58

Tableau 15 : Répartition des cas positifs selon le type des lésions, CHU Tizi Ouzou,
Novembre 2018- Février 2019.....59

Sommaire

Listes des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des abréviations.....	
Introduction.....	1
Problématique.....	2

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I : Généralités

1. Définition.....	3
2. Historique.....	3

Chapitre II : Epidémiologie des leishmanioses

1. Parasite.....	6
1.1. Taxonomie.....	6
1.2. Morphologie.....	7
1.2.1. La forme promastigote.....	8
1.2.2. La forme amastigote.....	8
2. Vecteur.....	9
3. Réservoirs.....	10
4. Le cycle biologique et la transmission.....	12
5. La répartition géographique.....	13
5.1. Dans le monde.....	13
✓ Répartition de la leishmaniose cutanée (LC).....	15
❖ Leishmaniose cutanée localisée.....	16
❖ Leishmaniose cutanée diffuse.....	16
5-2. En Algérie.....	16
➤ Leishmaniose cutanée du Nord (LCN).....	17
➤ Leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ).....	17

Chapitre III : Clinique

- Leishmaniose cutanée à *L. major*.....19
- Leishmaniose cutanée à *L. infantum*.....19
- Leishmaniose cutanée à *L. tropica*.....20

Chapitre IV : Diagnostic des leishmanioses cutanées

- 1. Diagnostic parasitologique.....22
 - 1.1. Examen direct.....23
 - 1.2. La culture.....23
 - 1.3. L'inoculation à un animal.....24
 - 1.4. L'examen anatomopathologique.....24
- 2. Diagnostic moléculaire.....24

Chapitre V : Traitement

- 1. Traitement de la leishmaniose cutanée.....25

Chapitre VI : Prophylaxie

- 1. Prophylaxie humaine.....26
- 2. Lutte contre le réservoir animal.....26
 - 2.1. Les chiens.....26
 - 2.2. Les rongeurs.....26
 - a. Lutte écologique.....27
 - b. Lutte chimique.....27
- 3. La lutte contre les phlébotomes.....27
- 4. La vaccination.....27
- 5. Lutte à Tizi Ouzou.....28

PARTIE EXPERIMENTALE.....

I. Objectifs du travail

II. Matériels et méthodes

- 1. Matériels.....29

1.1. Matériel biologique.....	29
1.2. Matériel du laboratoire.....	29
2. Méthode.....	33
2.1. Préparation du milieu NNN.....	33
2.2. Préparation du milieu blanc d'œuf.....	37
2.3. Prélèvement.....	40
2.4. Examen direct.....	41
2.5. Coloration.....	41
2.6. Mise en culture.....	44
➤ Ensemencement	44
➤ Lecture et repiquage	45

RESULTATS ET INTERPRETATION.....

I. Etude de la population globale.....47

II. Etude des cas positifs.....54

Discussion.....

Conclusion.....

ANNEXE.....

Références bibliographiques.....

Introduction

Les leishmanioses sont des parasitoses très anciennes causées par les protozoaires flagellés appartenant au genre *Leishmania*. Ces infections parasitaires communes à l'homme et à certains animaux sont transmises à l'homme par la pique d'un insecte vecteur (le phlébotome femelle). Les phlébotomes sont des insectes diptères psychodidés, qui appartiennent au genre *Phlébotomus* dans l'Ancien Monde et *Lutzomyia* dans le Nouveau Monde.^[1]

Les leishmanioses comprennent trois entités cliniques : la leishmaniose viscérale, la leishmaniose cutanée (LC) et la leishmaniose cutanée muqueuse. Elles sont largement répandues sur la surface du globe. Elles constituent un problème mondial du fait de l'importance de la population exposée et du nombre de cas qui apparaissent chaque année.^[2]

L'Algérie, qui compte parmi les pays les plus touchés, est concernée par cette zoonose qui sévit à l'état endémique sous trois formes cliniques : la leishmaniose viscérale (LV), la leishmaniose cutanée sporadique du nord (LCN) et la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ).^[3]

En Algérie, les leishmanioses cutanées sont dues à trois espèces de leishmanies : *L.infantum*, responsable de la leishmaniose cutanée du nord, ayant pour réservoir le chien.^[4]

L.major, admettant comme réservoirs *Psammomys obesus* et *Meriones shawi* (rongeurs sauvage)^[5]et enfin, *L.Killicki*^[6]

La leishmaniose cutanée zoonotique à *L. major* longtemps, confinée au Sud du pays, connaît une extension géographique en dehors des foyers naturels de la maladie et devient de plus en plus fréquente au Nord.^[7]

Cette extension à travers le territoire nationale justifie l'intérêt des enquêtes épidémiologiques et met l'accent sur l'importance de l'identification de toutes les espèces de leishmania responsables des leishmanioses cutanées.

Problématique :

La Kabylie est connue depuis longtemps comme étant le foyer le plus actif de la leishmaniose viscérale et de la leishmaniose cutanée sporadique ^[11]. Elle est située au Nord de l'Algérie, de ce fait, elle est concernée par la leishmaniose cutanée sporadique du Nord qui est due à *Leishmania infantum*, transmise par *Phlebotomus perfiliewi* et qui admet comme réservoir à ce jour, le chien domestique.^[12]

Au laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicales du CHU de Tizi-Ouzou, le diagnostic de la leishmaniose cutanée repose sur la mise en évidence du parasite dans les sérosités cutanées. Le diagnostic se fait par l'examen direct après coloration au MGG ou bien après la mise en culture sur le milieu NNN ou Blanc d'œufs.

L'examen direct n'est pas toujours fructueux et la mise en culture est très intéressante car elle permet de redresser un examen direct faussement négatif et permet aussi l'indentification de l'espèce de *Leishmania*.

Les milieux de culture des *Leishmanies* sont préparés au niveau du laboratoire de la faculté de médecine d'une façon irrégulière ou bien approvisionnés par l'institut Pasteur d'Alger qui est le seul producteur.

Pour cela notre étude portera sur la préparation de ces milieux de culture au laboratoire de Parasitologie du CHU de Tizi-Ouzou.

1. Définitions des leishmanioses

Les leishmanioses sont des maladies parasitaires zoo et/ou anthropophiles dues à la multiplication dans le système des phagocytes mononuclées d'un protozoaire flagellé du genre *Leishmania*.

Ce parasite est transmis de mammifères à mammifères par la pique d'un arthropode vecteur **le phlébotome femelle**.^[13]

Le genre *leishmania* appartient à la famille des *Trypanosomatidae*, ce genre comprend plusieurs espèces qui ; bien qu'elles soient toutes de morphologie similaire, causent une panoplie de manifestations cliniques, allant d'affections cutanées qui se résorbent d'elles-mêmes dites « Bouton d'orient » (isolé siégeant sur une partie du corps), à des affections fatales avec dissémination du protozoaire dans tout l'organisme, pouvant en l'absence de traitement entraîner la mort^[14], et d'autres affections cutanéomuqueuses (exacerbations inflammatoires causant de graves défiguration). Elles incluent également d'autres affections rebelles à toute thérapeutique : leishmaniose cutanée diffuse (LCD).

Cette multiplicité des tableaux cliniques résulte à la fois d'un large éventail d'espèces leishmaniennes de la variation de la réponse immunitaire de l'hôte infecté.^[15]

Les leishmanioses sont répandues à la surface de la terre sous forme de foyers de plus ou moins grande importance sur tous les continents à l'exception de l'Océanie.^[13]

2. Historique

Les leishmanioses tégumentaires sont des affections dermatologiques connues depuis longtemps aussi bien dans l'Ancien que le Nouveau monde.^[16-17-18-19-20-21]

L'historique de la leishmaniose cutanée en Algérie remonte à 1860 quand Hamel découvrit la maladie à Biskra.^[22]

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

Le parasite *Leishmania* fut découvert par Sir William Leishman en 1900 dans des frottis de la rate d'un soldat mort de fièvre à Dum-Dum en Inde.

Par la suite, Charles Donovan identifia le même parasite dans une biopsie de rate. Le parasite fut nommé *Leishmania donovani* en leur honneur et la forme amastigote du parasite est communément appelée corps de Leishman-Donovan.^[23]

En 1901, des recherches sur le mode de transmission sont entreprises par les frères sergent à Biskra, foyer historique de la leishmaniose cutanée

En 1908, NICOLLE et SICRE réalisèrent la première culture du parasite. En comparant les organismes de la peau avec ceux de la rate découverte en 1903, ils conclurent à « La presque identité au point de vue morphologique du parasite de LEISHMAN – DONOVAN et de celui de WRIGHT n'est pas contestable ».

La même année, Nicolle et Comte découvrent les mêmes protozoaires chez le chien, puis chez le cheval et le chat. Ils font ainsi de cette affection une maladie commune à l'Homme et aux autres mammifères et ouvrent la voie aux recherches épidémiologiques.^[24]

En 1911, LEMAIRE, décrit le premier cas de leishmaniose viscérale humaine en Algérie^[18]

En 1921, les frères SERGENT et leurs collaborateurs établissent le rôle de vecteurs des phlébotomes en réussissant la transmission du « clou de Biskra » par application de broyats de femelles phlébotomes sur des scarifications cutanées.

En 1923, Les frères Sargent ont diagnostiqué de nombreux cas de leishmaniose cutanée à Mila, au Nord de l'Algérie, et ont remarqué la petite taille du parasite, ils attribuèrent le nom de « Clou de Mila » à cette forme clinique, juste pour la différencier de celle du Sud, caractérisée par la grande taille des parasites.

A partir de 1970, la caractérisation isoenzymatique a permis l'identification des différentes espèces responsables des leishmanioses cutanées, est devenue courante après la publication de l'O.M.S. (1982) sur le sujet.

En 1990, RIOUX *et al.* Présentent une nouvelle classification des *Leishmania*, basée sur les caractères biochimiques et le profil iso-enzymatique des souches des différents complexes.

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE II : Epidémiologie des Leishmanioses

1.Le parasite

1.1. Taxonomie

Les Leishmanies sont des Protozoaires de la classe des Flagellés sanguicoles et tissulaires de la famille des Trypanosomatidae, l'ordre des Kinétopastida, caractérisé par la présence d'un kinétoplaste. Le genre *Leishmania* est subdivisé en deux sous genres en fonction du lieu du développement du parasite au niveau du tube digestif du phlébotome^[25].

- Le sous genre *Leishmania* (l'Ancien Monde), se développe dans la partie centrale de l'intestin du vecteur.
- Le sous genre *Viannia* (Nouveau Monde), se développe dans la partie postérieure de l'intestin de vecteur.

. On regroupe les espèces de *Leishmania* en complexes selon la similarité biochimique de leurs iso-enzymes (figure 1).

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE II : Epidémiologie des Leishmanioses

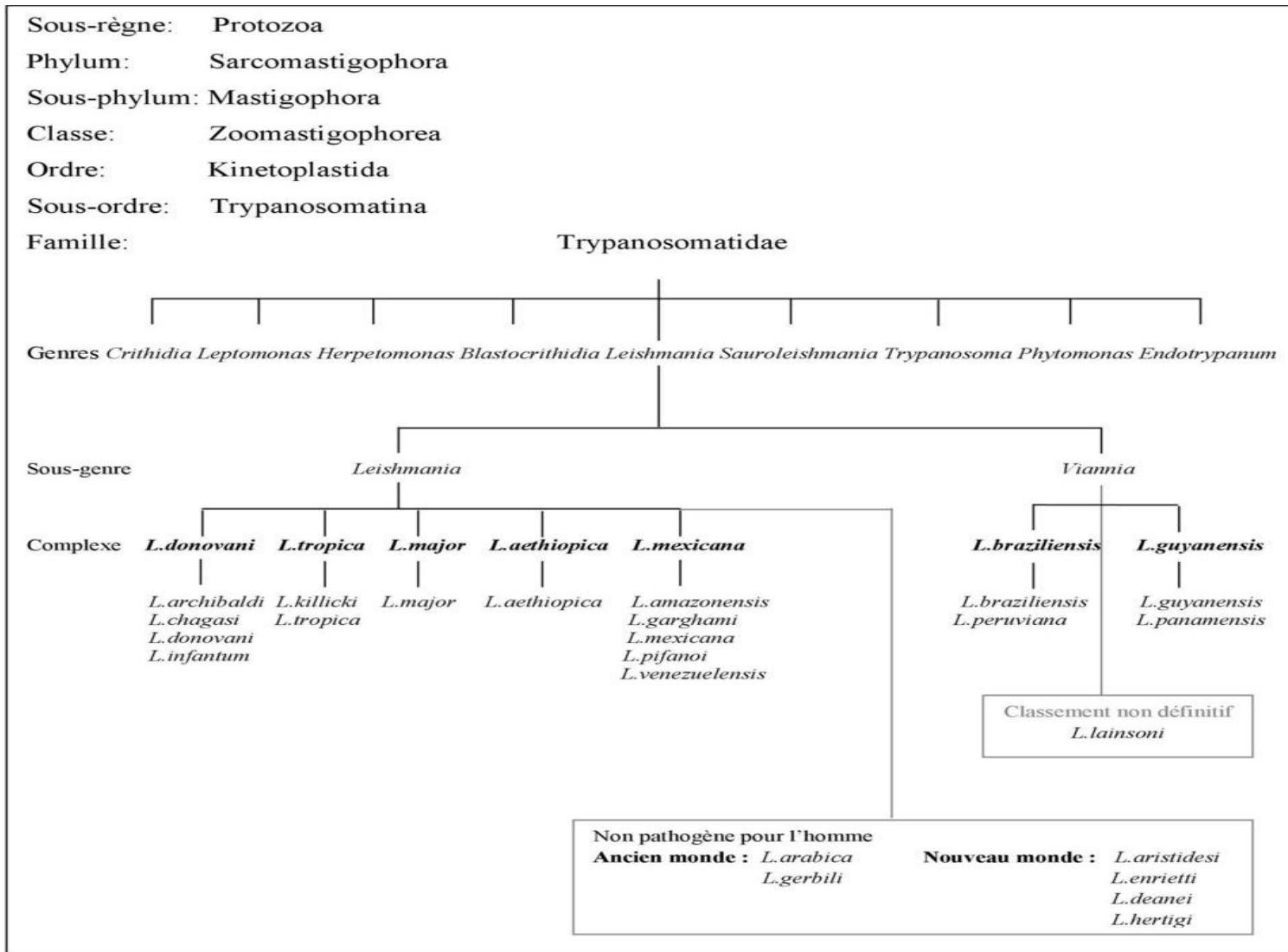


Figure 1 : Taxonomie des Leishmania connus dans le monde [26].

En Algérie, les espèces responsables des deux formes cliniques de leishmanioses appartiennent à deux complexes distincts : le complexe *L. infantum* et le complexe *L. major*[8].

1.2. Morphologie

Les leishmanies se présentent chez leurs hôtes successifs (mammifères et insectes) sous deux stades morphologiques distincts : les amastigotes et les promastigotes.

Les amastigotes se multiplient dans les cellules de l'hôte vertébré, essentiellement dans les macrophages. Les promastigotes se multiplient librement dans l'intestin du phlébotome et dans le milieu de culture.

1.2.1. La forme promastigote

La forme promastigote munie d'un flagelle antérieur, est issue de la forme amastigote aspirée par le phlébotome au cours d'un repas sanguin. Il s'agit d'un organisme allongé, d'environ 10 à 25 μ m de longueur (figure 2). Le noyau est approximativement central, le kinétoplaste est situé en position antérieure et le flagelle libre s'échappe à l'extrémité antérieure. Cette forme se développe par scissiparité dans l'intestin moyen du phlébotome puis migre jusqu'au pharynx. La durée de cette phase varie de 14 à 18 jours. Le parasite est régurgité par l'insecte au moment de son repas sanguin. C'est la forme que l'on retrouve dans les milieux de culture [27].

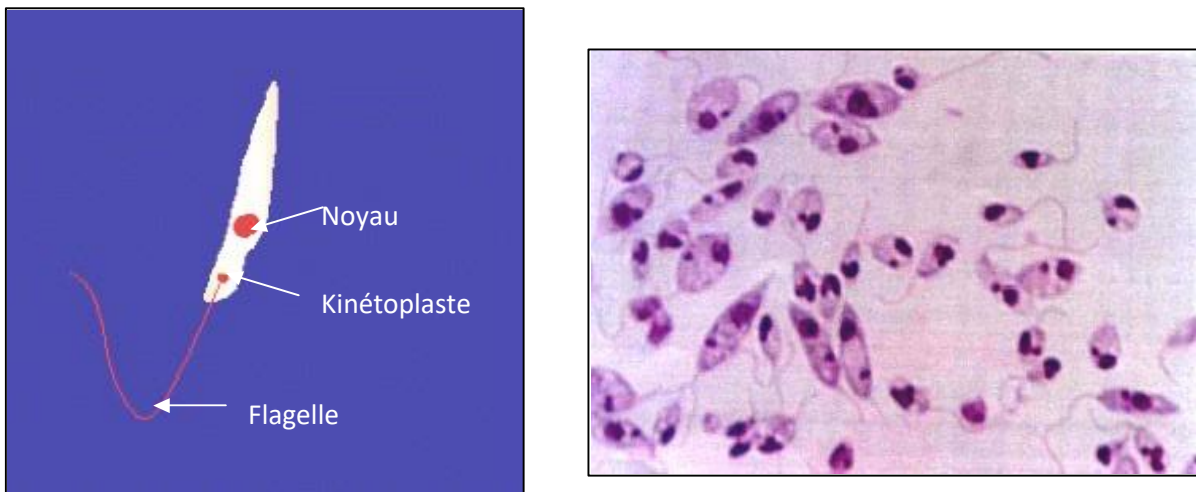


Figure 2 : Formes promastigotes de *Leishmania*^[28].

1.2.2. La forme amastigote

La forme amastigote est la forme intracellulaire des leishmanies que l'on retrouve dans les cellules du système réticulo-histocytaire des hôtes vertébrés et dans les cellules mises en culture. Ce sont de petits corpuscules ovalaires ou arrondis de 2 à 6 μ m de diamètre (Fig.3), immobiles, enveloppés d'une membrane bien définie, présentant un noyau, un kinétoplaste et une ébauche de flagelle ne faisant pas saillie à l'extérieur [27].

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE II : Epidémiologie des Leishmanioses

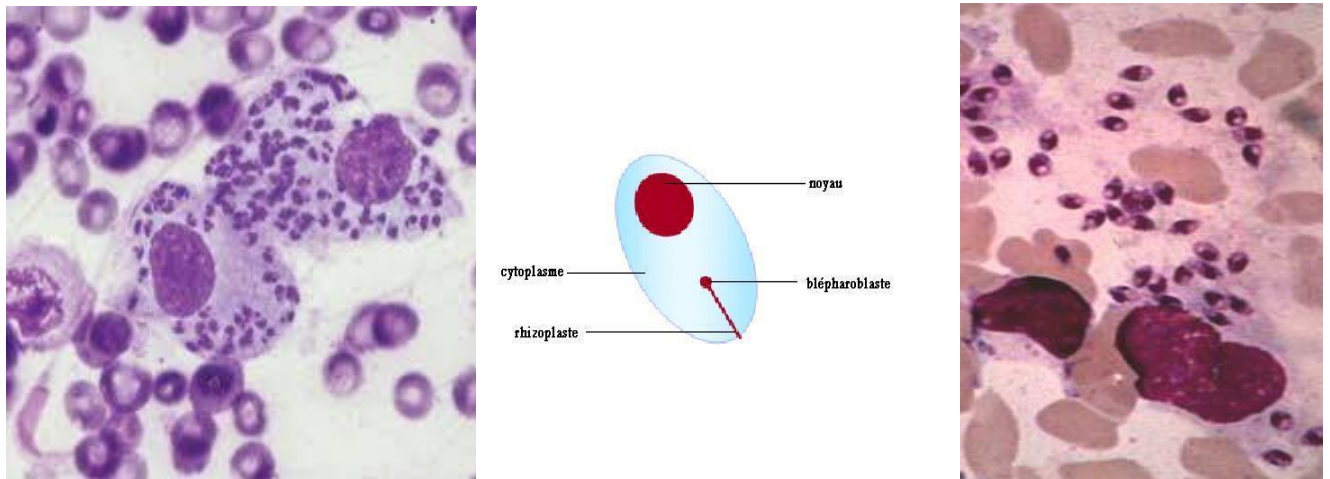


Figure 3 : Les formes amastigotes^[29].

2. Le vecteur

Les phlébotomes sont des insectes diptères, nématocères appartenant à la famille des Psychodidae sous famille des Phlebotominae, à l'état adulte, des moucheron piqueurs de petite taille (longueur du corps, 1.5 à 4mm), de couleur clair, en général jaune pâle, leur corps est couvert de soies et ils présentent des ailes lancéolées dressées. Ils ont une activité crépusculaire et nocturne, dont le développement pré-imaginal (œuf, quatre stades larvaires et nymphe) se déroule dans la terre humide. Mais les biotopes de reproduction ne sont connus que pour peu d'espèces, ce qui constitue une limite très sérieuse à l'établissement de programme de lutte.

Seule la femelle est hématophage, assure la transmission des leishmanioses. Présents toute l'année en zone tropicale, les phlébotomes apparaissent seulement l'été en région tempérée, ou ils confèrent à la maladie un caractère saisonnier^[30]. Il en existe plus de 600 espèces, parmi elles, une vingtaine de vecteurs prouvés d'espèces de Leishmania; elles appartiennent aux genres Phlebotomus dans l'Ancien Monde et Lutzomyia dans le Nouveau Monde.

Le biotope des phlébotomes est variable selon l'espèce mais toujours influencé par la température, l'humidité et les besoins trophiques ^[31]: terriers, murs, ordures etc. et certaines espèces sont péri domestiques. Les espèces appartenant au genre Phlebotomus (Ancien Monde) préfèrent les terriers et les habitations en chaume, tandis que les espèces du genre Lutzomyia (Nouveau Monde) habitent les écosystèmes forestiers, notamment la forêt humide, où ils se reproduisent entre les contreforts des troncs d'arbres, au milieu des feuilles en

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE II : Epidémiologie des Leishmanioses

décomposition. Les phlébotomes sont de mauvais voiliers. Ils se déplacent par vols courts, avec des arrêts fréquents.

Les femelles se nourrissent sur mammifères, oiseaux, reptiles ou batraciens. Certaines espèces sont très spécialisées dans l'exploitation d'un ou de quelques hôtes. Chez l'homme, ce sont les parties découvertes du corps qui sont exposées aux piqûres, chez les animaux, les zones les moins velues (museau, oreille). Il faut de 30 secondes à 5 minutes pour que l'estomac se trouve entièrement rempli^[31].

En Algérie, 22 espèces de phlébotomes ont été recensées et identifiées par Belazzoug (1991), dont 12 du genre *Phlebotomus* et 10 du genre *Sergentomyia*. Concernant la leishmaniose viscérale, depuis les travaux de Parrot, Donatien et Lestoquard en 1930, le vecteur est identifié comme étant *Phlebotomus(Larrousius)Perniciosus*^[32].

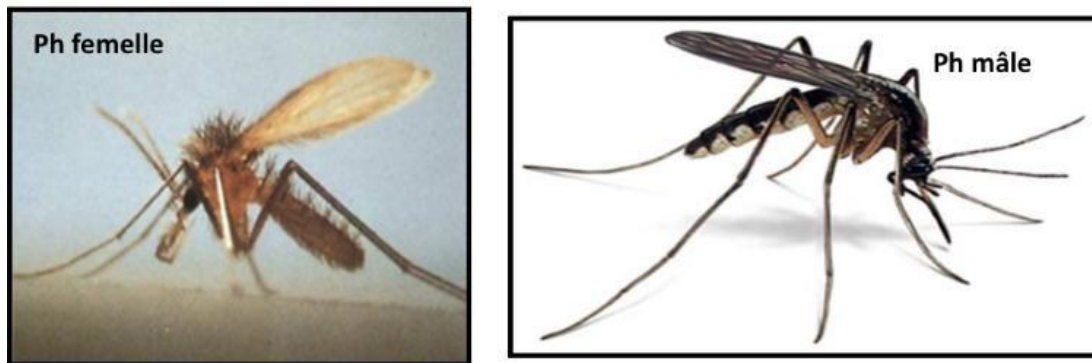


Figure 4 : Phlébotome mâle et femelle ^[33].

3. Les réservoirs

On peut qualifier les leishmanioses d'anthroponoses ou de zoonoses selon que l'humain soit l'hôte direct ou l'hôte accidentel du vecteur. En effet, certains vecteurs sont attirés par l'humain alors que la majorité ont plutôt tendance à infecter d'autres mammifères. Ceux-ci varient selon l'habitat^[34].

Le principal réservoir des leishmanies est essentiellement animal.

Le chien domestique représente le réservoir principal. La faune sauvage, et principalement les canidés sauvages, comme les loups, les renards, les chacals jouent le rôle de réservoirs secondaires^[35].

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE II : Epidémiologie des Leishmanioses

Les chats, exceptionnellement infectés, ne jouent aucun rôle épidémiologique. Aucun autre arthropode n'est impliqué dans la transmission [36].

D'après GARNHAM 1956, il existe trois foyers :

Dans les foyers primaires (Asie centrale, Moyen Orient, Afrique ou certaines régions d'Amérique latine), le réservoir animal est constitué d'animaux sauvages appartenant à de nombreuses espèces, en particulier des rongeurs, rats, souris, des canidés (chacals, renards) ou des primates.

Dans les foyers secondaires (pourtour méditerranéen, Chine, certaines régions d'Amérique latine), le réservoir est essentiellement constitué par les animaux domestiques, chats mais surtout chiens. Ces animaux revêtent une importance épidémiologique particulière, en raison de leur nombre et des contacts étroits qu'ils ont avec la population humaine dans les pays à haut développement socio-économique.

Dans ces foyers, la contamination humaine est plus fréquente. Dans les foyers tertiaires (Moyen Orient, corne de l'Afrique), le principal réservoir de parasites est l'homme malade. Ces formes de leishmaniose sont bénignes. Dans ces foyers, la contamination humaine est beaucoup plus fréquente, la maladie évolue selon un mode endémo-épidémique [36].

En Algérie, la leishmaniose viscérale admet le chien comme réservoir, depuis les travaux des frères Sergent en 1910^[37]. Plus tard en 1977^[11] ont montrés que 11,4% des chiens de la Grande Kabylie étaient atteints et ce sont les travaux de BELAZZOUG^[38-39-40], qui ont confirmé le rôle joué par cet animal et fait la corrélation entre foyer de leishmaniose canine, et leishmaniose viscérale humaine^[38-40].

Le réservoir de leishmaniose cutanée zoonotique est représenté essentiellement par deux rongeurs sauvages gerbilles. Le premier découvert est naturellement infesté par *L. major* au niveau de foyer de M'sila, le *Psammomys obesus*^[5] et le second, *Meriones shawi*, au niveau de foyer de Ksar Chellala^[41].

Les leishmanies circulent en Algérie entre l'homme et le chien, véhiculées par *Phlebotomus* pour les formes viscérales et cutanées à *L. infantum*, et entre l'homme et un rongeur sauvage pour la forme cutanée *L. major*^[41].

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE II : Epidémiologie des Leishmanioses

4. Le cycle biologique et la transmission

Le phlébotome se nourrit de sucs et de sève de plantes. Seule la femelle est hématophage et donc impliquée dans la transmission des leishmanioses. Ses larves se nourrissent de déchets végétaux et animaux.

Le phlébotome vit dans des gîtes ombrés et calme la journée tels que les creux d'arbres, murs fissurés, les étables etc., et il est actif dès la tombée du jour. C'est un mauvais volier, son vol est saccadé et son rayon maximal de déplacement est d'environ 1 kilomètre. Ses gîtes sont alors à proximité des hôtes vertébrés.

La femelle prend une brève période de repos sur un mur ou un support proche puis rejoint son gîte de repos ou elle digère son repas sanguin. Celui-ci dure 3 à 10 jours et permet la maturation des œufs^[42]. La ponte a lieu au contact d'une surface humide qui stimule l'oviposition. Les gîtes de ponte peuvent être les mêmes que ceux du repos. Après l'oviposition, la femelle part à la recherche d'un nouvel hôte pour entamer un autre cycle gonotrophique^[43].

Les œufs éclosent et donnent naissance à des larves terricoles qui subissent 4 mues avant de donner une nymphe d'où émerge le phlébotome adulte après 20 à 90 jours en fonction des conditions climatiques^[42]. En zone tropicale les phlébotomes pullulent toute l'année tandis qu'en régions tempérées, ils abondent durant la saison estivale et hibernent à l'état larvaire durant la saison froide^[43].

Les différents stades du développement des phlébotomes sont résumés dans la figure 5.

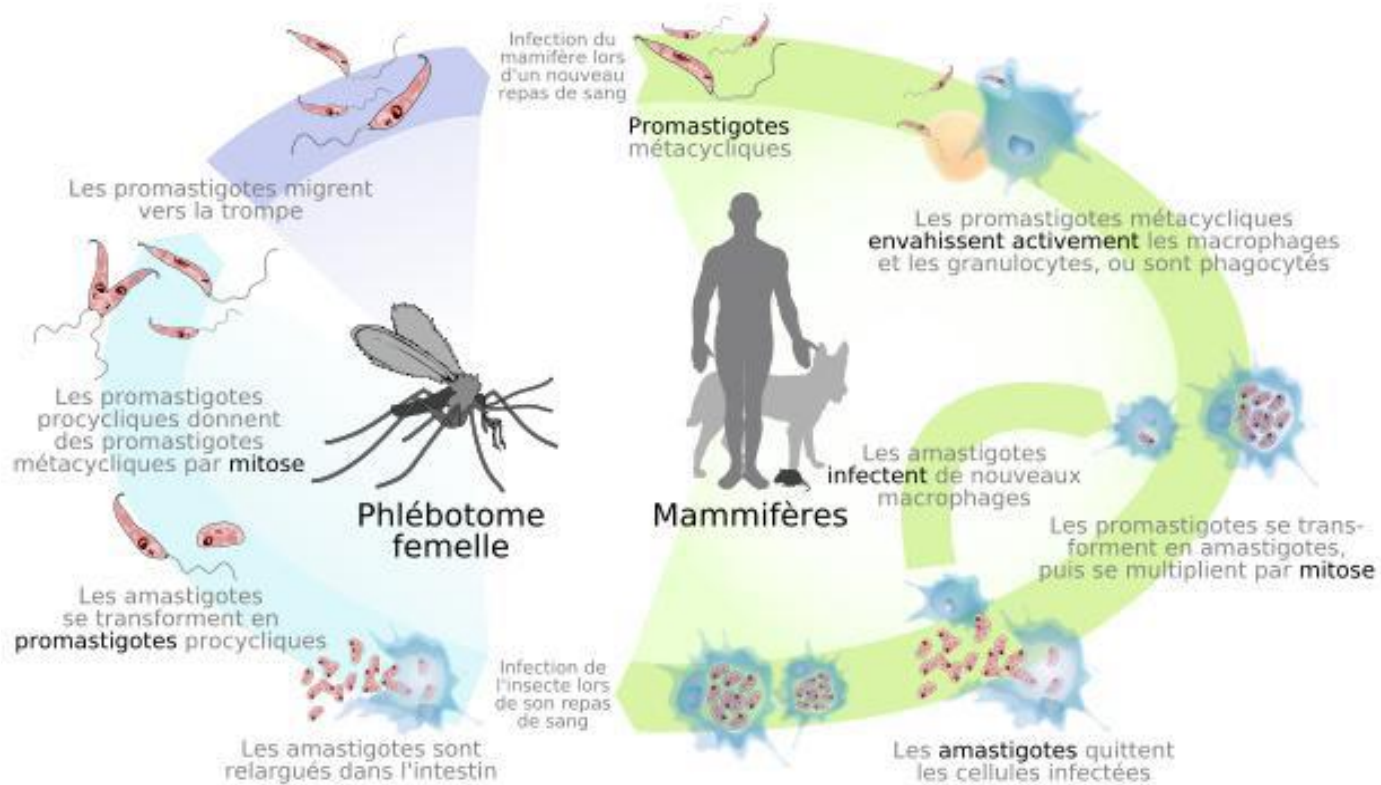


Figure 5: Cycle biologique de *Leishmania*^[44].

5. La répartition géographique

5.1. Dans le monde

Les leishmanioses sont des pathologies parasitaires de distribution ubiquitaire. Endémiques dans les régions tropicales et subtropicales du globe et touchent 98 pays dans le monde ^[45].

On distingue les leishmanioses de l'Ancien monde (Sud de l'Europe, Afrique, Proche-Orient et Asie), et celles du nouveau monde (Amérique du Nord, du Sud et Amérique centrale)^[46].

La prévalence globale des leishmanioses est estimée à 12 millions d'individus, et environ 310 millions de personnes sont à risque d'infection. Elles constituent un véritable problème de santé publique en Inde, en Afrique du Nord, en Amérique du sud et en Europe.

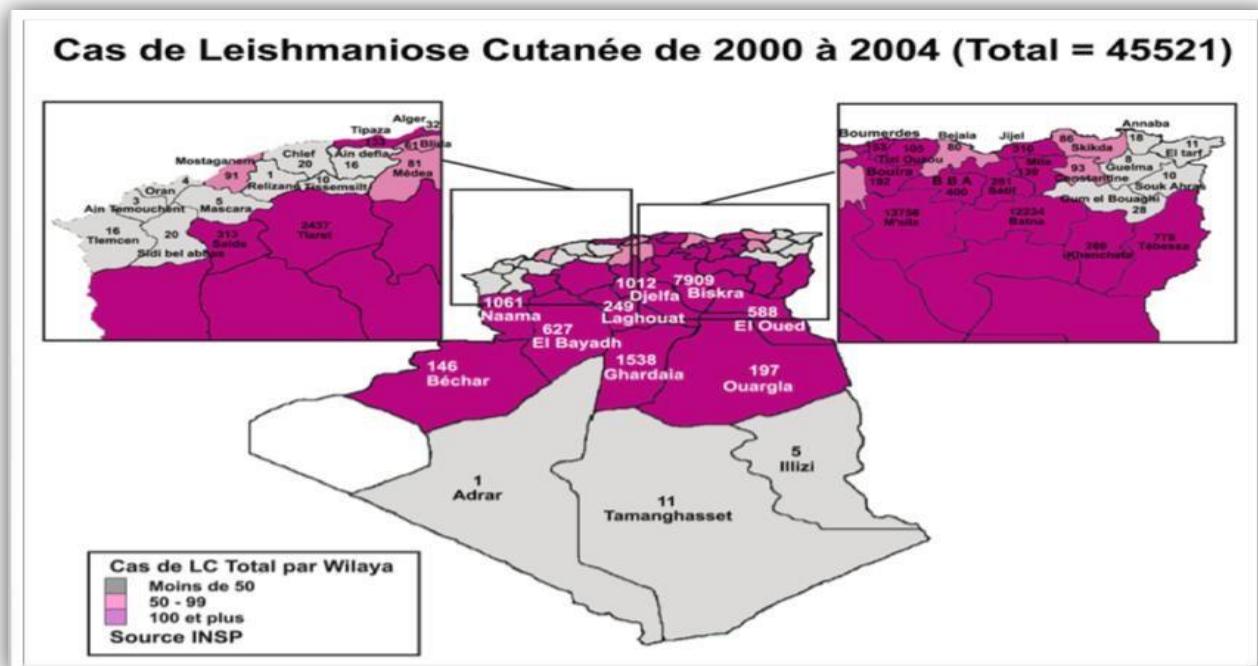


Figure6 : Répartition géographique des leishmanioses cutanée et cutanéomuqueuse [47].

Les régions méditerranéennes sont des zones endémiques avec plusieurs centaines de cas déclarés chaque année (en Espagne, en France, en Italie et au Portugal notamment). L'OMS estime que le nombre de nouveaux cas par année est de 1.3 millions, et que la mortalité annuelle est comprise entre 200 000 à 300 000 personnes [48].

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE II : Epidémiologie des Leishmanioses

Tableau 1 : les principaux foyers de leishmaniose^[49].

Forme Clinique	Parasite	Localisation	Réservoir
Leishmaniose Viscérale	<i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i>	Inde ++, Afrique de l'Est, Méditerranée, Asie	Homme Chien canidés sauvages
Leishmaniose cutanée Ancien Monde	<i>L. tropica</i> <i>L. major</i> <i>L. infantum</i> <i>L.aethiopica</i>	Méditerranée, Asie Moyen-Orient, Asie Afrique Afrique de l'Est	Homme, chien Rongeurs Rongeurs Rongeurs
Leishmaniose cutanée Nouveau Monde	<i>L. mexicana</i> <i>L.guyanensis</i> <i>L.panamensis</i> <i>L. peruviana</i> <i>L.amazonensis</i>	Amérique centrale Guyane, Brésil Amérique centrale Pérou Colombie, Brésil	Rongeurs Paresseux Paresseux Chien Rongeurs, chat
Leishmaniose cutanéomuqueuse	<i>L. braziliensis</i> <i>L. donovani</i> <i>L. major</i>	Amérique centrale Afrique de l'Est Maghreb	Chien, chat Homme Rongeur

✓ Répartition de La leishmaniose cutanée (LC)

C'est la forme la plus fréquente dans le monde, près de 90% des cas de LC surviennent dans 7 pays (Afghanistan, Algérie, Brésil, Iran, Arabie saoudite et Syrie), et deux pays du nouveau monde (Brésil et Pérou)^[45].

On estime qu'il y a 0,5 million à 1,5 million de nouveaux cas chaque année dans le monde^[47]. Les LC correspondent à des atteintes exclusives de la peau, sans extension aux organes profonds ni aux muqueuses. Les lésions cutanées sont, en général, localisées et siègent le plus souvent au site d'inoculation du parasite par le phlébotome.

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE II : Epidémiologie des Leishmanioses

Une forme cutanée diffuse se développe plus rarement et résulte de la conjonction du parasitisme par certaines espèces avec un état d'anergie du sujet hôte ^[50], et provoque comme la lèpre de graves lésions de la peau laissant des cicatrices indélébiles notamment sur le visage.

❖ Leishmaniose cutanée localisée

Elle résulte du parasitisme par n'importe quelle espèce anthropophile de *Leishmania*, y compris les espèces couramment viscérotropes *L. donovani* et *L. infantum*. Mais les espèces les plus constamment dermatotropes sont représentées, dans l'Ancien Monde, par *L. tropica* et *L. major* (Asie centrale, Afrique de l'Ouest, du Nord et de l'Est ; Proche et Moyen-Orient), *L. aethiopica* (Afrique de l'Est) (Figure 7).

Dans le Nouveau Monde, elles comprennent des espèces à large distribution sud-américaine (*L. amazonensis* et à un degré moindre *L. guyanensis*), des espèces plutôt localisées à l'Amérique centrale (*L. mexicana*, *L. panamensis*) ou d'autres à territoires géographique restreints (*L. peruviana*, *L. venezuelensis*, *L. naiffi* et les deux espèces brésiliennes *L. shawi*, et *L. lainsoni*) (Figure 7)^[50].

❖ Leishmaniose cutanée diffuse

Il s'agit d'une forme de LC particulière et rare, qui correspond au parasitisme de sujets anergiques par les espèces *L. aethiopica* dans l'Ancien Monde et *L. amazonensis* dans le Nouveau Monde. Mais depuis que les états d'immunodépression acquise se sont multipliés, quelques cas de LCD ont également été signalés avec des espèces telles que *L. major* ou *L. braziliensis*, voire *L. infantum*, habituellement responsables de lésions localisées^[50].

5.2. En Algérie

L'Algérie, comme d'autres pays méditerranéens, est fortement concernée par ces zoonoses qui sont classées dans notre pays comme maladies à déclaration obligatoire^[51].

Les Leishmanioses sévissent selon un mode endémoépidémique. Un pic d'alerte de 30227 cas a été atteint en 2005 ^[52]. Depuis 2006 s'est amorcée une chute de la prévalence, qui s'est poursuivie pour se stabiliser entre 7000 et 8000 cas ces trois dernières années (7784 en 2008)^[53].

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE II : Epidémiologie des Leishmanioses

L'Algérie d'une part par sa situation géographique, caractérisée par plusieurs étages bioclimatiques allant du climat méditerranéen au Nord, au climat saharien au Sud en passant par de vastes zones semi arides et arides, et d'autre part sa forte population rurale présente un terrain favorable à l'émergence de plusieurs formes cliniques de la maladie. Deux types de leishmaniose sévissent à l'état endémique en Algérie LC et LV^[51].

En Algérie, la leishmaniose cutanée (LC) évolue selon un mode endémoépidémique ; 4450 cas ont été annoncés en 2000, doublant en 2002 avec 8049 cas, puis quadruplant presque en 2004 avec 14822 cas, enfin pour atteindre un pic d'alerte en 2005 ^[54]. En 2010 le nombre de victimes a dépassé le chiffre de 10,000 cas au niveau de la wilaya de M'sila, et la répartition des cas de LC selon l'âge montre que toutes les tranches d'âge sont touchées ; la leishmaniose cutanée existe en Algérie sous deux entités épidémiologiques distinctes : la leishmaniose cutanée-zoonotique (LCZ), et la leishmaniose cutanée sporadique du Nord (LCS) ^[52].

❖ La leishmaniose cutanée du Nord LCD

Appelé aussi « clou de Mila » par Sergent qui a rapporté les premiers cas en 1923^[19]. Cette forme sévit de façon sporadique, mais est plus fréquente ces dernières années, on estime à un peu plus de 200 le nombre de nouveaux cas par année.

Les foyers les plus touchés sont Tlemcen, Oran, à l'Ouest du pays ^[53]. Sétif, Annaba et Collo à l'Est. Les foyers de Tizi-Ouzou, Bouira, Bejaia, Boumerdes, Constantine, Jijel, Mila et Ténès offrent le plus grand nombre de cas. L'agent causal appartient au complexe *Leishmania-infantum*, seuls les zymodèmes (MON-24 et MON-80 plus rarement MON-1)^[51-54-39-55]. L'agent vecteur est une femelle de *Phlebotomus perfiliewi*^[56]. Cette leishmaniose a la même répartition géographique et le même réservoir que la LV ^[53-57].

❖ La leishmaniose cutanée zoonotique LCZ

Appelé aussi « clou de Biskra », décrite pour la première fois par Hamel en 1860, sévit à l'état endémoépidémique sur toute la frange Nord-saharienne correspondant à l'étage bioclimatique aride et semi-aride, les foyers anciennement connus sont ceux de Biskra à l'Est et Abadla à l'Ouest, presque 8000 cas à Msila (1982 - 1983) et 700 cas à ksar Chellala (1985) ^[54]. Elle est due à *Leishmania major* zymodème MON -25 ^[51-54]. Ses réservoirs naturels sont des rongeurs des genres *Psammomys obesus*^[59] et *Meriones shawi*^[41]. Elle est véhiculée principalement par *Phlebotomus papatasi*^[60].

PARTIE THEORIQUE CHAPITRE II : Epidémiologie des Leishmanioses

Il existe aussi un autre type de la leishmaniose cutanée localisée zoonotique, à *Leishmania Killicki* principal zymodème MON-301, transmise par *Phlebotomus sergenti*, le réservoir est un rongeur *Massoutiera mzabi* (le Goundie du Mزاب)^[61].

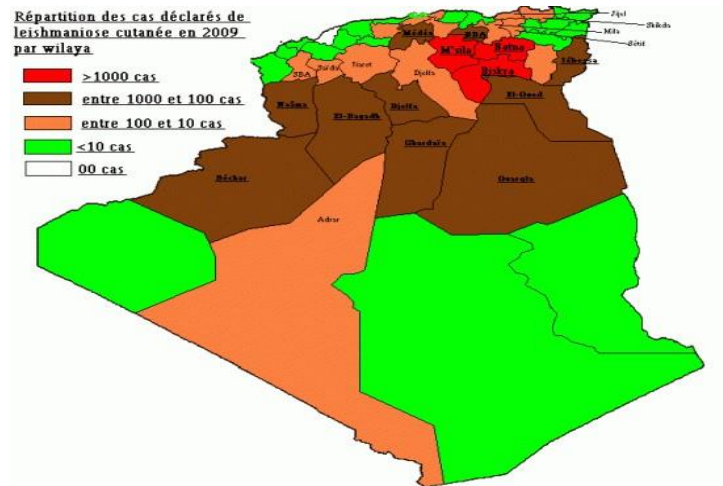


Figure7:Répartition géographique de la leishmaniose cutanée en Algérie en 2009^[62].

Les leishmanioses cutanées localisées correspondent à des atteintes exclusives de la peau, sans extension aux organes profonds ni aux muqueuses. Les lésions cutanées sont en générale, localisées et siègent le plus souvent au site d'inoculation du parasite par le phlébotome [64].

Les caractéristiques cliniques de la leishmaniose ont tendance à varier d'une région à l'autre et à l'intérieur d'une même région, par suite de différences touchant à l'espèce parasitaire, au type de cycle zoonotique en cause, à l'état immunitaire et peut être aussi par suite du déterminisme génétique de la réponse du patient [65].

Dans l'ancien monde, la leishmaniose cutanée est provoquée par cinq espèce de leishmanies : *L. infantum*, *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica* et *L. donovani*. Des lésions cutanées dues à *L. infantum* s'observent dans tout son aire de répartition, tout particulièrement dans le bassin méditerranéen [65].

➤ **La leishmaniose cutanée à *L. major***

Après une incubation courte, apparaît la lésion caractéristique, la forme ulcéro-croûteuse, avec une ulcération recouverte d'une épaisse croûte brune [53].

Une fois arrachée, la croûte laisse apparaître un fond irrégulier, sanieux ou suintant, humide. En périphérie un aspect bourgeonnant, inflammatoire, riche en leishmanies, correspond à la zone active de la lésion [66]. A côté de cette forme, la forme la plus fréquente, s'observent les formes ulcéro végétantes, verruqueuses et plus rarement, lupoides [53].

La guérison spontanée se fait en plusieurs mois, par comblement de l'ulcère, laissant une cicatrice déprimée claire ou pigmentée indélébile et inesthétique et une immunité durable [67-68].

➤ **Leishmaniose cutanée sporadique à *L. infantum***

Sur le plan clinique, elle touche tous les âges et les deux sexes à égalité. Elle touche surtout les enfants en bas âge. Les boutons sont très riches en parasites. La culture de ces derniers sur milieu NNN est difficile [51].

Le délai de consultation par rapport à la piqûre par le phlébotome est variable de 1mois à 5ans, avec une moyenne de 3 à 6 mois. Dans la majorité des cas les lésions sont uniques et siègent à la face dans 75 à 90 % des cas. Leur taille est souvent décrite comme petite, de 10 à 20 mm^[69]. Cependant, les lésions de plus grande taille ne sont pas rares et la taille moyenne

des lésions dépasse souvent 20 mm ^[70]. Quatre formes principales sont décrites : une forme papuleuse, une forme ulcérée, une forme érythématosquameuse et une forme infiltrée. En fait, cette forme de leishmaniose n'est pas très polymorphe et il est plus simple de distinguer deux formes :

- Une forme papulonodulaire avec un nodule rouge, régulier, lisse, bien limité de taille variable, recouvert ou non de squames, plus rarement ulcérocroûteuse avec une croûte de petite taille.
- Une forme en plaque infiltrée d'une taille de plusieurs centimètres avec les mêmes caractères que le nodule, c'est-à-dire une surface régulière et squameuse, des limites bien précises. Les croûtes sont absentes ou discrètes.

La durée d'évolution spontanée peut dépasser 2 ans ^[71].

➤ **Leishmaniose cutanée à *Leishmania tropica***

Ce parasite est responsable de la forme sèche « anthroponotique » elle se distribue dans le territoire de l'ex-URSS, en Afghanistan, au Moyen-Orient et en Grèce. En Tunisie, *L. Killicki*, du complexe *L. tropica*, a été isolée à partir de souches isolées à Tataouine, puis retrouvée au Yémen. Sa distribution est mal connue. Les lésions sont uniques dans 70 % des cas.

L'atteinte de la face s'observe chez 50 % des patients.

Cliniquement, les lésions sont dominées par les nodules ulcéro croûteuses plutôt secs, de grande dimension avec un centre parfois verruqueux. Des forme ulcéreuses et extensives sont parfois observées. Elles se distinguent par leur chronicité ainsi que par leur tendance à la récurrence ^[71].



Figure 8 : Lésions ulcéro-croûteuses ^[72].



Figure 11 : Lésion Inflammatoire, avant (A) et après guérison (B) ^[72].

Le diagnostic des leishmanioses repose sur la mise en évidence du parasite, ou de son acide désoxyribonucléique (ADN), et sur la recherche des traces immunologiques de l'infection, anticorps circulants ou hypersensibilité retardée [73].

Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence du parasite ou de son ADN à partir du matériel récolté de façon variable suivant la forme de leishmaniose en cause [50].

La culture des leishmanioses est conditionnée par la disponibilité de milieux performants et faciles à préparer. Parmi les milieux utilisés, le milieu classique Novy Mac Nel et Nicolle (NNN) est une gélose au sang de lapin, et le milieu blanc d'œuf.

1. Diagnostic parasitologique

Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence des parasites ou de leur ADN dans les prélèvements cutanés. Les leishmanioses sont plus facilement retrouvées lorsqu'elles sont recherchées en début d'évolution de la maladie, dès les premières semaines qui suivent l'apparition des lésions. En fin d'évolution, les parasites deviennent rares dans les tissus.

Les prélèvements doivent être réalisés en périphérie de la lésion, à cheval entre la peau saine et le bourrelet inflammatoire. Les meilleurs résultats sont obtenus par la biopsie cutanée.

Un punch permet un prélèvement suffisant pour un examen direct, une mise en culture sur milieu spécifique et éventuellement une recherche d'ADN par PCR.

La biopsie est réalisée après désinfection locale par un produit non iodé. Contrairement au prélèvement destiné à l'examen anatomopathologique, celui destiné à la parasitologie ne doit pas être fixé, mais doit respecter strictement toutes les normes d'asepsie pour éviter toute contamination. Lorsque la biopsie n'est pas possible.

Un grattage de la lésion en périphérie permet de recueillir un peu de matériel pour réaliser un frottis sur une lame porte-objet. Mais les résultats de cette technique sont de sensibilité variable. Enfin, le prélèvement peut être effectué par une ponction-aspiratoire, à l'aide d'une seringue de 10 ml, on injecte 0,1 à 0,5 ml de sérum physiologique stérile tout en dilacérant les tissus avec la pointe de l'aiguille, puis on aspire le produit de la dilacération. Cette technique est plus douloureuse et moins efficace que la biopsie cutanée.

1.1. Examen direct

Il consiste à rechercher, après coloration, les leishmanioses dans l'apposition de la biopsie sur une lame porte-objet ou dans l'étalement du produit de grattage ou de la ponction-aspiratoire. La coloration habituellement utilisée est May-Grunwald-Giemsa (MGG) seul après fixation par le méthanol. La recherche est effectuée au microscope à fort grossissement 100, avec un objectif à immersion. Les parasites apparaissent sous leur forme amastigote, isolés ou en amas dans le cytoplasme des macrophages.

Le succès du test est observé dans 50 % des cas ^[74]. Il est parfois possible de trouver des amastigotes dans le sang en cas d'immunodépression ^[75].

L'identification repose sur des critères de taille et de forme ^[76]. Les parasites apparaissent sous forme amastigote, en général intracellulaire à l'intérieur de macrophage, mais de nombreux parasites extracellulaires sont vus sur les frottis, car les cellules sont souvent éclatées, en particulier de lésions cutanées ^[50]. Les leishmanioses apparaissent comme des cellules ovoïdes ou ellipsoïdes de taille variable (2 à 6µm), avec un cytoplasme bleu pâle, un noyau arrondi de couleur rouge pourpre et un kinétoplaste en forme de bâtonnet de couleur violette ^[76].

1.2. La culture

Elle a pour but de corriger l'examen direct et augmenter le nombre, car l'identification des amastigotes au microscope n'est pas toujours possible. Le prélèvement peut être ensemencé en culture, sur gélose au sang de lapin, milieu Novy-MacNeal-Nicolle (NNN), dans lequel se développent les formes promastigotes ^[76]. L'ensemencement est réalisé en zone stérile de préférence entre deux becs bunsen pour éviter les contaminations microbiennes. Des antibiotiques comme pénicilline à raison 100UI/ml, et la gentamycine à UI/ml peuvent être ajoutés dans le même but de limiter les contaminations bactériennes.

D'autres milieux peuvent être utilisés qui donne d'excellents résultats avec un minimum de risque de contamination. Tous ces milieux sont additionnées d'antibiotiques : pénicilline streptomycine ou pénicilline-gentamycine et exceptionnellement d'antifongique, comme la 5-fluorocytosine ^[32]. L'ensemencement doit évidemment être fait à partir de matériel stérile au point de vue microbien et mycosique. La 1ere lecture se fait après une semaine environ à 26°C ^[77] En cas de positivité, les formes promastigotes flagellées mobiles sont visibles. Si le résultat est négatif, la phase liquide est transférée sur un milieu neuf et trois repiquage sont

effectués à une semaine d'intervalle avant de conclure à la négativité. Les résultats sont meilleurs lorsque le milieu est supplémenté en sérum de veau foetal et solution de Schneider.

1.3. L'inoculation à un animal

L'inoculation à l'animal n'est réalisée que par de rares laboratoires spécialisés. En effet, cette technique exige une animalerie et une compétence particulière.

En plus du hamster doré de Syrie, d'autres rongeurs peuvent être utilisés tels que souris BALbC, 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 une forme localisée ou généralisée de la maladie en quelques semaines à quelques mois.

1.4. L'examen anatomopathologique

L'examen anatomopathologique est rarement demandé pour confirmer une LC. Les corps de Leishman sont souvent de découverte fortuite dans les coupes histologiques d'une biopsie réalisée devant une lésion atypique. Dans ces conditions, la souche parasitaire n'est évidemment pas isolée et l'identification spécifique n'est possible que par des techniques complémentaires de biologie moléculaire.

2. Diagnostic moléculaire

La plupart des auteurs s'accordent à dire que le diagnostic moléculaire est de loin le plus sensible ^[78-79]. Les résultats atteignent souvent 100% de leishmaniose diagnostiquées contre seulement 60- 80 % pour l'examen direct et la culture ^[80-81].

Plusieurs techniques sont utilisées et différentes séquences génomiques peuvent être recherchées. La PCR en temps réel tend à se développer. Effectuée en système fermé, elle présente l'avantage d'éviter les contaminations tout en permettant un diagnostic rapide ^[82-83].

Cependant, à ce jour, aucune méthode standard n'est globalement admise par diversité importante des amorces.

Traitement des leishmanioses.

	Molécules	Mode d'action	Pharmacocinétique	Indication/Posologie	Effets indésirables
Produits classiques	Antimonies pentavalents : - Glucantime® (antimoniato 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 antihistaminique ou corticoïde pour éviter les intolérances.	- Signes d'intolérances (frisson, céphalées, hypotension, vertige...) - Toxicité rénale et hématologique.
	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	- Troubles digestives légères : vomissement, diarrhée.....
	Imidazolés : -Itraconazole® -Kétoconazole®	- inhibe le cyt P450. - Bloque la synthèse des stérols 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.			

Traitement (ANNEXE 01).

- Abstention thérapeutique,
- Parfois un traitement est proposé pour l'évolution, minimiser les séquelles
- Glucantine® en infiltration périlésionelles 2 fois par semaine pendant 4 à 5 semaines (1 ml par 1 cm) pour les lésions uniques
- Ou en IM pendant 15 jours pour les lésions multiples où la localisation au visage.

Les leishmanioses font partie des maladies considérées comme majeurs par l'Organisation Mondiale de la Santé dont le rapport 2010 estime qu'il est possible de mettre en échec les leishmanioses grâce à l'amélioration des moyens de diagnostics thérapeutiques ainsi que la lutte^[84].

1. Prophylaxie humaine

La prophylaxie individuelle repose sur l'éviction des piqûres de phlébotomes, et cela est possible par l'utilisation d'insecticides domiciliaire, de moustiquaires à mailles fines imprégnées d'insecticide, compte tenu de la petite taille des phlébotomes, ainsi que le port de vêtements recouvrant le maximum de surface corporelle et l'application de produit répulsifs sur les zones de peau découvertes^[84-85]. Ainsi que l'éducation sanitaire qui consiste à sensibiliser les populations exposées.

2. Lutte contre le réservoir animal

2.1. Les chiens

La prévention de l'infection canine et la principale lutte contre le réservoir. Elle consiste à utiliser des colliers canins imprégnés d'insecticide, la Deltaméthrine^[27-86].

S'il s'agit d'animaux sauvages ; la lutte est pratiquement impossible, il conviendra de les éloigner de l'homme.

Sans propriétaire : abattage systématique est recommandé.

VACCIN CANIN CANILEISH® a été commercialisé récemment en 2011^[87].

2.3. Les rongeurs

La lutte contre les rongeurs consiste d'avoir des données fiables sur l'évolution de la densité des rongeurs, la période de leur reproduction ainsi que l'évaluation de toutes les actions de lutte. Et la destruction des rongeurs par la lutte écologique et la lutte chimique.

a- lutte écologique

C'est une activité qui consiste à détruire les rongeurs par la modification de biotope dans lequel ils évoluent par des actions physiques ou mécanique ^[88].

b- Lutte chimique

Elle consiste à utiliser des grains empoisonnés appliqués dans les terriers actifs en collaboration avec services de protection ^[88].

3. La lutte contre les phlébotomes

La lutte antilarvaire et contre les œufs est difficile vu leur caractère terricole qui les rend inaccessibles.

La lutte antivectorielle par pulvérisation periodique d'insecticides en prenant en considération les caractéristiques de l'espèce, à savoir si elle est endophile ou exophile ^[90-91].

Parmi les insecticides utilisés, on note le D.D.T qui est d'utilisation interdite dans de nombreux pays ^[85].

En Algérie, la leishmaniose est une maladie à déclaration obligatoire depuis 1979 et mise sous surveillance épidémiologique depuis 1985. La recrudescence de cette maladie constatée ces dernières années a entraîné l'élaboration d'un programme national conçu par le ministère de la santé avec la collaboration de ministère de l'agriculture, de l'intérieur, de l'environnement, de l'habitat et de la défense pour la lutte antilarvaire au niveau des wilayas les plus touchées tel Biskra, M'sila et Djelfa.

4. La vaccination

Malgré les recherches intensives, il n'existe pas encore de vaccin efficace pour la prévention des leishmanioses humaines, cependant des essais cliniques ont été pratiqués chez l'homme avec des vaccins constitués de leishmanies tuées, d'extraits antigéniques ou des protéines recombinantes purifiées, mais ces vaccins se sont avérés inefficaces ^[92].

Les candidats vaccins privilégiés aujourd'hui concernent des microorganismes transfectés avec des gènes leishmaniens, des leishmanies recombinantes ou des peptides synthétiques.

Mais rien n'est encore concrètement en vue, et encore moins disponible pour usage chez l'animal ou chez l'homme ^[93].

5. Lutte à Tizi Ouzou

La lutte concerne le sud-ouest de la wilaya de Tizi Ouzou dite « la Dépression de Draa El Mizane» qui a duré 05 ans, depuis avril 2006 jusqu'à octobre 2011. La lutte se fait en deux phases chaque année :

Phase I : la phase ant-ilarvaire, avril-mai, en utilisant la Deltaméthrine.

L'application se fait avec des aspersions manuelles ou des aspersions avec véhicules.

Le Programme National de lutte contre les Leishmanioses suggère et recommande une lutte multisectorielle, il engage tous les acteurs qui luttent pour un environnement propre et sain :

-Compagne d'abatages d'animaux errants en particulier les chiens.

-Ravalements des murs.

-Elimination des déchets sauvages ménagers et solides « Les gravats ».

Phase II : la phase anti-phlébotome, octobre-novembre, avec le Perméthrine.

I. Objectifs

- L'objectif principal de notre étude est de préparer les milieux de culture utilisés dans le diagnostic de la leishmaniose cutanée afin de démontrer leurs intérêts dans le diagnostic de ces maladies.
- Secondairement faire une étude épidémiologique de ces leishmanioses diagnostiquées au CHU de Tizi-Ouzou durant notre période de stage

II. Matériel et méthode

- **Type, lieu et période de l'étude**

Il s'agit d'une étude transversale descriptive, réalisée au niveau du laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou sur une période de 04 mois allant du 1^{er} Novembre 2018 au 28 Février 2019.

- **Population d'étude**

La population sujette à cette enquête est représentée par des patients (21 patients) de différentes tranches d'âge, qui sont soit hospitalisés au niveau du CHU ou bien des patients adressés à partir de différents services ou d'autres structures sanitaires publiques ou privées pour un diagnostic parasitologique des leishmanioses cutanées.

- **Critère d'inclusion**

Tout patient présentant une lésion évoquant une leishmaniose cutanée.

- **Critère d'exclusion**

les patients présentent des lésions évoquant des mycoses superficielles, pour ces patients un examen mycologique a été réalisé chez eux.

- **Méthode 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 2016. Le logiciel IBM statistics SPSS 22 (Statistical Package for the Social Sciences) a été utilisé pour l'analyse des données et la réalisation des tests statistiques.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

Il s'agit des sérosités cutanées prélevées sur les lésions des patients suspects de leishmaniose cutanée.

II.1.2. Matériel de laboratoire

✓ Equipements :

1. Matériel de prélèvement

- Seringue.
- Vaccinostyle.

2. Matériel de culture

- Etuve d'incubation à 24°C.
- Etuve d'incubation à 37°C.

3. Matériel de lecture

- Microscope optique.
- Lame porte-objet.
- Lamelle.

4. Verreries

- Béchers.
- Erlenmeyers.
- Burettes.
- Agitateur.
- Tubes à vis stériles.

✓ Autres matériels

- Etuve pasteur à 121°C.
- Becs bunsen.

- Balance de précision.
- Bain Marie.
- Pipettes Pasteur.
- Plateau.
- Portoirs.
- Support des lames pour la coloration.

- **Produits chimiques**

- Chlorure du Sodium.
- Citrate du Sodium.
- Pénicilline.
- Gentamycine.
- Méthanol.
- Giemsa.
- Eau oxygénée.

- **Autres produits**

- Agar agar.
- Urine stérile.
- Eau distillée.
- Sang du lapin.
- Blanc d'œuf.
- Huile à immersion (pour la lecture des lames).

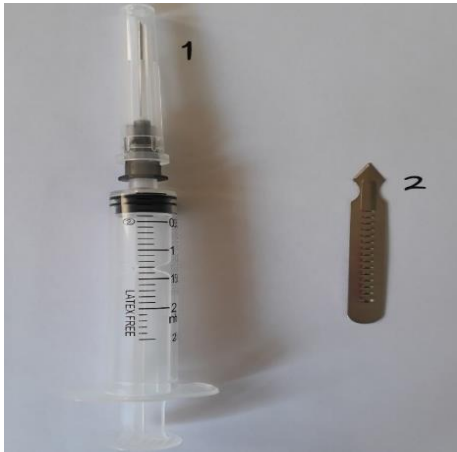


Figure 10 : Seringue (1) et Vaccinostyle (2) [72].



Figure 11 : Lame porte-objet et lamelle[72].



Figure 12 : Bec bunsen[72].



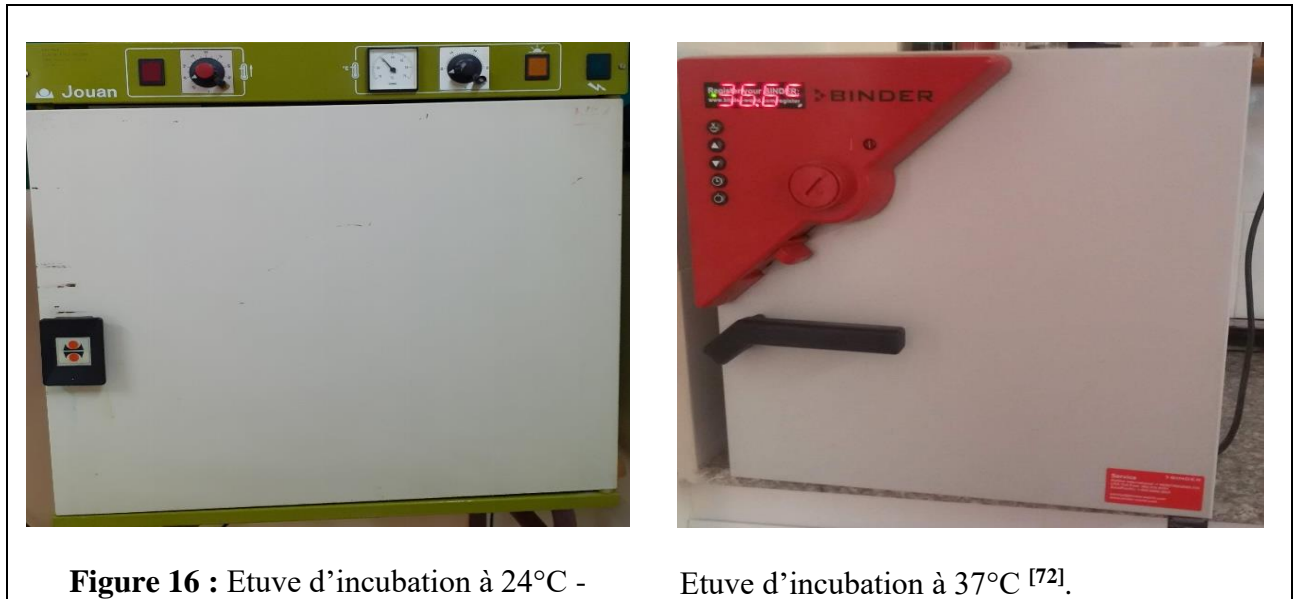
Figure 13 : Bain Marie[72].



Figure 14 : Microscope optique[72].



Figure 15: Différentes verreries[72].



II.2. Méthode

- Préparation des milieux de cultures

II.2.1. Milieu NNN (INSTITUT PASTEUR D'ALGER)

Après lavage et stérilisation du matériel, on procède aux étapes suivantes :

1. Préparation de la gélose NNN

➤ Composition

- Agar agar5g
- Chlorure de sodium..... 3g.
- Eau distillée..... 500 ml.

➤ Préparation

Le chlorure de sodium est dissout à froid dans l'eau distillée. Le mélange est mis sur le feu. Quand il commence à frémir, l'agar est rajouté et mélanger à l'aide d'un bâtonnet en verre puis laisser bouillir pendant quelques minutes.



Figure 17 : Etapes de préparation de la gélose NNN.

La gélose est répartie dans des tubes à vis stérilisés au préalable à raison de 6ml par tube. Puis elle est stérilisée à l'autoclave à 120°C pendant 20min.

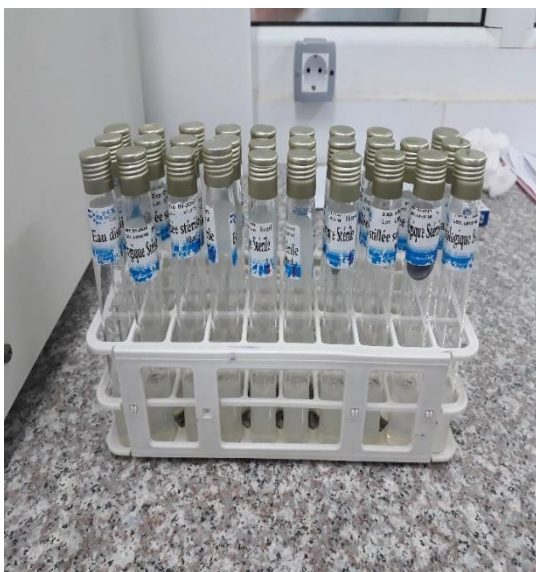


Figure 18 : Répartition de la gélose NNN dans les Tubes à vis. (Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU Tizi Ouzou, 2018).



Figure 19 : Stérilisation de la géloseNNN. Laboratoire de Parasitologie Mycologie médicale, CHU Tizi-Ouzou, 2018).

2. Contention du lapin

Le lapin doit être contenu en l'enveloppant dans un linge ou un sac de contention pour éviter de bouger surtout au moment de la ponction. Un morceau de gaze nous a servi à cet effet. S'il est calme la contention n'est nécessaire qu'au moment du prélèvement.



Figure 20 : Contention du lapin^[72].

3. Prélèvement du sang de lapin

Le prélèvement a été réalisé par ponction intracardiaque à l'aide d'une seringue à 50 cc stérile sur la partie thoracique bien rasée du lapin et stérilisée avec l'Alcool (éthanol). Ces manipulations ont été réalisées dans un environnement stérile entre deux becs bunsen. 30 ml de sang prélevés.

Le sang est versé dans un bécher contenant 3 ml de citrate de sodium pour éviter la coagulation, 2 ml de pénicilline et 2 ml de gentamycine pour éviter les contaminations du sang. Le bécher contenant le sang est conservé au réfrigérateur à + 4°C.



Figure 21 : Rasage de la partie thoracique du lapin^[72]. **Figure 22 :** Désinfection de la partie thoracique du lapin^[72].



Figure 23 : Ponction du lapin^[72]. **Figure 24 :** Récupération de sang du lapin^[72].

4. Préparation des milieux NNN

La gélose NNN préalablement préparée et ramenée à une température comprise entre 46°–54°C dans un bain marie. Ensuite elle est additionnée de sang de lapin à raison de 1ml par tube en respectant les conditions de stérilité. Le mélange est homogénéisé doucement puis déposer sur un support incliné jusqu'à la solidification de la gélose.



Figure 25 : Etapes de Préparation du milieu NNN^[72].

Les milieux prêts sont étiquetés en mentionnant la date de préparation et conservés au réfrigérateur à +4°C et sont utilisés dans les limites d'un mois. Un tube de chaque lot est incubé à +37°C pendant 24 heures pour vérifier la stérilité du milieu.

II.2.2. Milieu blanc d'œuf

1. Composition

- ✓ Urine stérile
- ✓ Blanc d'œuf
- ✓ Pénicilline G



Figure 26 : Composition du Milieu blanc d'œuf^[72].

2. Stérilisation des urines

Une urine humaine est récupérée, (Examen cyto bactériologique négatif). Elle est récoltée dans un pot stérile. Puis elle est filtrée à l'aide d'un filtre de 0.2 µm et contrôlée par ensemencement sur des milieux bactériologiques : gélose nutritive, gélose au sang frais, gélose au sang cuit et le Chapman et sur un milieu mycologique : Sabouraud chloramphénicol. L'urine est additionnée d'antibiotique (pénicilline 100UI/ml et gentamycine 100 µg/ml) est conservée au réfrigérateur.

3. Préparation du milieu blanc d'œuf (INSTITUT PASTEUR D'ALGER)

On utilise 4 œufs et l'urine microbiologique stérile. On sépare les jaunes des blancs des 4 œufs. En présence d'une flamme, on met les blancs et l'urine stérile (300 µl) dans un bécher puis on ajoute 250000 UI de Pénicilline G.



Figure 27 : Séparation des œufs^[72].

On agite énergiquement à l'aide d'un agitateur manuel devant la flamme du bec Bunsen.



Figure 28: Agitation des blancs d'œufs^[72].

On répartit les blancs d'œufs à raison de 3 ml par tube stérile.



Figure 29 : Répartition du milieu blanc d'œufs dans les tubes stériles^[72].

On met les tubes dans un portoir incliné dans un bain marie bouillant à 100°C jusqu'à coagulation des milieux, pendant quelques minutes.



Figure 30 : Coagulation du milieu blanc d'œufs au bain Marie à 100°C^[72].

Une fois la coagulation obtenue, les milieux prêts sont étiquetés en mentionnant la date de préparation et on les met à l'étuve à 37°C pendant 24heures, pour le contrôle de stérilité de l'exsudation.

Après 24 heures, on a constaté l'absence de contamination et la formation d'une phase liquide en très petite quantité. La conservation de ces milieuxse fait à +4°C.

II.2.3. Prélèvement du produit pathologique

Avant d'effectuer un prélèvement on doit d'abord collecter les données de nos malades sur une fiche de renseignements(ANNEXE 02).

La fiche de renseignements 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 endémiques. Il faut aussi préciser, l'aspect, la localisation, le diamètre, la durée d'évolution et le nombre de lésions retrouvées.

Tout d'abord, il faut nettoyer soigneusement la lésion par un désinfectant « l'eau oxygénée » à l'aide d'une compresse purifiée.

Le prélèvement cutané se fait à l'aide d'un vaccinostyle stérile en prélevant à la périphérie de la lésion en soulevant la croûte s'il s'agit d'une lésion ulcéro-croûteuse.

Pour les lésions nodulaires et inflammatoires, repérer le point de piqure et faire le prélèvement des sérosités à ce niveau.



Figure 31 : Prélèvement avec un vaccinostyle^[72].

II.2.4. Examen direct

Les sérosités obtenues par raclage des lésions serviront à la confection des frottis sur deux lames porte-objets ou plus pour chaque lésion.

II.2.5 La coloration

a. 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.

b. Coloration

Parallèlement à la fixation, on procède à la dilution du Giemsa au 1/10ème 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.

c. 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.

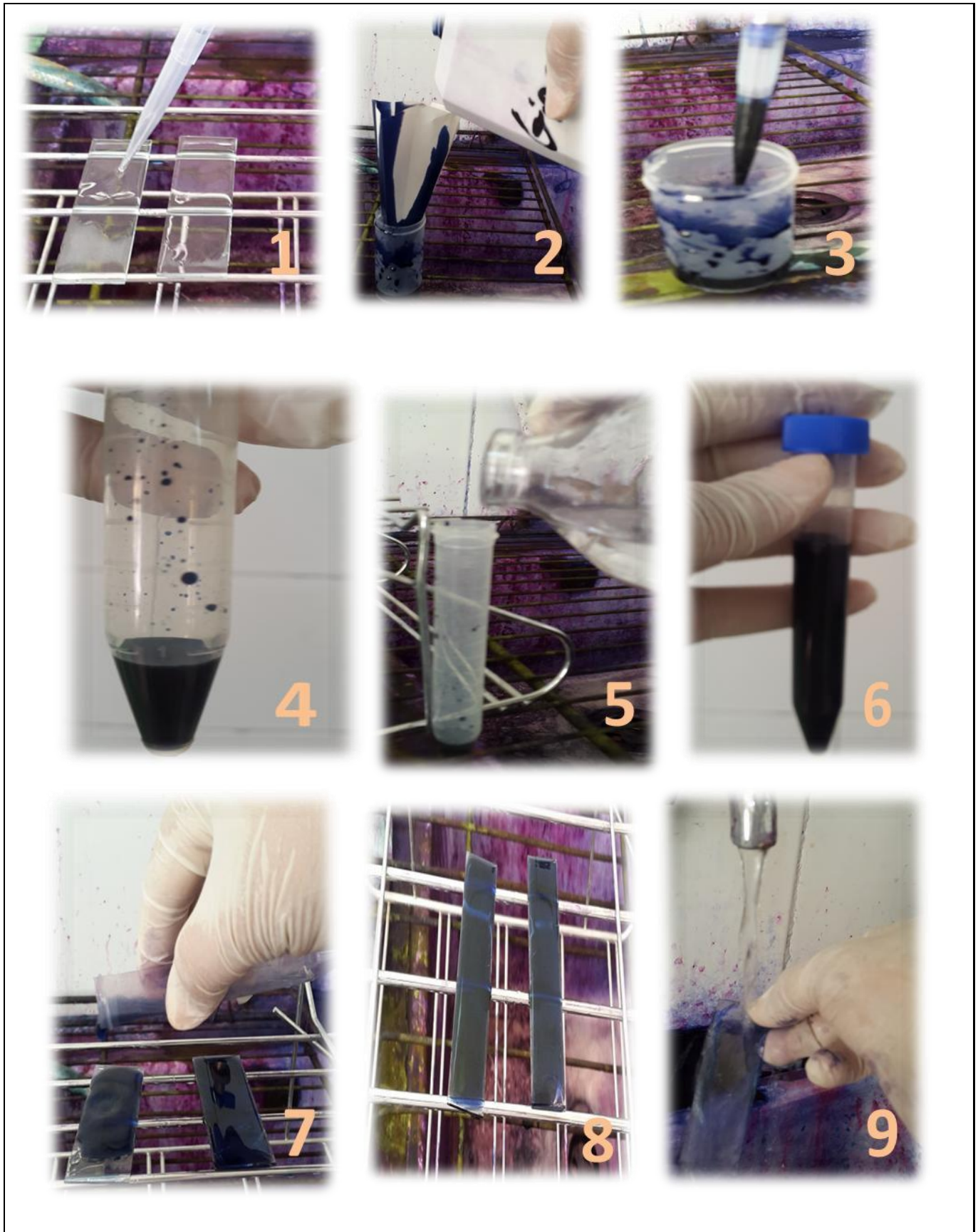


Figure 32 : Etapes de coloration des frottis par le Giemsa

d. Lecture au microscope

La mise en évidence 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.

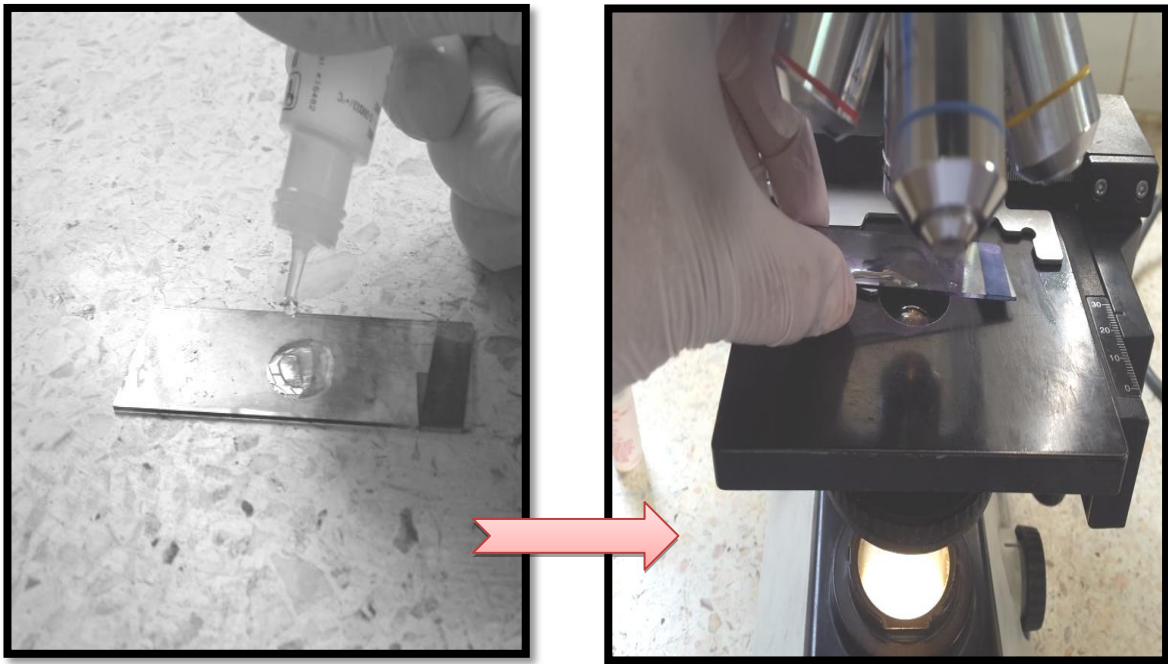


Figure 33 : Lecture des frottis colorés^[72].

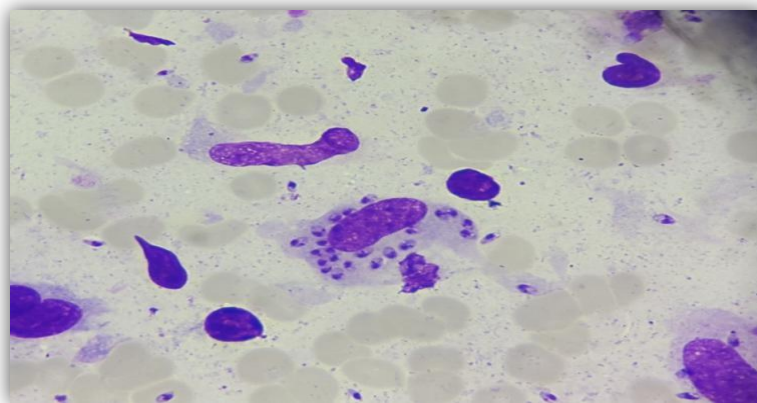


Figure 34 : Formes amastigotes de *Leishmania sp*^[72].

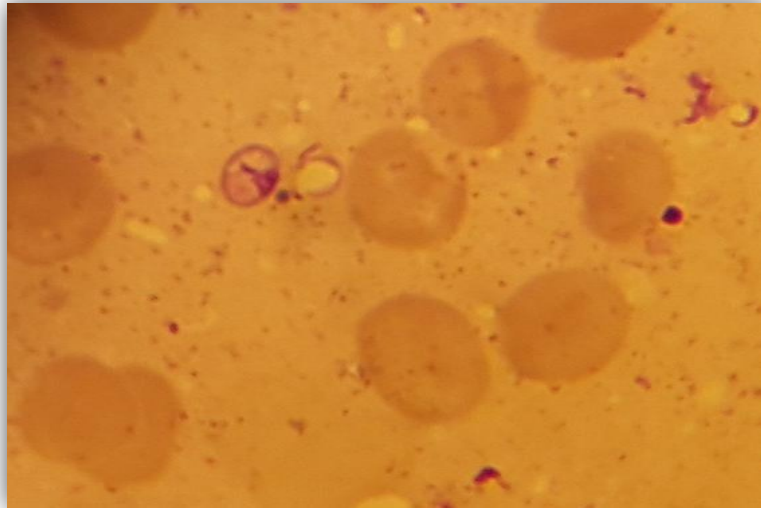


Figure 35 :Forme amastigote libre de *Leishmania sp*^[72].

II.2.6. La mise en culture

La ponction aspiration des sérosités à l'aide d'une seringue est utilisée pour la culture



Figure 36:Ponction aspiration^[72].

Le prélèvement doit être fait pour chaque lésion à part concernant le même patient en changeant le matériel utilisé à chaque fois.

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

La mise en culture se fait sur les milieux spécifiques

❖ Ensemencement

Le liquide d'aspiration est ensemencée sur le milieu NNN, devant une flamme du bec Bunsen.

❖ Lecture et repiquage :

Chaque semaine, les cultures sont vérifiées. Une goutte de la phase liquide est déposée entre lame et lamelle puis observée au microscope optique grossissement $\times 40$. La mise en évidence des formes promastigotes est facile car elles sont mobiles. Elles sont formées d'un corps allongé avec un flagelle à la partie antérieure qui le traine dans son mouvement. Seulement, le nombre de promastigotes peut être réduit et donc la lame doit être lue entièrement notamment au début de la positivité. Cet examen permet également de vérifier la présence ou non de contamination microbienne.

Lorsque la culture est contaminée, elle est repiquée une fois avec addition d'antibiotique, si elle reste contaminée la fois suivante, elle est abandonnée.

Une partie de la phase liquide est repiquée sur un milieu neuf pour chaque tube.

Cette opération lecture-repiquage est répétée chaque semaine pendant 4 à 5 semaines avant de conclure à un résultat négatif.



Figure 37:Premier repiquage des milieux^[72].



Figure 38: Deuxième repiquage des milieux^[72].

La mise en évidence du parasite s'effectue par lecture des lames colorées au microscope optique à fort grossissement $G \times 100$, à l'huile d'immersion. Les parasites apparaissent sous formes promastigotes.

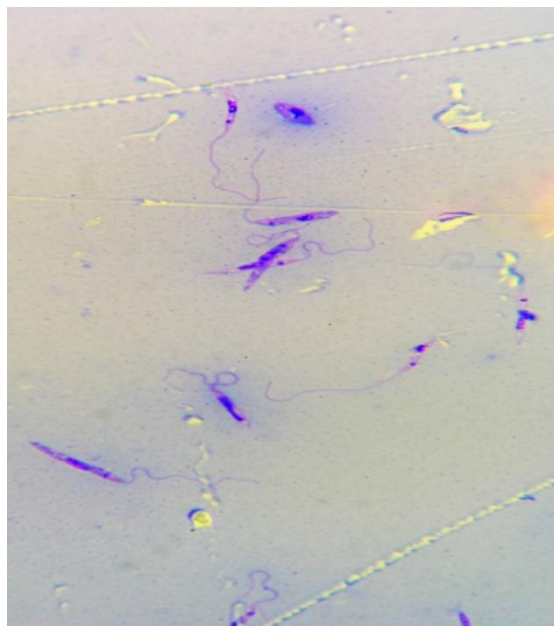


Figure 39: Formes promastigotes^[72].

CONCLUSION

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

La Kabylie est connue depuis longtemps comme étant le foyer le plus actif de la leishmaniose cutanée.

L'outil de diagnostic utilisé pour la mise en évidence du parasite *Leishmania* était représenté par l'examen direct des différents frottis, suivis par la culture pour la confirmation des résultats.

Malgré les limites rencontrés au cours de notre travail représentés par : la difficulté de la préparation du milieu de culture NNN et blanc d'œuf, 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 plusieurs aspects cliniques (ulcéro-croûteuse, inflammatoire, croûteuse, nodulaire...), au niveau de la wilaya de Tizi Ouzou.

Nos observations soulignent l'importance du diagnostic parasitologique 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.

Résumé

La leishmaniose cutanée, représente les maladies vectorielles les plus fréquentes en Algérie. Elle due à des protozoaires, flagellés du genre *leishmania*, transmis par une pique d'insecte phlébotome femelle, le phlébotome est le seul vecteur inoculateur de l'agent pathogène. Sa conformation biologique est nécessaire avant l'administration des traitements contraignants, coûteux et toxique qui leurs sont réservés.

La grandes Kabylie avec sa biodiversité bioclimatique humide et subhumide, est connue depuis longtemps comme étant le foyer le plus actif des leishmanioses cutanées du Nord.

Cette étude comprend deux parties :

La première est la préparation des milieux de culture pour le diagnostic des leishmanioses cutanées au niveau du CHU de Tizi Ouzou dans le but d'amélioration des techniques de diagnostic de ces parasitoses.

La deuxième est la partie qui s'intéresse à l'étude transversale descriptive des cas des LC réalisée au niveau du laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi Ouzou sur une période de 04 mois allant du 1^{er} Novembre 2018 au 28 Février 2019.

Durant cette période on a recensé 21 cas de la LC, la culture était positive dans 57.14% des cas et l'examen direct dans 23.81%. En effet cette culture a permis de redresser le diagnostic pour 7 patients dont l'examen direct était négatif.

La culture a également l'avantage de donner l'identification précise des espèces de *Leishmania* en cause.

Mots clefs : Leishmanioses Cutanées, diagnostic, transversale descriptive.

Abstract

Cutaneous leishmaniasis is the most common vector-borne disease in Algeria. It is caused by protozoa, flagellates of the genus *Leishmania*, transmitted by a bite of female phlebotomine insect, the sandfly is the only vector inoculating the pathogen. Its biological conformation is necessary before the administration of the binding, expensive and toxic treatments which are reserved to them.

Large Kabylie with its humid and subhumid bioclimatic biodiversity has long been known to be the most active focus of cutaneous Leishmaniasis in the North.

This study consists of two parts:

The first is the preparation of culture media for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis at the Tizi Ouzou CHU in order to improve diagnostic techniques for these parasitic infections.

The second is the part that is interested in the descriptive cross-sectional study of LC cases performed at the parasitology-mycology laboratory of Tizi Ouzou University's NEDIR MOHAMED CHU over a period of 04 months from November 1, 2018 to February 28, 2019.

During this period there were 21 cases of LC, the culture was positive in 57.14% of cases and the direct examination in 23.81%. Indeed, this culture made it possible to correct the diagnosis for 7 patients whose direct examination was negative. The crop also has the advantage of giving the precise identification of the *Leishmania* species involved.

Key words: Cutaneous leishmaniasis, diagnostic, transverse descriptive.

Références Bibliographiques

- [1]. Dedet J.P. (2009) : Leishmanies ,Leishmanioses :biologie clinique et thérapeutique, maladies infectieuses. Ed.Masson. Paris France.8-506-A-10.
- [2]. Desjeux P. (1996). Leishmaniasis : public health aspects and control. *Clin. Dermatol.* , 14 417-423
- [3]. Harrat, Z. et Belkaid, M. «Les leishmanioses dans l'Algérois. Données épidémiologiques.» Manuscrit n°DK/42. 6ème congrès international francophone de médecine tropicale "Santé et urbanisation en Afrique" (Dakar, octobre 2001). Séance délocalisée de la SPE., 2001
- [4]. Benikhlef, R., Harrat, Z., Toudjine, M., Djerbouh, A., Bendali-Brahim, S., & Belkaid, M. (2004).«Présence de *Leishmania infantum* mon-24 chez le chien,» *Med Trop* 2004; 64 : 381-383.
- [5]. Belazzoug S. (1983) : Le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de M'sila (Algérie), infestation naturelle de « *Psammomys obesus* » (rongeur, gerbillidé). *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 76 :146-149.
- [6]. Harrat, Z., Boubidi, S., Pratlong, F., Benikhlef, R., Selt, B., Dedet, J., Ravel , C. et Belkaid, M. «Description of a dermatropic *Leishmania* close to *L. killicki* (Rioux, Lanotte & Pratlong 1986) in Algeria,» *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* (2009) 103, 716—720, 2009.
- [7]. Boudrissa A., Cherif K., Kherrachi I, Benbetka S, Bouiba L, Boubidi SC, Benikhlef R, Arrar L, Hamrioui B,Harrat Z(2012). Extension de *Leishmania major* au nord de l'Algérie. *Bull Soc Pathol Exot* 2012 ; 105:30-5.
- [8]. Harrat,Z., F. Pratlong, S. Belazzoug, J.M. Dereure, Deniau, J.A. Rioux, M. Belkaid and J.P. Dedet. (1996). *Leishmania infantum* and *Leishmania major* in Algeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 90(6): 625-629.
- [9]. Harrat, Z., Boubidi, S., Pratlong, F., Benikhlef, R., Selt, B., Dedet, J., Ravel , C. et Belkaid, M. «Description of a dermatropic *Leishmania* close to *L. killicki* (Rioux, Lanotte & Pratlong 1986) in Algeria,» *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* (2009) 103, 716—720, 2009.
- [10]. Masmoudi, Ayadi, . Boudaya,. Meziou, Mseddi. Marrekchi, Bouassida, Turki & . Zahaf.(2006). Polymorphisme clinique de la leishmaniose cutanée du centre et sud tunisien. Manuscrit n° 2910. *Bull Soc Pathol Exot*, 2007, 100, 1, 36-40
- [11]. Dedet, J. P, Addadi, K. & Lannuzel, B. (1977). Epidémiologie Des leishmanioses en Algérie. La leishmaniose viscérale Dans le foyer de Grande Kabylie. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 70,250-265.
- [12]. Izri, M., Belazzoug, S., Boudjebla, Y., Dereure, J., Pratlong, S., Delabre- Delmente, A. et Rioux, J.-A. (1990).«*Leishmania infantum* mon-1 isolé de *Phlebotomus perniciosus* en Kabylie (Algérie),» *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*65 : n° 3, 151-152.

- [13]. Marty P et al .Actualités sur les leishmanioses en France. Archive de pédiatrie 2009 ; 16 ; S96-S100 .
- [14]. Desjeux P. *Leishmaniasis*, current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004 ; 27,305-18.
- [15]. Dedet,2001. Leishmanies. leishmaniose, biologie clinique et thérapeutique encyclopédie médico-chirurgical : 8 :p506-510.
- [16]. Hamel, H. Etude comparée des boutons d'Alep et de Biskra. Red. Mém. Med. Chir. Pharma. Mil ;1860, 4,314-377.
- [17]. Cunningham, D.D. On the presence of peculiar parasitic organisms in the tissue culture of specimen of Delhi boil. Sci. Mem. Offic. Army India ; 1885, 1, 21-31.
- [18]. Lemaire, G. Premier cas de leishmaniose algérienne. Bull. Soc. Pathol, exot ; 1911, 4,554-563.
- [19]. Sergent E, Gueidon E. Chronique du bouton d'orient en algerie*le clou de Mila*. Arch. Inst. Pasteur Algérie ; 1923, 1, 1-3.
- [20]. Euzeby, J. Leishmaniose histoire naturelle. Med. Armée, 22,1, 11-14.
- [21]. Dedet. J.P. Les leishmanioses, Ed, Ellips Paris 1999.
- [22]. Sergent, E., et, P. I., Donatien, A., & Beguet, M. (1926). Transmission expérimentale du bouton d'Orient (clou de Biskra) à l'homme par *Phlebotomus papatasi* (Scop.). Arch Inst Pasteur, 40, 411-430.
- [23]. Roberts, L.S. and Janovy, J.J. (2000). *Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' Foundations of Parasitology* . McGraw-Hill Higher Education, Boston
- [24]. Jarry D.M. (1999) : Historique des leishmanioses et de leurs complexes pathogènes. In Dedet J.P., Les Leishmanioses, Ellipses Ed., Paris, 89-108.
- [25]. Bachi F. Résidanat de Parasitologie-Mycologie, leishmanioses, Istitut Pasteur d'Alger ; 2004.
- [26]. Maquaire S. (1997) - Etude des activités protéasiques constitutives et excrétées-sécrétées au cours du cycle de développement parasitaire de *Leishmania amazonensis*. Diplôme d'Etude Approfondie de Parasitologie Université des Sciences et Techniques du Languedoc – Montpellier II ,47pp.
- [27]. Killick-Kendrick R. Phlebotomine vectors of leishmaniasis : a review. Med Vet Entomol 1990;4:1-24.
- [28]. www.alae.iquebec.com.
- [29]. www.parasitologie.univ-montp1.fr.
- [30]. Dede J.P, Pralong F.(2001). Leishmanioses. In: Epidémiologie des maladies parasitaires. (Ripert C.Ed). Edition Médicales Internationales, 3 :221-241.

- [31]. Killick-kendrick R. Biology of Leishmania in phlebotomine sandflies. In: Lumsden, W.H.R. and Evans, D.A. (eds.), *Biology of the Kineplastida*, 1979, vol. 2, pp.396–460. Academic Press, London.
- [32]. Bachi, F.(2001). Amélioration des moyens diagnostique des leishmanioses en Algérie. Thèse de Doctorat en Sciences Médicales. Faculté de Médecine. Université d'Alger.
- [33]. Poinsignon A. (2005) - Diversité et fonctions des protéines salivaires chez les arthropodes vecteurs : Etude de la relation immune homme/vecteur au cours de la Trypanosomiase Humaine Africaine. Thèse doctorat. Faculté de Pharmacie. L'université de Paris XI, 60p.
- [34]. Pinto M.C., Campbell-Lendrum D.H., Lozovei A.L., Teodoro U et Davies C.R. (2001) - Phlebotomine sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. *Medical and Veterinary Entomology*; 15: 132-139pp.
- [35]. Courtenay O., Quinnell R.J. et Dye C. (2001) - The role of foxes (*Carnivora: canidae*) in the maintenance and transmission of *leishmania infantum*: implications for peridomestic control. In: Summaries of presentations at the International Canine leishmaniasis Forum, 20-24 mai 2001, Crète, Grèce, 17.
- [36]. Roqueplo C. (2003) - Influence du port d'un collier antiparasitaire contenant de la deltaméthrine sur les performances olfactives du chien, Thèse doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine de Créteil, 183p.
- [37]. (Sergent et al, 1910). Sergent E.D., Sergent E.T. (1910) : Kala-Azar. Existence de la leishmaniose canine chez les chiens d'Alger. Première note. Bull. Soc. Path. Exot. 3, 510-511.
- [38]. Belazzoug S. (1984) : La leishmaniose en Algérie à travers l'identification isoenzymatique des souches. *Coll. Inter. Tax. Phy. des Leishmania*, Montpellier : 397-400.
- [39]. Belazzoug S, Addadi K, Mokrani T, Hafirassou N, Hamrioui B, Belkaid M. (1985). La leishmaniose viscérale en Algérie , étude des cas hospitalisés entre 1975 et 1984. *Ann Soc Belg Med Trop* 1985 ;65 : 329-35.
- [40]. Belazzoug S (1987) .La leishmaniose canine en Algérie. *Magh Veter* 3:(13):p11-13.
- [41]. Belazzoug (1986). «Découverte d'un *Meriones shawi* (rongeur, gerbillidé) naturellement infesté par *Leishmania* dans le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de Ksar Chellala (Algérie) = Discovery of M.s. naturally infected with L. in the new focus of cutaneous leishmaniasis o» 1986, vol. 79, no5, pp. 630-633 (7 ref.).
- [42]. Izri A., Depaquit J., Parola P. (2006) : Phlébotomes et transmission d'agents pathogènes autour du bassin méditerranéen. *Médecine Tropicale*, n°66. 429-435.
- [43]. Dolmatova, A. et Demina, N. (1971). « Les Phlébotomes (phlébotornonad) et les maladies qu'ils transmettent.» *Initiation-Documentation-Technique N°18 O.R.S.T.O.M. Paris, 1971, 168 p. Epidémiologie diagnostic. Traitement et prophylaxie.127 :P121-148.*
- [44]. <http://www.esccap.fr/maladies-vectorielles/leishmaniose.html>.
- [45]. Eugénie Gay, Hélène Guegan, Marie Ameline, Jean-Pierre Gangneux (2015). Les leishmanioses humaines : parasitoses importées et autochtones :p461-477.

- [46]. World Health Organization (WHO) (2011). Expert Committee on the control of leishmaniasis, control of the leishmaniasis. Report of a meeting of the who expert committee on the control of leishmaniasis, Geneva, 22 - 26 March 2010 WHO technical report series, Ed WHO (Geneva) Vol.
- [47]. 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
- [48]. World Health Organization (WHO) (2015). South-east Asia poised to defeat visceral leishmaniasis (kala-azar). Geneva Three countries of WHO's south-east Asia region.
- [49]. Dedet J-P, Beranrd C, Nicole D Gilles B , *et al* (2013). Épidémiologie des leishmanioses autochtones en France métropolitaine et d'outre-mer, *Presse Med* :p01-12.
- [45]. Eugénie Gay, Hélène Guegan, Marie Ameline, Jean-Pierre Gangneux (2015). Les leishmanioses humaines : parasitoses importées et autochtones :p461-477.
- [47]. Alvar J, *et al* (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence *PLoS One*, 7(5): p :35671.
- [50]. Dedet. J.P (2009). Leishmaniasis, leishmanioses : biologie, clinique et thérapeutique *Elsevier Masson Sas a-10* :p508-506
- [51]. Harrat Z, Hamrioui B , *et al* (1995) . Point actuel sur l'épidémiologie des leishmaniose en algérie .*Bull Soc Pathol Exot* ; 88 :p180-184.
- [52]. Fendri A H , Beldjoudi W , Ahraou S , Djaballah M (2011). Les leishmanioses diagnostiquées au CHU Benbadis de Constantine (Algérie) : Bilan de cinq années (2006–2010) *Bull. Soc. Pathol. Exot* 105:p46-48.
- [53]. Bachi F (2006) .Aspects épidémiologiques et cliniques des leishmanioses en Algérie. *La Lettre de l'infectiologue* 21(1):p09–15.
- [54]. Abdelouhab A , Mesli M F , Ahmed Fouatih Z (2007). Les Leishmanioses en algérie : situation épidémiologique . *Bull Soc Pathol Exot* ; 100(4) :p303 -308.
- [55]. Boudghene-strambouli O et Merad-boudia A, (1991). l'extension de la leishmaniose cutanée en Algérie : 25 cas observés dans la wilaya de Tlemcen (oust Algérie .*Bull.Soc.Path.EX*:p63-69.
- [56]. Lannot G, Maazoun R *et al* (1908) .Un nouveau variation enzymatique *Leishmania infantum* .*Nicole*; 60 :p01-03
- [57]. Izri .M .A et Belazzoug S, (1993). *Phlebotomus (lar-roussius) perfiliewi*. Naturally infected with dermatropic leishmania-infantum at Tenes. Algeria. *Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg*: p387-399.
- [58]. Marty P, Lacour JP, Pratlong F, *et al* (1998). Leishmaniose cutanée localisée due à *Leishmania infantum* Mon -1 contractée dans le Nord de l'Algérie. *Bull Soc Pathol Exot* 91 (2) : p146 -147
- [59]. Paratlong F, Harrat Z , *et al* (1990). *Leishmania major* in Algeria .*Tans. R.Soc. Trop Med. Hyg* 90 : p 625-629 .

- [60]. Centre National de Référence des Leishmanioses information pratique : modalités de fonctionnement (www.parasitologie.univ-montp1.fr).
- [61]. Izri M A, Belazzoug S , Pratlong F ,Rioux JA (1992) .Isolement de *Leishmania major* MON 25 de *Phlebotomus papatasi* à Biskra ; Algérie .Ann Parasitol Hum Comp ; 67 :p31-32.
- [62]. Boubidi S , Harrat Z , *et al* (1998). Description of a dermatropic leishmania close to *L.killicki* in Algeria. Trans .R.Soc. Trop. Med .Hyg 103(7) :p716-720 .
- [63]. Epelbion loic (2012). Prise en charge de la leishmaniose en Algérie.
- [64]. Dedet J.P. (2009) : Leishmanies ,Leishmanioses :biologie clinique et thérapeutique . maladies infectieuses. Ed.Masson. Paris France.8-506-A-10.
- [65]. OMS (2010). «La lutte contre les leishmanioses,» *OMS S° 949.érie de rapports techniques, N*
- [66]. Izri A., Belazzoug S.(2007).diagnostic de laboratoire des Leishmanioses rencontrées en Algérie . revue Francophone des laboratoires .supplément au N°396.p 3-8.
- [67]. HAMZA S (1995). *Aspects épidémiologiques et anatomo-cliniques des leishmanioses cutanées en Tunisie : expérience du service de dermatologie de la Rabta (1984-1993)*. Thèse médecine .Tunis.
- [68]. ZAKRAOUI H, BEN SALAH A, FTAITI A, MARRAKCHI H, ZAATOUR. Évolution spontanée des lésions de leishmaniose cutanée à *Leishmania major*. *Ann Dermatol Vénéréol*, 1995, 122, 405-407.
- [69]. Belazzoug, S., Lanotte, G., Maazoun, R., Pratlong, F., & Rioux, J(1985). «Un nouveau variant enzymatique de *Leishmania infantum* Nicolle, 1908,Agent de la leishmaniose cutanée du nord de l'Algérie,» *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*1985, t. 60, n° 6, pp. 1-3.
- [70]. Trabelsi S. La leishmaniose sporadique à leishmania *Infantum*. Tunis : Thèse de médecine ; 2000.
- [71]. Mokni .M, Boubake. Ben Salah.A. (2014).Dermatologie infectieuse .40, 219- 227.
- [72]. Photo personnelle-Service de parasitologie-Mycologie Médicale, CHU de Tizi Ouzou, Novembre 2018-Février 2019.
- [73]. Fichoux Y., Marty P. & Kubar J. (1999). Diagnostic des leishmanioses. In.
- [74]. Samake S. (2006) . Epidémiologie de la leishmaniose cutanée à kemena et sougoula (cercle de baroueli).Thèse de Doctorant en pharmacie . Université de Bamako 86p : 05-21.
- [75]. Djeddar-Mihoubi I. 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.
- [76]. Quitterie N, Odette ,Nadau C, (2005) . Etude préliminaire de l'utilisation de la protéine LACK dans le test d'intra-dermo-réaction de la leishmaniose canine-sabatier, Toulouse-116 :p12-51.

- [77]. Choi C.M. & Lerner E.A. (2001). Leishmaniasis as an Emerging Infection. *JID SymposiumProceeding*, 8 (3): 175-182.
- [78]. Chargui N., Bastien P., Kakkal K., Haoues N., Akrouf M.F., Masmoudi A., Zili J., Chaker E., Dhahri-Ben Othman A., Azaiez R., Crobu L., Mezhoud H. & Babba H. (2005). Usefulness of PCR in the diagnosis of cutaneous leishmaniasis in Tunisia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 99 (10): 762-768.
- [79]. Marques M.J., Volpini A. C., Machado-Coelho G.L.L., Da Costa C.A, Mayrink W., Genaro O. & Romanha A.J. (2006). Comparison of polymerase chain reaction with other laboratory methods for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis. *Diagnosis of cutaneous leishmaniasis by polymerase chain reaction. Parasitol*, 54: 37-43.
- [80]. Faber W.R, 2003 ; - Faber W.R., Oskam L., Van Gool T., Kroon; N.C., Knegt-Junk K.J., Hofwegen H., Van der Wal A.C. & Kager P.A. (2003). Value of diagnostic techniques for cutaneous leishmaniasis. *J Am Acad Dermatol* , 49: 70-74.
- [81]. Vega-Loper F (2003). Diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *Curr Opin Infect Dis* 16: p 97-101.
- [82]. De Monbrison F., Angei C, Staal A., Kaiser K. & Picot S. (2003). Simultaneous identification of the four human plasmodium species and quantification of plasmodium DNA load in human blood by real-time PCR. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 97: 1-7.
- [83]. Wortmann G. W., Hochberg G.L., Houg H.H., Sweeny C., Zapor M., Aronson N., Wein P. & Ockenhouse C.F. (2005) . Rapid identification of Leishmania complexes by a Real-Time PCR assay. *Am. J Trop Med Hyg* 73(6): 999-1004.
- [84]. Organisation Mondiale de la santé /TDR. (2010). «La lutte contre les leishmanioses,» OMS S° 949. Série de rapports techniques, N.
- [85]. KISHORE, K. Kumar, V. Kesart, S. Dinesh, D,S. Kumar, A. J.Das. P.Bhattacharya S,K. Vector control in leishmaniasis. *Indian J. Med. Res* ; 2006, 123,467-472.
- [86]. KILLICK-KENDRICKET, R. KILLICK-KENDRICKET, M. Focheux, C. Dereure, J. Puech, M,P. Cadiergues. M, C. Protection of dogs From bites Of Phlebotomine sandflies by delmethrin collars for control of canine Leishmaniasis. *Med . Veter. Entomo* ;1997, 11, 105-111.
- [87]. Virbac SA, F-06516 Carros.
- [89]. Programme National de Lutte contre la Leishmaniose 2014.
- [90]. Organisation Mondiale de la santé /TDR. Dix- septième rapport du programme; 2005, Progrès de la recherche 2003-2004, 18-13.
- [91]. JALOUK, L., Al Ahmedm .M., Gradoni, L, Maroli, M. Insecticide- Treated bednets to prevent anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Aeppo governorate, Syria, results from two trials. *Trans. Trop. Med. Hyg*; 2007, 101, 4, 360-367.
- [92]. Rogier Christoph, Carole Else Eboumbou Moukoko, Eve Orlandi-Paradines, Sébastien Briolant.(2007) . Vaccin antiparasitaires : où en est-on ? *La Revue du praticien* ; vol57, n°2, pp. 183-188.
- [93]. Dedet J.P. & Pratlong F. (2000). Taxonomie des *Leishmania* et distribution géographique des leishmanioses. *Ann Dermatol Venerol*, 127 : 421-424.

[94]. H. Zait, B.Hamrioui, Leishmanioses cutanées en Algérie Bilan de 386 cas diagnostiqués au CHU Mustapha d'Alger de 1998 à 2007O, Volume 2009, Issue 412,May2009,Pages33-39.