



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

Intitulé :

Aspects clinique et génétique des leishmanioses cutanée et viscérale

Présenté et soutenu par : BOUGHELLOUT MOUNIRA

Le : 21/06/2016

BOUKROUMA AMIRA

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Dr REZGOUNE-CHELLAT D (MCA)*

Rapporteur : *Mme BOUDOKHANE IBTISSEM MOUNA (MAA)*

Co-encadreur : *Dr REHAMNIA YACINE*

Examineurs : *Dr CHETTOUM AZIZE (MCA)*

*Année universitaire
2015 - 2016*

Remerciements

En terminant notre mémoire de fin d'études, il nous est agréable d'adresser nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin à élaborer ce mémoire.

*La première personne que nous tenons à remercier sincèrement est notre encadreur madame **BOUDOKHANE IBTISSEM**, nous lui sommes reconnaissantes, pour ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa sympathie et ses efforts pour la réalisation de ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent également à notre co-encadreur Monsieur **Rehamniya Yassine**, pour sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements et son assistance morale*

Sincèrement vous nous faites l'honneur d'être notre co-encadreur merci

*Nous remercions également Monsieur **CHETTOUM AZIZE** pour avoir accepté d'être l'examineur de ce modeste travail et pour son aide, et ses précieux conseils
merci beaucoup*

*Nous tenons à remercier spécialement Mme **SATTA** notre mère de la génétique et madame **CHAOUIN** et monsieur **REZGOUNE LARBI** et tous nos enseignants qui ont veillé sans relâche de nous transmettre le savoir durant tout notre cursus*

Nous remercions particulièrement et profondément tout le personnel de L'HOPITAL MILITAIRE ALI MENDJLI (Monsieur NADIR, Monsieur FATEH, Monsieur KADAOUI ; Monsieur HAMDIA et Madame DJAMILA)

Spécialement l'équipe du laboratoire de parasitologie (LAMIA, HOUDA TOUFIK, KAMEL, WALID ET SAID).

Dédicaces

Que ce travail témoigne de mes respects :

A la mémoire de **mon grand père** je souhaite que dieu t'accueille dans son vaste paradis, je ne t'ai jamais oublié, tu resteras toujours dans mon cœur,

Amon père , qui a œuvré pour ma réussite de par son amour, son soutien , tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils pour toute son assistance et sa présence dans ma vie .

A la source de chaleur et tendresse l'origine de douceur et patience **ma mère** .

Grace à leurs tendres encouragements et leur grand sacrifice

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux

A mes chers frères (Hssin, Marwan , Anis , Al moatez billah)

A mes adorables sœurs (Ines , Aridj) , je vous aime très fort , et je vous souhaite tout le bonheur , la joie et le succès ,

A mon oncle **Fatah** et ma tante **Samra** , et tous les membres de ma famille Boukrouma .

Une spéciale dédicace à **mes amis** et mes collègues et tout particulièrement à (**Mimi, Meriem, Mounira, Soumia, Mounia, Sara, Abdou, Rida, salah**)

Ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.

A Tous ceux que j'ai omis et qu' ils sont dans mon cœur.

Amira

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mon père : **Tayeb**

Qui m'a appris tant et montrer le chemin de la réussite par ses conseils. J'apprécie ton sens de la dignité, ton respect du prochain, ta loyauté ta sincérité. Merci pour ces valeurs partagées pour notre éducation.

Ma mère : **Ghalia**

Qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Merci ma mère et mon père pour votre soutien tout le long de ma vie scolaire

A ma sœur **Kanza**, à mes frères **Karim, Ayoub, Souheyl**

A mes oncles et tantes et surtout ma tante **Zina et Habiba** , à toutes mes cousines.

A mes amis : **Izdihar, Amira, Nora, Meriem, Widade, Houda, Hadjer** merci pour vos soutiens et vos conseils, ce travail est le fruit de votre bonne collaboration

Merci à toutes les personnes qui ont donné un avis critique sur notre mémoire.

Mounira

LISTE DES FIGURES :

Figure 01 : Les « pères » des leishmanies. William Leishman et Charles Donovan.....	3
Figure 02 : La forme amastigote de leishmania.....	5
Figure03 : La forme promastigote de leishmania.....	5
Figure 04 : Organisation cellulaire de Leishmania	6
Figure 05 : Cycle de vie de parasite leishmania.....	7
Figure 06 : Phlébotome mâle et femelle.....	8
Figure 07 : Cycle de vie de phlébotome	9
Figure 08 : Les réservoirs des leishmanioses en Algérie	10
Figure 09 : Répartition géographique des leishmanioses LC, LCM et LV dans le monde	11
Figure 10 : Aires d'extension des leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses	14
Figure 11: Repartition géographique de la leishmaniose cutanée en Algérie en 2009	17
Figure 12 : Interactions entre le macrophage et la leishmanie (promastigote) via leurs molécules de surface et des protéines solubles	21

Figure 13 : Rôle de la galectine 3 dans les interactions parasite-macrophage	22
Figure 14: la splénomégalie au cours d'une leishmaniose viscérale infantile	24
Figure 15 : A : Nodule ulcérocroûteux . B : Lésion papulonodulaire de la phase de début.....	25
Figure 16 : Groupement des lésions dans une forme de leishmaniose cutanée causée par <i>Leishmania major</i>	26
Figure 17 : Injection intra-lésionnelle d'antimions	32
Figure 18 : Chromosome 1 de leishmania major.....	33
Figure19 : Schématisation du mécanisme d' « editing » chez les kinétoplastidées	34
Figure 20 : Organisation génique et maturation des messagers chez <i>Leishmania</i>	35
Figure 21 : Études transcriptomiques chez <i>Leishmania</i>	36
Figure 22 : La forme ulcéro-croûteuse de la LCZ.....	40
Figure 23 : les étapes de l'examen direct	38
Figure 24 : Les formes amastigotes des leishmanies, sur un prélèvement coloré au Giemsa.....	39
Figure 25. Matériel de la ponction de moelle osseuse.....	40
Figure 26 : Les étapes de la ponction de la moelle osseuse.....	41
Figure27 : La trousse cypress diagnostics de meishmania.....	Annexe

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : taxonomie de leishmaniose (Dedet, 2009).....	4
Tableau 02 : les principaux foyers de leishmaniose (Dedet, 2013).....	12
Tableau 03 : La leishmaniose viscérale en quelques chiffres clés (Gangneux et al, 2015).....	15
Tableau 04 : Sensibilité de l'examen direct dans le diagnostic de la LC.....	44

LISTE DES ABREVIATIONS

- ADN : Acide désoxyribonucléique
- ARN : Acide ribonucléique
- CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité
- CNRL : Centre national de référence des *Leishmania*.
- DAT : Test d'agglutination direct
- ED : Examen direct
- ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assaay
- GIPL : Glycosylinositol
- Gp63: Glycoprotéine membranaire de 63 kDa
- IFAT : Immunofluorescence indirect
- INF- γ : Interféron- γ
- LC : Leishmaniose cutanée
- LCD : Leishmaniose cutanée diffuse
- LCL : Leishmaniose cutanée localisée
- LCM : Leishmaniose cutanéomuqueuse
- LCN : Leishmaniose cutanée du nord
- LCZ : Leishmaniose cutanée zoonotique
- LPG : Lipophosphoglycane
- LV : Leishmaniose viscérale
- MGG : May-Grunwold-Giemsa
- MON: Montpellier
- NNN : Novy .Mc Neal et Nicolle
- NRAMP1 : Natural Resistance- Associated Macrophage Protein
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- PCR : Polymerase chain reaction

- VIH : Virus de l'immunodéficience acquise chez l'homme
- WB : Western Blot

Table des matières

SOMMAIRE

Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
1. Généralités.....	2
2. Historique	2
3. Epidémiologie	3
3.1. Agent pathogène.....	3
3.1.1. Taxonomie.....	3
3.1.2. Morphologie	4
3.1.3. Organisation cellulaire	6
3.1.4. Cycle de vie de Leishmania	7
3.2. Le vecteur.....	7
3.2.1. Classification.....	8
3.2.2. Cycle de vie.....	9
3.3. Les réservoirs du parasite.....	9
3.4. Répartition géographique des leishmanioses	10
3.4.1. La leishmaniose dans le monde.....	10
3.4.1.1. La leishmaniose cutanée LC	12
3.4.1.2. La leishmaniose cutanéomuqueuse LMC	13
3.4.2.2. La leishmaniose viscérale.....	14
3.4.2.3. La leishmaniose canine	15
3.4.2.4. La Leishmaniose en Algérie.....	15
3.4.3. La leishmaniose cutanée.....	16
3.4.3.1. La leishmaniose cutanée du nord	16
3.4.3.2. La leishmaniose cutanée zoonotique.....	17
3.4.3.3. La leishmaniose viscérale.....	17
3.4.3.4. Les facteurs de risque et extension des leishmanioses.....	18
4. Physiopathologie	18
5. Aspect clinique des leishmanioses	22
5.1.1. Leishmaniose viscérale	22
5.1.1.1. La leishmaniose viscérale infantile	23
5.1.1.2. La leishmaniose viscérale de l'adulte.....	23
5.1.2. La leishmaniose cutanée.....	24
5.1.2.1. La leishmaniose cutanée zoonotique.....	24
5.1.2.2. La leishmaniose cutanée du Nord	25
5.2. Méthodes de diagnostic des leishmanies.....	25

5.2.1. Méthodes directes.....	25
5.2.1.1. Prélèvements	26
5.2.1.2. Traitement des prélèvements.....	26
5.2.1.3. Mise en culture	26
5.2.1.4. Diagnostic moléculaire.....	27
5.2.2. Méthodes indirectes.....	28
5.2.2.1. Méthodes sérologiques	28
a. Western Blot.....	28
b. Agglutination directe : DAT	29
c. Test de diagnostic rapide	29
d. Technique de détection antigénique urinaire	29
5.3. Traitement des leishmanioses.....	30
6- Aspect génétique des leishmanias.....	30
6.1. Génome de leishmanias.....	30
6.1.1. Génome nucléaire.....	31
6.1.2. Génome kinétoplastique.....	32
6.2.1. Analyse transcriptomique.....	33
6.2.2. Analyse protéomique.....	35
6.3. Susceptibilité génétique et immunité de l'hôte	36
6.4. Chimiorésistance	36

Chapitre II : Patients et méthodes

1. La leishmaniose cutanée.....	37
1.1. Description des lésions.....	37
1.2. Prélèvements	37
1.3. Examen direct.....	38
2. la leishmaniose viscérale.....	40
2.1. La ponction de moelle	40
2.2. Examen direct.....	41
2.3. Examen sérologique	41
a) But.....	41
b) Principe	41
c) Interprétation	42

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Diagnostic des leishmanioses.....	44
1.1. Patients.....	44
1.2.Examen parasitologique.....	44
2. Enquête statistique.....	45

2.1.Répartition du pourcentage de positivité de l'examen direct de la leishmaniose cutanée en 2015.....	46
2.2.Répartition du pourcentage de positivité de l'examen direct de la leishmaniose cutanée en 2016.....	46
2.3.La variation mensuelle du nombre de cas de leishmaniose cutanée pendant l'année 2015.....	47
2.4.Variation mensuelle du nombre de cas de leishmaniose cutanée pendant l'année 2016.....	47
2.5.Répartition des cas selon les régions de provenance géographique.....	48
2.6.Répartition de la leishmaniose cutanée selon l'âge pendant l'année 2015-2016.....	49
2.7.Distribution des cas selon le sexe.....	49
Discussion	50
Conclusion	51
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Introduction

Les leishmanioses sont des infections parasitaires communes à l'homme et à certains animaux (anthropozoonoses), elles sont causées par des protozoaires flagellés du genre *Leishmania*, et transmises à l'homme par une piqure d'un insecte vecteur, le phlébotome femelle hématophage (**Dedet, 2013**)

Dans le monde il existe trois formes de leishmaniose, en fonction de l'espèce parasitaire responsable; la leishmaniose cutanée, la leishmaniose cutanéomuqueuse et la leishmaniose viscérale.

Malgré les avancées de la recherche, les leishmanioses restent encore un véritable problème de santé publique, d'après les données de l'organisation mondiale de la santé 350 millions de personnes de la population mondiale sont exposées à ce risque infectieux dans un total de 98 pays (**Eugénie Gay, 2015**). Il est estimé, que le nombre de nouveaux cas par an est de 1,3 millions, et que la mortalité annuelle est comprise entre 20.000 à 30.000 personnes (**OMS, 2015**).

L'Algérie est parmi les pays les plus touchés par cette zoonose, qui est classée comme maladie à déclaration obligatoire, et concernée par cette zoonose par deux formes cliniques sévissant à l'état endémique : la leishmaniose viscérale et la leishmaniose cutanée.

Nous proposons, à travers ce travail de synthétiser en premier chapitre les connaissances les plus récentes sur les leishmanioses, et ce sur le plan clinique et génétique. Quant à la partie pratique réalisée au niveau de l'hôpital militaire de Constantine, nous nous sommes concentrées sur les techniques adoptées pour le diagnostic des leishmanioses, en parallèle nous avons établi une enquête statistique rétrospective durant la période 2015-2016, dans le but de préciser certains paramètres épidémiologiques, enfin, nous terminons notre travail par la présentation des résultats et leur discussion.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

1. Généralités

Les leishmanioses sont des pathologies parasitaires du système monocyte-macrophage, dont l'agent pathogène est un protozoaire flagellé sanguino-tissulaire du genre *Leishmania* ; il s'agit d'une zoonose transmise de vertébré à vertébré par la piqure d'un insecte hématophage appelé phlébotome. La description de la première espèce de *Leishmania* a été faite par Laveran et Mesnil en 1903, et depuis, le nombre d'espèces n'a cessé d'augmenter (**Chabasse et al, 2007**). Il s'avère que plus de 20 espèces qui sont pathogènes pour l'humain, sont transmises par 30 espèces de phlébotomes (**Dedet, 2009**).

2. Historique

Parmi toutes les parasitoses, les leishmanioses sont une des premières décrites au moins dans leur forme cutanée (**Jarry, 1999**). La première description clinique moderne, est celle de Mc Naught en 1882 et c'est Cunnigham 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, qu'il publiait ses résultats en 1903, il s'agissait des formes amastigotes de *Leishmania donovani*. Charles Donovan identifia le même parasite dans une biopsie de rate (**Dedet, 1999. Boussaa ,2008**). Le parasite fut nommé *Leishmania donovani* en leur honneur (**Hide, 2004. Samake ,2006**).

En 1921, les frères Sargent et leurs collaborateurs établissaient le rôle de vecteurs des phlébotomes, en réussissant la transmission du (Bouton d'Orient) (**Mazelet ,2004**). Trois ans plus tard, Knowless et collaborateurs avaient décrit les différentes étapes de l'évolution du parasite (espèce et genre) dans le tube digestif de *phlébotome-argentipes* gorgé sur un malade atteint de leishmaniose viscérale (**Samake, 2006**).

3. Epidémiologie

3.1. Agent pathogène

Les leishmanies sont des flagellés sanguinoles, appartenant à l'ordre des kinétoplastidés et à la famille des trypanosomatidés (**Dedet, 2009**), qui présente au cours de son cycle deux stades évolutifs distincts : le stade amastigote est intramacrophagique et retrouvé chez les hôtes vertébrés dont l'homme. Le stade promastigote libre et mobile est retrouvé dans l'intestin du phlébotome et dans les milieux de culture (**Chabasse et al, 2007**).

Ce parasite est transmis de mammifère à mammifère, par pique d'un arthropode vecteur " le phlébotome" (**Marty, 2009**). Ce dernier pique la nuit ; préférentiellement à la tombée du jour (**Dedet ,2009**). Le parasite pénètre dans le macrophage et le promastigote se transforme en amastigote.

3.1.1. Taxonomie

Les leishmanies sont des parasites protozoaires appartenant au règne des *Protista*, sous-règne des *Potozoa*, Embranchement des *Sarcomastigophora*, Classe des *zoomastigophorea* (**Quitterie et al, 2005**), famille des *Trypanosomatidae* (**Dedet 2001**), Genre *leishmania* (**Hide 2004, 2009**) le Genre *leishmania* comprend 2 sous –Genres *Leishmania* et *viannia* (**Dedet ,2009**), ces espèces sont morphologiquement identiques et ne sont différenciées que par les isoenzymes et l'ADN.

Tableau 01 : Taxonomie de leishmaniose (Dedet, 2009)

Leishmania		Viannia	
Complexes	Espèces	complexes	espèces
<i>L. donovani</i>	<i>L. chagasi</i> <i>L. donovani</i> <i>L. infantum</i>	<i>L. brasiliensis</i>	<i>L. brasiliensis</i> <i>L. peruviana</i>
<i>L. tropica</i>	<i>L. tropica</i> <i>L. killicki</i>	<i>L. guyanensis</i>	<i>L. guyanensis</i> <i>L. panamensis</i>

<i>L. major</i>	<i>L. major</i>	<i>L. naiffi</i>	<i>l. naiffi</i>
<i>L. aethiopica</i>	<i>L. aethiopica</i>	<i>L. laisoni</i>	<i>l. laisoni</i>
<i>L. mexicana</i>	<i>L. mexicana</i>	-	-
<i>L. amazonensis</i>	<i>L. venezuelensis</i>		

3.1.2. Morphologie

Les leishmanies sont des protozoaires (unicellulaires) de l'ordre des *kinétoplastidea*, ils se caractérisent par la présence d'une organelle unique, le kinétoplaste qui est situé à la position basale adjacente au flagelle (près de la poche flagellaire), et qui représente de l'ADN mitochondrial (**Schwenkenbecher et al, 2006**).

Les Leishmanias présentent au cours de leur cycle de développement deux stades morphologiques successifs :

A / Stade amastigote

Les amastigotes sont des petits corpuscules arrondis ou ovalaires d'environ 4 µm de long et 2 µm de large ; possédant un flagelle très court (**Dedet, 1999**) qui ne dépasse pas le corps cellulaire. Les amastigotes présentent en microscopie optique, après coloration un noyau arrondi et un kinétoplaste en bâtonnet plus sombre, et se multiplient par scissiparité. Après éclatement du macrophage, elles parasitent d'autres macrophages sains (**Sacks et al, 2001**).

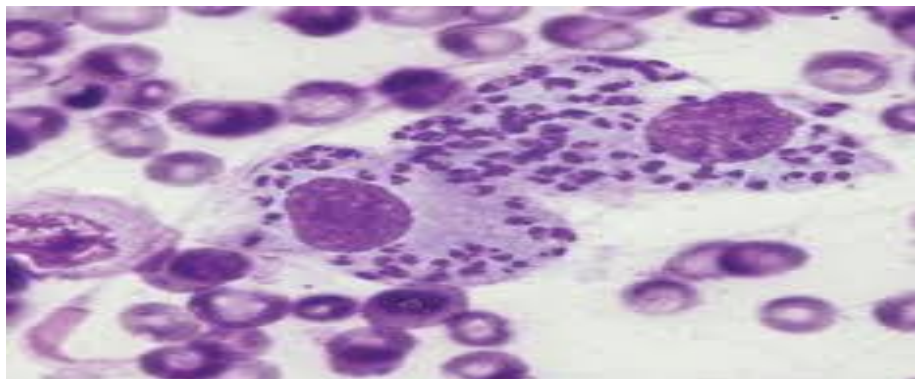


Figure 2 : La forme amastigote de leishmania^[1]

B / Stade promastigote

A corps long (15-25 μm) et mince (2 μm), avec un noyau central, un kinétoplaste et un long flagelle libre antérieur. Ce stade flagellé est libre dans le tube digestif du phlébotome vecteur (Sacks et al, 2001).

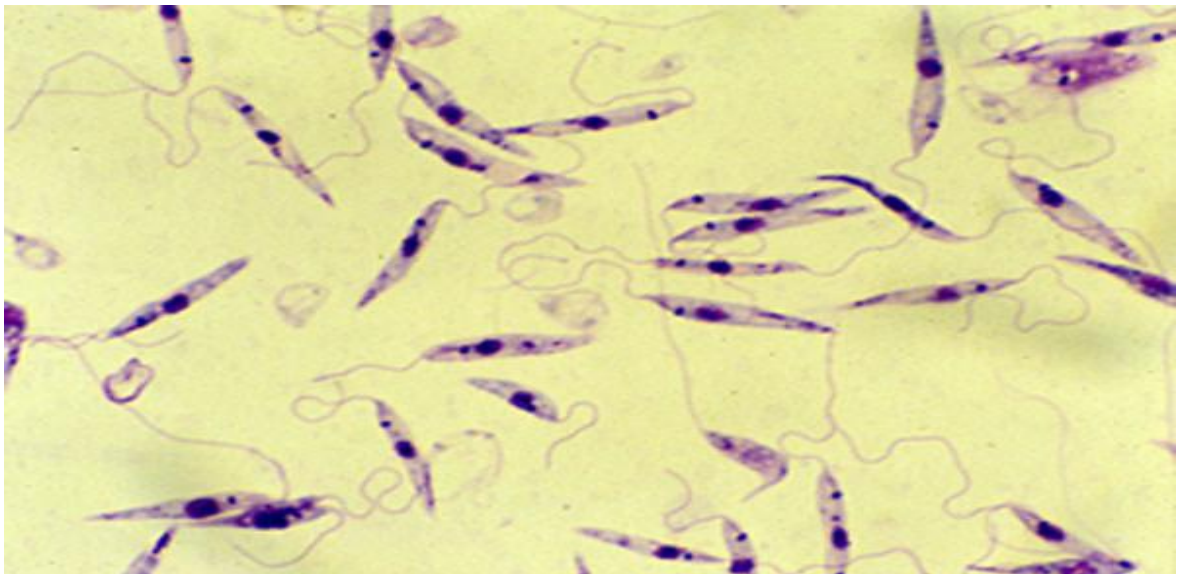


Figure 03 : la forme promastigote de leishmania ^[2]

^[1] www.cvbd.o

^[2] www.parasitologie.univ-montp1.fr/leish2.htm

3.1.3. Organisation cellulaire

Les leishmanies sont des eucaryotes unicellulaires pourvus d'un organe spécifique aux kinétoplastidés, le kinétoplaste, situé en position antérieure. Il contient deux types de molécules d'ADN, les maxi-cercles et les mini-cercles.

La composition cellulaire des leishmanies inclue des organites plus classiques tels que le noyau, le flagelle et sa poche flagellaire ou encore l'appareil de golgi (figure.4). La membrane plasmique est composée principalement de glycolipides de haut poids moléculaire (GIPLs) et de protéines membranaires (Hide, 2004).

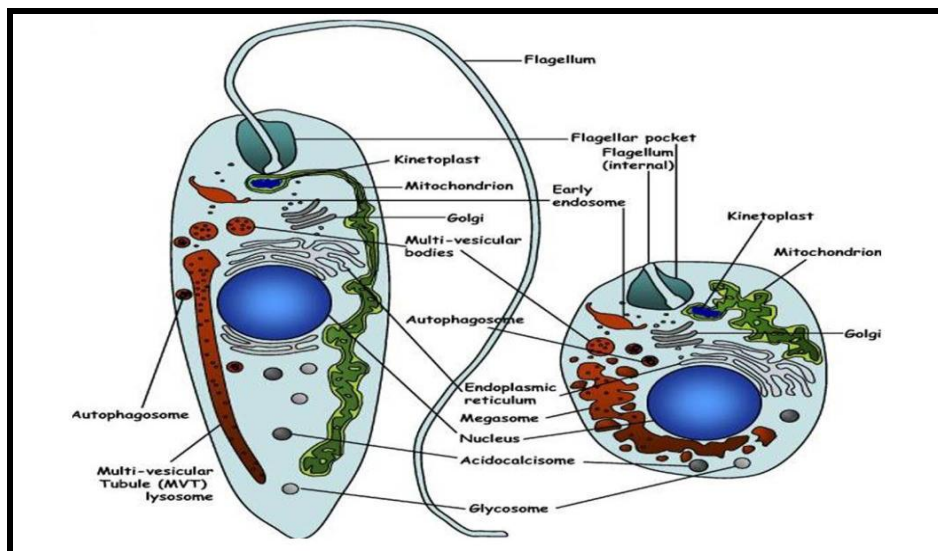


Figure 04 : Organisation cellulaire de Leishmania (Herwaldt, 1999)

3.1.4. Cycle de vie de *Leishmania*

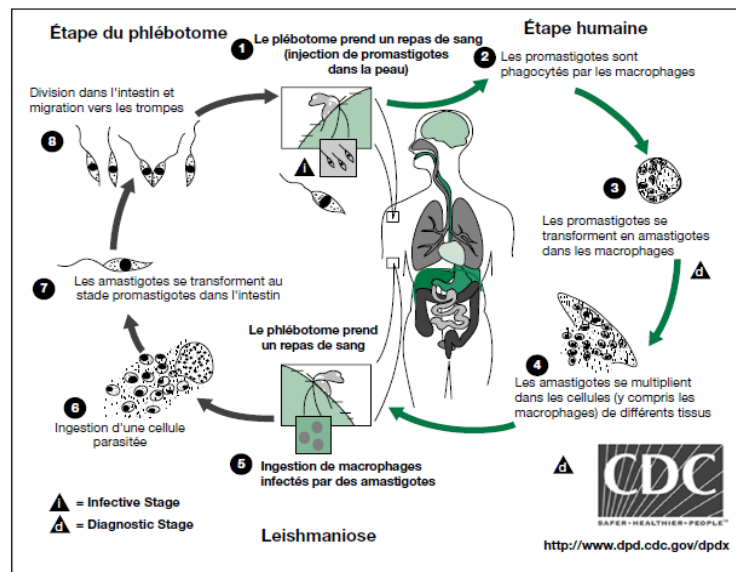


Figure 05: Cycle de vie de parasite leishmania (Carré et al, 2010).

La leishmaniose est transmise à l'hôte définitif par la pique du phlébotome femelle, les phlébotomes injectent la larve au stade infectieux ; des promastigotes métacycliques, pendant le repas de sang (1). Les promastigotes métacycliques qui atteignent la plaie de pique sont phagocytés par les macrophages (2), et se transforment en amastigotes (Aurbry, 2014). (Ben Ismail et al, 1989) . (3). Les amastigotes se multiplient dans les cellules infectées et atteignent différents tissus. Les phlébotomes s'infectent pendant les repas de sang sur un hôte infecté quand ils ingèrent des macrophages porteurs d'amastigotes (5.6) dans l'intestin du phlébotome , les parasites se différencient en promastigotes, (7) qui se multiplient et se différencient en promastigotes métacycliques, et migrent dans la trompe du phlébotome (8). Le parasite modifie l'odeur de son hôte, ce qui attire des phlébotomes qui vont eux - mêmes s'infecter et alors contribuer à véhiculer la maladie (Oshea et al ,2002).

3.2.Le vecteur

Diptères nématocères de la famille des *Psychodidae*, les phlébotomes sont des moucheron piqueurs de petite taille (longueur du corps à l'état adulte : 1.5 à 4 mm). De couleur claire, en général jaune paille, leur corps est couvert de poils et ils présentent des ailes lancéolées dressées.

Ce sont des insectes à activité crépusculaire et nocturne, dont le développement préimaginal (oeuf, quatre stades larvaires et nymphe) se déroule dans la terre humide. Les biotopes de reproduction ne sont connus que pour peu d'espèces, ce qui constitue une limite très sérieuse à l'établissement de programmes de lutte (Dedet ,2009).

Seule la femelle est hématophage, et assure la transmission des leishmanies. Présents toute l'année en zone intertropicale, les phlébotomes apparaissent seulement l'été en région tempérée, où ils confèrent à la maladie un caractère saisonnier. Il existe plus de 600 espèces de phlébotomes réparties dans presque toutes les régions biogéographiques du monde. Parmi elles, sur environ 70 suspectées vectrices, une trentaines seulement sont des vecteurs prouvés d'espèces anthropotropiques de *Leishmania*. Elles appartiennent aux genres *Phlebotomus* dans l'Ancien Monde et *Lutzomyia* dans le Nouveau Monde (Dedet , 2009).

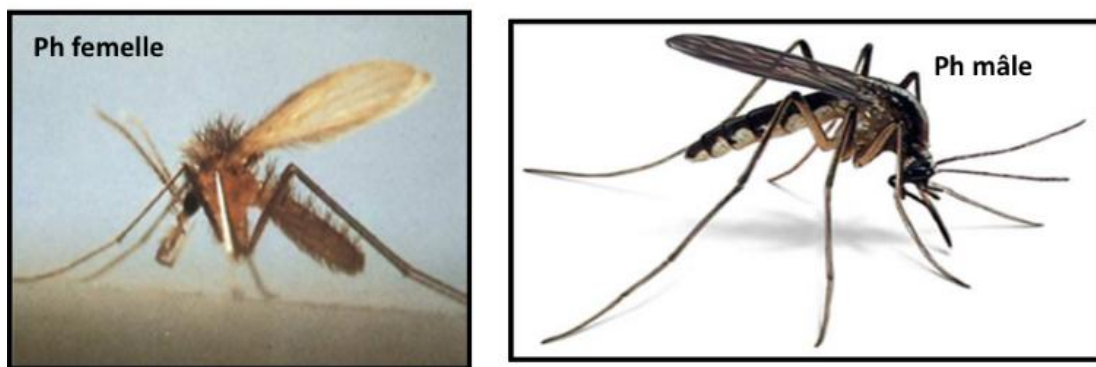


Figure 06 : Phlébotome mâle et femelle (Poinsignon et al, 2005).

3.2.1. Classification

L'identification des phlébotomes est souvent délicate, pour cela ; différentes classifications ont été proposées. Les espèces vectrices de maladies humaines sont réparties dans les genres *phlébotomus* (vecteurs des leishmanioses eurasiatique et africaines) et *lutzomyia* (vecteurs des leishmanioses américaines). Les phlébotomes appartiennent à l'embranchement des arthropodes, classe des insectes, ordre des diptères, sous ordre des nématocères (antennes filiformes), famille des *psychodidae* (Boussaa ,2008).

3.2.2. Cycle de vie

Le développement des phlébotomes comporte une métamorphose complète comprenant les stades : Œuf, larve, nymphe et imago (**Ba 1999**).

La femelle pond 18 à 100 œufs dans des endroits humides (**Samake, 2006**), en effet, la survie et le développement des œufs dépendent des conditions d'humidité et de température appropriées (26 – 30). Les œufs sont ovoïdes et mesurant 300 à 400 µm de longueur, ils éclosent au bout de 4 à 17 jours, la phase larvaire comporte 4 stades et dure 21 jours à 60 jours selon l'espèce, les larves sont terricoles se nourrissant de débris organiques divers, le dernier stade larvaire (L4) mue en nymphe, la nymphe est fixée En position verticale par son extrémité postérieure et se rencontre au niveau des mêmes gîtes que ceux de la larve, elle se nourrit pas et la durée du seul stade nymphal serait de 6 à 15 jours.

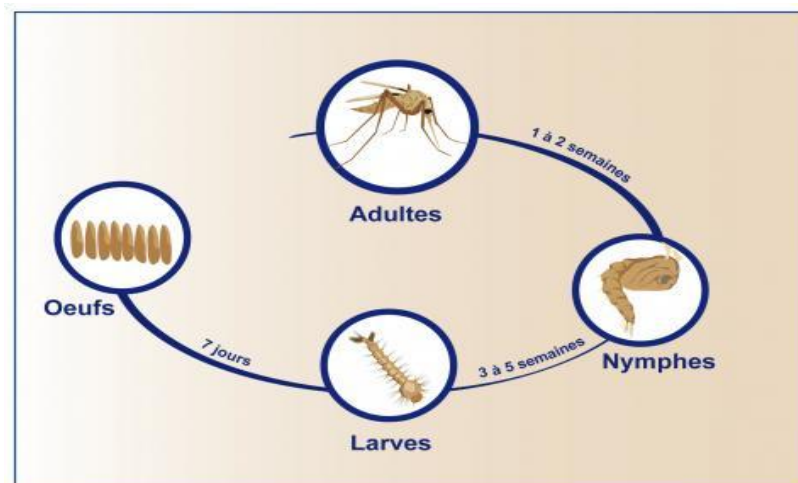


Figure 07 : Cycle de vie de phlébotome (**Adaoui et al, 2003**).

3.3. Les réservoirs du parasite

Les réservoirs de leishmanies sont variables selon l'espèce et selon le foyer, on en distingue :

- la forme zoonotique, avec le chien comme principal réservoir de parasites : bassin méditerranéen, moyen Orient, Brésil. Leishmanie en cause : *L. infantum*.
- la forme anthroponotique, où l'homme est la seule source d'infection pour le vecteur (Inde, Soudan). leishmanie en cause : *L. donovani*

En Algérie, la leishmaniose viscérale admet le chien comme réservoir, depuis les travaux des frères Sergent en 1910 (**Sergent et al, 1910**). Plus tard en 1977 (**Dedet et al ,1977**), ont montré que 11,4 % des chiens de la Grande Kabylie étaient atteints.

Ce rôle de réservoir n'a été admis que par déduction, et ce sont les travaux de Belazzoug (1984-1985 et 1987) (**Belazzoug, 1984,1987**) qui ont confirmé le rôle joué par cet animal et fait la corrélation entre foyer de leishmaniose canine, et leishmaniose viscérale humaine.

Le réservoir de la leishmaniose cutanée zoonotique est représenté essentiellement par deux rongeurs sauvages gerbillidés. Le premier découvert est naturellement infesté par *L. major* au niveau du foyer de M'sila, le *Psammomys obesus* (**Belazzoug ,1983**), et le second, *Meriones shawi*, au niveau du foyer de Ksar chellala (**Belazzoug, 1986**).

Les leishmanies circulent en Algérie entre l'homme et le chien, véhiculées par *Phlebotomus* pour les formes viscérale et cutanée à *L. infantum*, et entre l'homme et un rongeur sauvage pour la forme cutanée à *L. major* (figure 08).

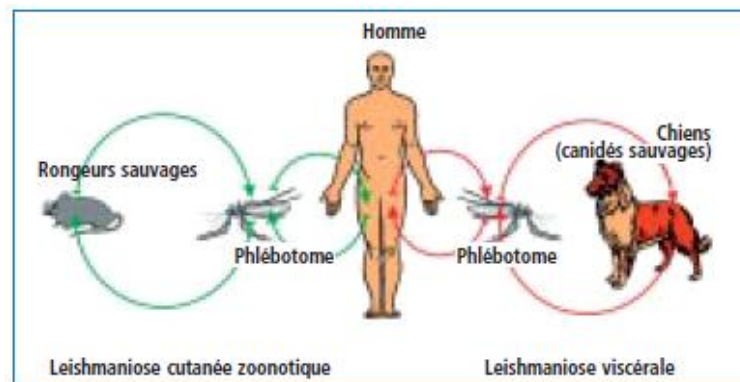


Figure 08. Les réservoirs des leishmanioses en Algérie (**Bachi, 2006**).

3.4. Répartition géographique de leishmaniose

3.4.1. 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 (**Eugénie Gay ,2015**).

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) (**WHO, 2011**).

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.

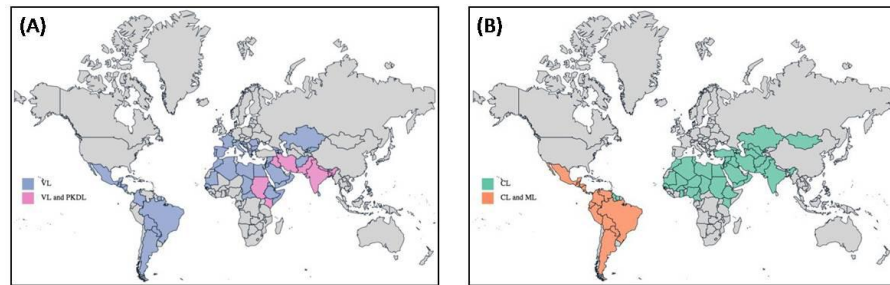


Figure09. Répartition géographique des leishmanioses (A) viscérale et dermique post kala azar (PKDL), (B) cutanée et muco-cutanée (**Alvar et al, 2012**)

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 (**OMS, 2015**).

Tableau 02 : les principaux foyers de leishmaniose (Dedet, 2013)

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

1. 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). (Eugénie Gay, 2015)

On estime qu'il y a 0,5 million à 1,5 million de nouveaux cas chaque année dans le monde (Alvar et al ,2012). 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.

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 (**Dedet ,2009**), et provoque comme la lèpre de graves lésions de la peau laissant des cicatrices indélébiles notamment sur le visage.

1.1. 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 10).

Dans le Nouveau Monde, elles comprennent des espèces à large distribution sudaméricaine (*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 10) (**Dedet, 2009**)

1.2. 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. (**Dedet, 2009**)

2. La leishmaniose cutanéomuqueuse LMC

la LCM appartient aux leishmanioses du nouveau monde, la majorité des cas signalés se trouve en : Bolivie, Brésil, Pérou, Argentine Colombie, Equateur, Paraguay et Venezuela, (**Vilela 2008, Estevez 2009**), dont 90% cas dans le monde.

La LCM est due principalement à l'espèce *L. braziliensis*, largement répandue du Sud du Mexique au Nord de l'Argentine, ses réservoirs sauvages demeurent mal connus. Cette affection évolue en deux temps : une primo-invasion cutanée pouvant être ultérieurement suivie par une atteinte muqueuse secondaire. (Dedet ,2009)

L'atteinte cutanée initiale n'est pas différente des lésions de LCL, et son évolution se fait en général vers la guérison spontanée. La guérison de la (ou des) lésion(s) cutanée(s) une fois acquise, l'infection leishmanienne reste quiescente pendant une durée variable, pouvant être très longue (1 à plus de 40 ans), voire durer toute la vie du sujet. (Dedet ,2009)

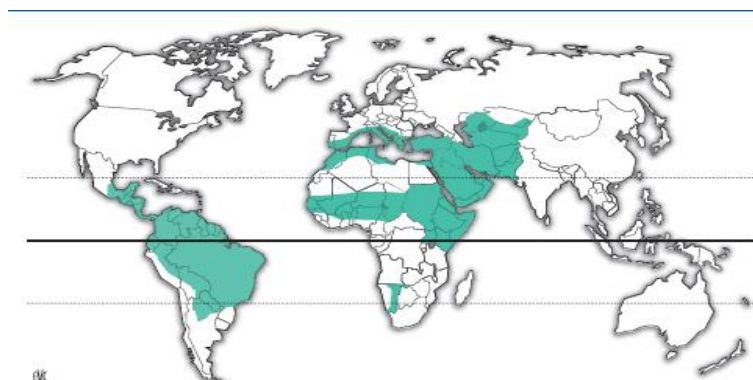


Figure10. Aires d'extension des leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses.

(Dedet 2009)

3. la leishmaniose viscérale LV

C'est une forme plus grave et mortelle quand elle n'est pas soignée, elle est décrite en Inde sous le nom de kala-azar à la fin du XIXe siècle, la LV connaît une distribution géographique très large, allant de la Chine à l'Amérique du Sud (Figure. 11). À l'intérieur du territoire d'extension de la maladie, les grands foyers endémiques sont représentés par les foyers chinois, indien, centre asiatique, Est-Africain, circum-méditerranéen et Sud-Américain. (Dedet, 2009)

L'affection s'exprime occasionnellement sous forme d'épidémies meurtrières, comme en Inde où les auteurs anciens rapportaient des flambées épidémiques environ tous les 20 ans (Sanyal, 1985). De même, la fin du XXe siècle a été marquée par de fortes épidémies en Inde, en particulier dans l'état du Bihar (Thakur et al, 1992), et au Soudan (Seaman J, 1996). En dehors des zones endémiques, la LV se manifeste sous forme de cas sporadiques.

Deux parasites sont responsables de la LV : *Leishmania donovani* espèce anthroponotique dans les foyers indien et Est-Africain, et *L. infantum*, espèce zoonotique, dans les foyers centre-asiatiques, méditerranéens et Américains.

Tableau 03 : La leishmaniose viscérale en quelques chiffres clés (**Gangneux et al, 2015**).

Dans le monde	500 000 nouveaux cas par an dans 98 pays 90 % des cas en Inde, Bangladesh, Soudan, Sud-Soudan, Brésil et Éthiopie 0,2 à 0,4 million de nouveaux cas par an
Sur le bassin méditerranéen	Incidence annuelle estimée : 1200 à 2000 cas Pays d'Europe les plus touchés : Italie, Espagne, Albanie, Grèce, puis France Épidémie madrilène entre 2009 et 2012 : 160 LV + 286 LC
En France	366 cas déclarés de LV entre 1999 et 2012, dont 268 autochtones Incidence annuelle estimée : 20 à 30 cas

4. la leishmaniose canine

C'est la première parasitose du chien, l'animal est le principal réservoir de *leishmania-infantum* dans le bassin méditerranéen (**Carré et al, 2010**). La leishmaniose canine est présente dans de nombreux pays notamment en Italie, Espagne, et au Portugal, pays dans lesquels pratiquement tout les régions sont fortement contaminées (**Dezzar Mihoubi , 2006**).

Dix pour cent des chiens sont infectés, cinq pour cent développent la maladie et meurent précocement en absence ou en cas d'échec du traitement. La leishmaniose de chien est causée par *Leishmani infantum*.

3-4-2- 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 (**Harrat et al, 1995**).

Les Leishmanioses sévissent selon un mode endémoépidémique. Un pic d'alerte de 30227 cas a été atteint en 2005 (**Fendri et al, 2011**). 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). (**Bachi, 2006**)

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 (**Harrat et al, 1995**).

2.1. Leishmaniose cutanée LC

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 (**Abdelouhab et al,2007**), 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) (**Fendri et al,2011**).

2.1.1. La leishmaniose cutanée du Nord LCD

Appelé aussi « clou de Mila » par Sergent qui a rapporté les premiers cas en 1923 (**Sergent et al, 1923**). 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 (**Boudghene et al, 1991**), 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), (**Harrat et al 1995**) (**Pratlong et al, 1990**) (**Belazoug et al ; 1985**) (**Lannot et al ,1908**), l'agent vecteur est une femelle de *Phlebotomus perfiliewi* (**Izri et al, 1993**). Cette leishmaniose a la même répartition géographique et le même réservoir que la LV (**Bachi, 2006**)(**Marty P et al ,1998**)

2.1.2. La leishmaniose cutanée zoonotique LCZ

Appelé aussi « clou de Biskra », décrite pour la première fois par Hamel en 1860, sévit à l'état endémo-épidémique 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) (Pratlong et al ,1990). Elle est due à *Leishmania major* zymodème MON -25 (Harrat et al 1995) (Pratlong et al , 1990)(Beniekhlef et al ,1985). Ses réservoirs naturels sont des rongeurs des genres *Psammomys obesus* (Yakimof et al, 1914) et *Meriones shawi* (Belazzoug ,1986). Elle est véhiculée principalement par *Phlebotomus papatasi* (Izri et al; 1992)

- 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) (Boubidi et al,1998)

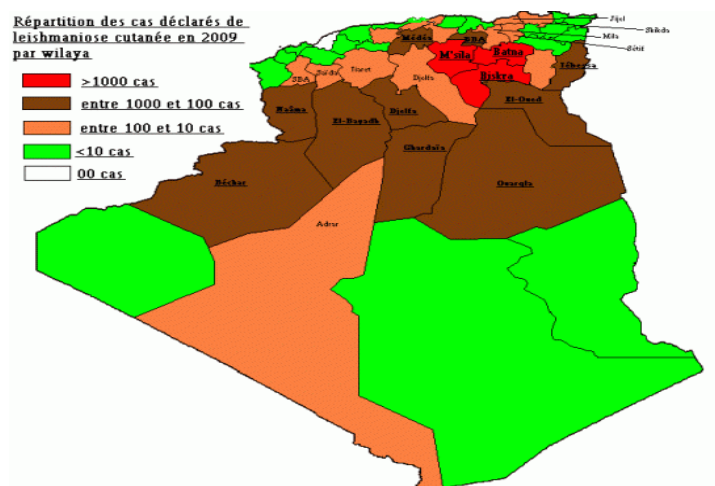


Figure 12: Répartition géographique de la leishmaniose cutanée en Algérie en 2009 (Epelboin , 2012).

2.2. La Leishmaniose viscérale LV

Découverte la première fois en Kabylie par Lemaire en 1911 (Addadi et al, 1965). L'Algérie reste malheureusement le pays le plus touché par cette affection dans le pourtour du Bassin méditerranéen. Plusieurs auteurs des pays voisins ou européens, ont remarqué une nette recrudescence de la maladie au cours de ces dernières années (Dedet ,1994)(Khaldi et al, 1991)(Marty et al, 1994) .

La LV s'étend sur toute la partie Nord du pays au niveau des étagères bioclimatiques humides et subhumides, mais il est important de signaler la survenue de nombreux cas dans les régions semi-arides et arides, connues pour être des foyers de Leishmaniose cutanée zoonotique. En effet, Belazzoug (**Belazzoug et al,1986**) signalait déjà la présence de 21 cas de Leishmaniose viscérale à Biskra , foyer de leishmaniose cutanée , en 1986 . D'autres cas continuent à être signalés dans le Hoggar et dans le Tassili N'ajjar (**Belkaid et al, 1997**)

A coté des anciens foyers (Tizi-Ouzou, Boumerdes, Mila , Jijel, Médéa et Constantine), de nouveaux foyers sont apparus (Annaba et Collo à l'Est , Blida , Cherchell , Ténès et Chlef au centre et Oran à l'Ouest) . En 1987, l'Ouest algérien était considéré par Belazzoug (**Belazzoug, 1987**) comme indemne de Leishmaniose viscérale humaine.

L'incidence annuelle chiffrée est alors passée de 0.36 cas pour 100 000 habitants (**Belazzoug et al, 1985**) à 0.73 cas (doublement de L'icidence) pour 100 000 habitants (**Harrat et al ,1992**) . Entre 1995 et 2000, 1654 cas ont été déclarés à l'Institut national de santé publique (INSP), entre (2000 et 2011), le taux d'incidence est passé de 0.34 à 0.26 cas pour 100 000 habitants . Les taux régionaux les plus élevés sont retrouvés à Illizi (8.25), Tamanrasset (3.61), Bouira (1.23), Relizane (1.04) et Biskra (1.02). LA LV due à *Leishmania infantum* (principaux zymodèmes MON-1 MON-24) ,le *Phlébotomus perniciosus* est le principal vecteur de la maladie , le chien représente le reservoir le plus connu de cette affection. (**Schnur et al, 1977**)

3.4.3. Facteurs de risque et extension des leishmanioses :

La leishmaniose reste un sévère problème de santé publique du fait de l'importance croissante des risques liés à l'environnement tels que les migrations, l'urbanisation, la déforestation, le climat, l'immunodépression (VIH). (**Desjeux, 2004**)

4. Physiopathologie

Les promastigotes métacycliques inoculés dans la peau au moment de la piqûre infectante, sont phagocytés par des cellules hôtes (macrophages, monocytes, neutrophiles, cellules dendritiques). L'interaction des leishmanies et des cellules repose sur la reconnaissance, à la face externe du parasite, de molécules de liaison par divers récepteurs présents sur la membrane cellulaire (récepteurs de type lectine, récepteurs de la fibronectine, de l'intégrine, du CR1 et du CR3). Parmi les molécules de liaison, le lipophosphoglycane

(LPG) apparaît de plus en plus comme la molécule clé de la virulence des *Leishmania* (**Antoine et al, 1999**).

A l'intérieur des cellules macrophagiques, les amastigotes sont localisés dans une vacuole parasitophore de pH très acide, dans laquelle ils survivent à la digestion par les hydrolases lysosomales. Le parasitisme entraîne dans le macrophage une baisse des capacités de production de dérivés oxygénés et nitrogènes, complétant ainsi les mécanismes d'échappement des *Leishmania* à la digestion cellulaire (**Antoine et al, 1999**).

Après multiplication intracellulaire et éclatement de la cellule hôte, les amastigotes infectent localement de nouvelles cellules phagocytaires, et éventuellement migrent vers d'autres tissus. Les phénomènes inflammatoires et la réponse immunitaire spécifique développés par l'hôte peuvent circonscrire et maîtriser l'infection (porteurs asymptomatiques).

Chez les sujets susceptibles, la maladie se déclare après plusieurs semaines, ou quelques mois d'incubation. (**Dedet, 2001**)

4.1.Mécanisme d'interaction hôte et parasite

Une fois à l'intérieur des macrophages, plusieurs stratégies sont utilisées par le parasite pour persister dans ces cellules, puisque normalement celles-ci ont pour fonction de détruire les pathogènes et d'initier une réponse immune contre ceux-ci (**Bondan et al, 1990**) (**Olivier et al, 2005**).

Les molécules de surface du parasite sont les premières molécules à jouer un rôle lors de l'infection. Par exemple, à la surface des promastigotes une molécule très abondante est le lipophosphoglycane (LPG), qui est composé d'une série de répétitions de disaccharides et de phosphates. La structure diffère entre les procycliques et les métacycliques, où ils sont beaucoup plus longs, et les LPG sont absents chez les amastigotes (**Turco et al, 1992**).

Une autre molécule de surface importante, est la glycoprotéine gp63, qu'on retrouve en grande quantité chez les promastigotes bien qu'elle soit dix fois moins abondante que le LPG, et qu'on retrouve aussi en quantité moindre chez les amastigotes. Sans oublier la plus abondante protéine de surface qui est la phospholipide de glycosylinositol (GIPL), cette dernière est dix fois plus abondante que le LPG même, si sa taille, plus petite, laisse croire le contraire (**Ferguson, 1997**) (**MC Conville et al, 1997**)

- **Echappement des promastigotes à la lyse par le complément**

Les promastigotes métacycliques sont très résistants à l'action lytique du complément. Pour expliquer cela, plusieurs mécanismes ont été décrits, et deux antigènes semblent jouer un rôle particulièrement important : La glycoprotéine GP63 (métalloprotéinase), et le lipophosphoglycane LPG. (NADAU, 2005).

Les LPG qui sont à la surface des parasites sont très longs au stade métacyclique, les protéines du complément C3b se lient aux LPG, mais elles sont trop loin pour agir sur le parasite (Descoteaux et al, 1999) (Puentes et al, 1990).

De son côté, la molécule de surface GP63 catalyse la conversion de C3b en C3bi à la surface du parasite. Le macrophage possède les récepteurs CR3 qui reconnaissent C3bi il y a donc opsonisation et internalisation des parasites par les macrophages (Bogdan et al, 1998).

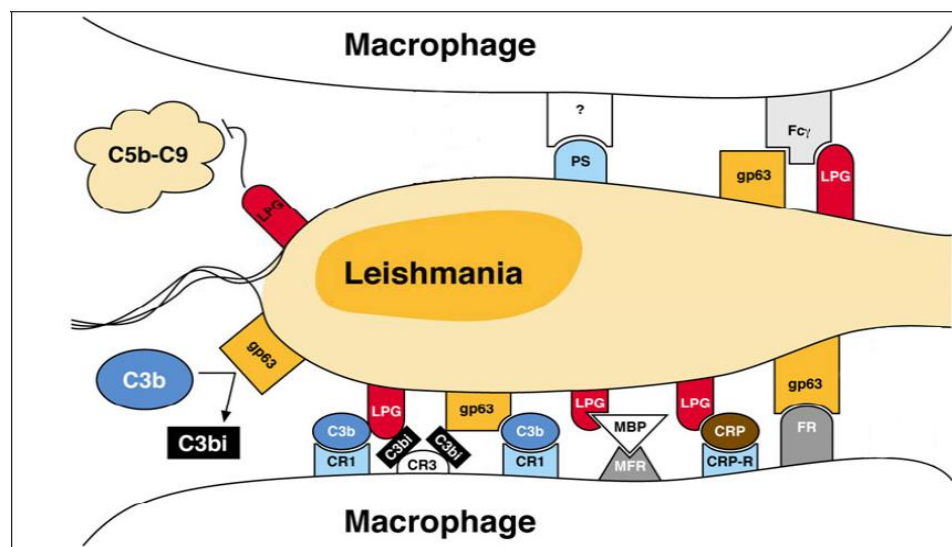


Figure 13: Interactions entre le macrophage et la leishmanie (promastigote) via leurs molécules de surface et des protéines solubles. (PS = phosphatidylsérine, MBP = Mannose Binding Protein, MFR= Mannose Fucose Receptor, CRP=C-Reactive protein, CRP-R=C-Reactive Protein Receptor, FR=Fibronectine Receptor).

(Bogdan et al, 1998).

Les lipophosphoglycanes LPG qui sont spécifiques de chaque espèce sont reconnus par des récepteurs de la cellule hôte appelés lectines. Ils ont récemment montré que la galectine-3, une lectine sécrétée par les macrophages et les cellules dendritiques activées par des molécules pro-inflammatoires, se lie spécifiquement aux épitopes poly-galactose du LPG de *L. major*. Cette interaction spécifique pourrait s'avérer déterminante dans la réponse inflammatoire massive locale provoquée par *L. major*.

En effet, la galectine-3, qui forme une couche à la surface du macrophage pourrait être détruite par la protéase GP63 exprimée à la surface du parasite et représente l'un des facteurs de virulence du parasite qui interfère avec les macrophages et protège le parasite de l'action du complément. Le parasite perturbe ainsi les mécanismes de défense anti-leishmaniens des macrophages.

Les amastigotes de *L. major* semblent également interagir avec des lectines mais leur surface étant dépourvue de GP63, ils utilisent sans doute d'autres stratégies d'interaction avec les macrophages. D'autres récepteurs de l'interaction *Leishmania*/cellule hôte ont été identifiés comme la lectine DC-SIGN des cellules dendritiques qui semble agir comme récepteur pour certains amastigotes. . (Almeida et al, 2002)

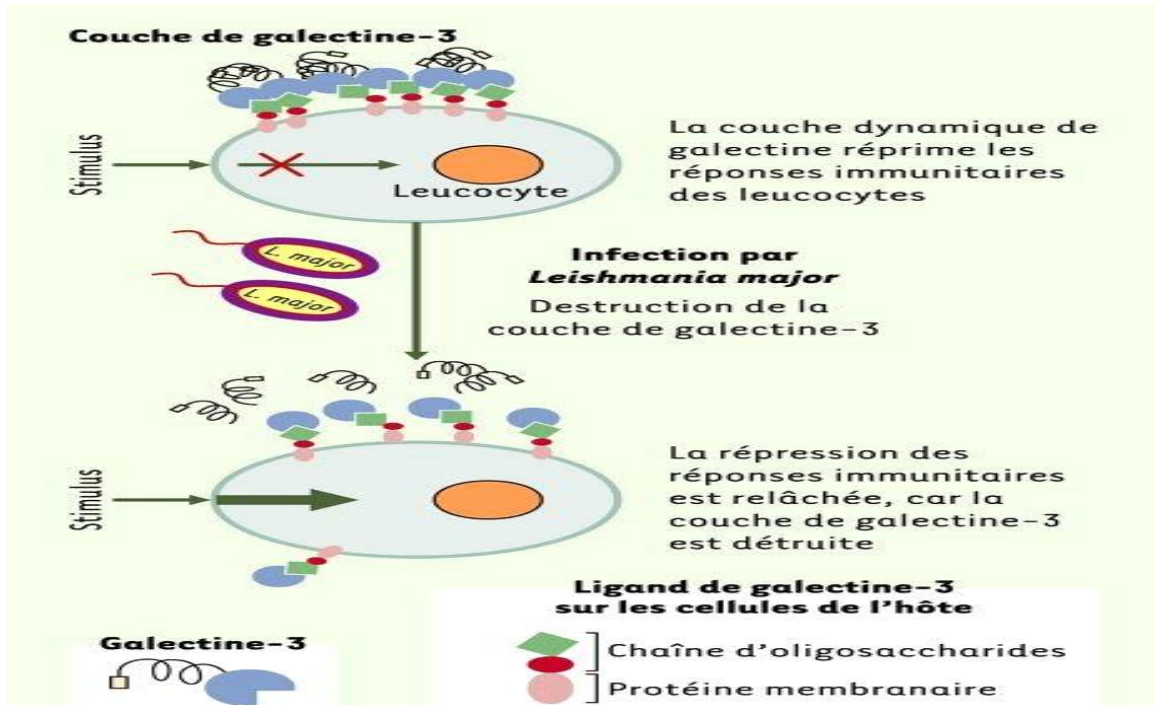


Figure 14 : Rôle de la galectine 3 dans les interactions parasite-macrophage (Almeida et al, 2002)

5. Aspect Clinique Des Leishmanioses

Les leishmanioses représentent un groupe de maladies d'expression clinique variée. Uniquement deux formes cliniques ont été diagnostiquées en Algérie, l'une c'est la forme de leishmaniose viscérale et l'autre regroupant les formes tégumentaires LC :

5. 1. Leishmaniose viscérale zoonotique ou LVZ

Elle touche les organes internes ou les organes du système des phagocytes mononuclées : la rate, le foie, les ganglions lymphatiques et la moelle osseuse. La maladie est mortelle en l'absence de traitement.

La maladie est plutôt chronique et touche principalement les enfants âgés de 1 à 15 ans. La période d'incubation varie de 10 jours à plus d'une année (**WHO, 2011**).

La LV se manifeste principalement par une triade : fièvre, pâleur et splénomégalie. Avec le temps, le tableau clinique peut se compliquer de signes d'atteinte digestive, pulmonaire et de troubles hémorragiques (**Dedet, 2009**).

5.1.1.1. La leishmaniose viscérale infantile (ou La forme de l'enfant)

Ce sont les très jeunes enfants, dont la tranche d'âge la plus touchée se situe entre 1 et 15 ans (**Moziane et al, 1983**) et, selon Belkaïd, 92 % des patients ont moins de 5 ans (**Belkaid et al, 1997**). Suite à une pique d'un phlébotome, les parasites migrent via le système sanguin vers les organes lymphoïdes tels que le foie, la rate, la moelle osseuse, la période d'incubation est d'une durée variable mais prend habituellement 2 à 4 mois (**Djezzar, 2006**). Elle se manifeste par une hépato-splénomégalie avec une fièvre, une pancytopénie et une altération de l'état général (**Benmiloud et al 2009**).



Figure 14: la splénomégalie au cours d'une leishmaniose viscérale infantile (**Belazzoug et al, 1986**)

5.1.1.2. La leishmaniose viscérale de l'adulte

La LV est beaucoup moins fréquente chez l'adulte, il peut s'agir d'une forme fébrile prolongée et une rareté des symptômes. La splénomégalie peut être absente ou constituer le seul élément clinique, de même que les adénopathies (**Bachi, 2006**), son évolution spontanée est mortelle mais son pronostic reste bon si une adéquate thérapeutique est démarrée à temps (**Benelbarhadad et al 1995**).

5.1.2. La leishmaniose cutanée

Les formes tégumentaires sont les manifestations cliniques des leishmanioses les plus fréquentes. La période d'incubation est variable pouvant aller de quelque semaine à quelques mois, après la piqure du phlébotome femelle. Cette forme provoque des lésions sous forme d'érythème, avec induration pour évoluer vers une lésion papuleuse parfois même nodulaire, il s'en suit une réaction inflammatoire avec une hyperplasie de l'épithélium, et une nécrose de derme qui conduit à une ulcération (**Estevez, 2009**). Ces ulcères sont généralement circulaires avec des bords bien délimités qui ont une couleur violacée.

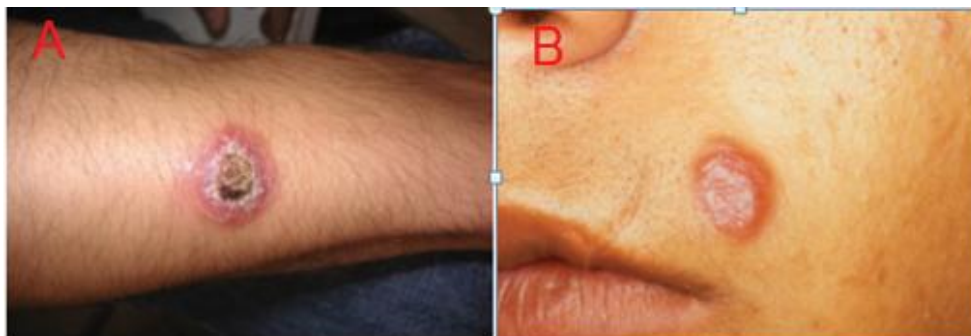


Figure 15. A. Nodule ulcérocroûteux. **B.** Lésion papulonodulaire de la phase de début (**Mokni et al, 2014**).

Les lésions siègent au niveau des parties du corps dénudées, en période estivale dans la majorité des cas. Les lésions sont uniques cependant, 16% des maladies ont présenté des lésions multiples l'atteinte du visage est la plus fréquente et se rencontre dans 53% des cas (Bachi, 2006). Ces lésions sont causées par les espèces *leishmania infantum* et *leishmania major* (Marc et al 2007).

5.1.2.1. Leishmaniose cutanée zoonotique à *L. major*

Elle est dite leishmaniose cutanée humide des zones rurales. Après une incubation courte, apparaît la lésion caractéristique, la forme ulcérocroûteuse, avec une ulcération recouverte d'une épaisse croûte brune. À côté de cette forme, la plus fréquente, s'observent les formes ulcéro-végétantes, verruqueuses et, plus rarement, lupoïdes. Les lésions siègent, en petit nombre, au niveau des zones découvertes, de la face et des membres. Elles évoluent spontanément vers la guérison en 3 à 5 mois au prix d'une cicatrice rétractile indélébile (Bachi, 2006).



Figure 16 : Groupement des lésions dans une forme de leishmaniose cutanée causée par *Leishmania major* (Mokni et al, 2014).

5.1.2.2. Leishmaniose cutanée du Nord à *L. infantum*

Elle s'oppose à la leishmaniose cutanée zoonotique par de nombreux points. Sur le plan clinique, la leishmaniose cutanée du Nord se présente comme une seule petite lésion siégeant au niveau de la face, très inflammatoire ; elle ne s'ulcère habituellement pas et, quand elle le fait, ne se recouvre jamais d'une croûte épaisse. (Belhadj et al, 1996).

Sa durée d'incubation est longue, tout comme sa durée d'évolution. La leishmaniose cutanée du Nord nécessite souvent un traitement afin d'accélérer le processus de cicatrisation, qui ne se fait spontanément qu'au-delà d'un an. **(Belazzoug et al, 1985).**

5.2. Méthodes de diagnostic des leishmanies

Le diagnostic des leishmanioses repose sur deux méthodes différentes :

5.2.1. Méthodes directes

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. **(Dedet ,2009)**

5.2.1.1. Prélèvements

Dans la LV, on procède à une ponction de la moelle osseuse, pratiquée au niveau du sternum, ou à la crête iliaque chez le jeune enfant. La recherche peut, chez l'immuno-déprimé, s'effectuer sur des prélèvements de foie, ganglions lymphatiques, muqueuse digestive.

Dans la LC, le prélèvement se fait préférentiellement au niveau de la bordure inflammatoire de la lésion. Il est pratiqué par grattage au vaccinostyle. **(Dedet ,2009)**

5.2.1.2. Traitement des prélèvements

Le frottis obtenu est séché puis coloré au May-Grunwald-Giemsa (MGG), ou au seul Giemsa après fixation par le méthanol. La lecture au microscope optique avec un objectif à immersion grossissement $\times 50$ ou $\times 100$ permet d'observer les parasites sous leur forme amastigote : élément arrondi de 2 à 4 μm de diamètre, cytoplasme bleu volumineux, noyau rouge et kinétoplaste rouge. Les amastigotes sont observés en amas dans le cytoplasme des leucocytes mononuclées, essentiellement les monocytes, et Ils peuvent être libres après éclatement de la cellule hôte. **(Izri et al, 1996)**

5.2. 1.3. Mise en culture

Elle rend plus sensible le diagnostic (86%), en permettant de retrouver des parasites qui ne l'auraient pas été à l'examen direct. Elle permet également d'obtenir la souche de leishmanie en vue de son identification.

Le milieu le plus utilisé reste le milieu historique de Novy .Mc Neal et Nicolle (NNN) , il s'agit d'une gélose salée enrichie de sang frais de lapin, et coulée dans un tube à essai avec capuchon à viser ,comme ce milieu est très sensible à la contamination bactérienne et fongique , il doit contenir des antibiotiques ,la pénicilline G (100U/ml) est le produit le plus souvent utilisé et parfois la streptomycine .

L'ensemencement est réalisé de préférence sous hotte à flux laminaire, auprès d'un bec bunzen, car le milieu est très sensible à la contamination bactérienne ; le produit de ponction ou le fragment de biopsie entier ou broyé avec de l'eau physiologique stérile, est déposé dans la phase liquide du milieu NNN.

Leishmania major se développe assez rapidement en milieu de culture, et les promastigotes peuvent être observés dès le 5^{ème} jour d'incubation, plus rarement, la culture ne se développe qu'au bout de 3 à 4 semaines. Au contraire, les variants enzymatiques de *Leishmania infantum* sont plus difficiles à obtenir en culture, 4 à 5 semaines sont souvent nécessaires avant de voir apparaître quelques promastigotes et les résultats sont meilleurs lorsque le milieu est supplémenté en sérum de veau fœtal et solution de Schneider, l'addition d'antibiotiques est quasi indispensable. **(Belazzoug et al, 2007)**

5.2.1.4. Diagnostic moléculaire

Il s'est remarquablement développé au cours des 10 dernières années **(Reithinger et al, 2007)**. Bien que différentes méthodes moléculaires aient été successivement évaluées, ce sont les techniques basées sur la PCR qui sont actuellement les plus utilisées. Leurs avantages en effet, résident dans leur très grande sensibilité, et leur spécificité théoriquement quasi absolue. En outre, elles permettent de détecter l'ADN parasitaire dans des échantillons ou des cultures contaminées par des bactéries ou des champignons, elles assurent un résultat rapide, et offrent la possibilité de réaliser, sur le même échantillon, une identification de l'espèce de *Leishmania* en cause.

Diverses cibles moléculaires sont utilisées, selon les équipes et l'espèce de parasite en cause. Dans la pratique, les tests PCR ne sont pas standardisés et de nombreuses méthodes différentes sont développées suivant les laboratoires avec des performances très variables.

Cette technique de biologie moléculaire a de nombreux avantages. En effet, elle est plus sensible que les autres méthodes de diagnostic direct, et elle est beaucoup mieux que les cultures quand le parasitisme est faible. Sa spécificité est proche de 100 %, et elle permet un diagnostic rapide.

Par ailleurs, la PCR est applicable sur tous les prélèvements : moelle osseuse, biopsies ganglionnaires, et notamment sur des prélèvements peu invasifs : sang périphérique, urines (**carré et al, 2010**)

Le diagnostic moléculaire est appliqué aussi bien à la LV qu'à la LC (revues (**Cruz et al, 2006**) (**Vega-Loper, 2003**). Dans les deux cas, il est plus sensible que les méthodes classiques de détection, y compris la culture.

Dans la LV, la détection par PCR sur le sang périphérique s'est révélée avoir une sensibilité très proche de 100 %, ce qui évite la ponction médullaire et représente une méthode peu invasive, particulièrement appréciable dans le suivi des patients immunodéprimés, et comme marqueur précoce de rechute (**Lachaud et al, 2000**).

Les développements récents concernent la PCR quantitative en temps réel, appliquée notamment à la LV. Cette méthode ultrasensible permet la détection du portage asymptomatique, et permet la définition d'un seuil au-dessus duquel les symptômes peuvent apparaître (**Mary et al, 2006**).

5.2.2. Méthodes indirectes

Dans les méthodes indirectes, on utilise les méthodes sérologiques qui sont les plus sensibles et spécifiques, surtout en ce qui concerne le diagnostic de la leishmaniose viscérale, qui peut être orienté par divers critères biologiques, notamment par des anomalies de la numération formule sanguine (par pancytopenie) : anémie, leuco-neutropénie et thrombopénie modérée (**Eugénie Gay et al ,2015**).

5.2.2.1. Méthodes sérologiques

Elle sont basées sur la mise en évidence des anticorps circulant par immunofluorescence indirect (IFAT) et ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assaay), Western Blot (WB) et le test d'agglutination direct (DAT).

a. Western Blot

Leishmania Western Blot (WB) IgG est un test qualitatif de diagnostic sérologique par immunoblot de la leishmaniose proposé comme test de confirmation d'un résultat positif ou équivoque obtenu par les tests classiques de dépistage. (Marty et al, 1995)

Principe du test

Dans la technique de Western Blot : Les antigènes (promastigotes de *Leishmania infantum*, après séparation électrophorétique ont été fixés par électro-transfert à la surface d'une feuille de nitrocellulose (appelée le transfert) découpée en 24 bandelettes identifiées de 1 à 24.

Déroulement du test

Chaque échantillon sérique à tester est incubé séparément avec une bandelette. Les anticorps spécifiques éventuellement présents dans le prélèvement se fixent sélectivement sur les antigènes. A l'étape suivante, le conjugué Phosphatase Alcaline-anti-IgG humaines se lie aux anticorps fixés. Enfin, les immun-complexes réagissent avec le substrat. Les antigènes reconnus par les anticorps spécifiques de classe IgG présents dans les échantillons sont ainsi révélés sous forme de bandes transversales violettes. (Ferroglio et al, 2007)

b. DAT (Direct Agglutination Test)

C'est une technique rapide plus adaptée à la pratique de terrain car ne nécessitant pas de matériel sophistiqué (Silva et al, 2005) (Chappuis et al, 2006).

Le titre seuil de cette technique se situe aux environs de 1/1 600 ou 1/3 200 : le seuil élevé fait perdre à la technique sa valeur. Elle se négative rait plus précocement en post thérapeutique.

Proposée comme moyen de dépistage de la leishmaniose canine, Bensaïd et al, 1992, lui trouvent une concordance de 99,6% entre le D.A.T. et l'I.F.I. (Bachi, 2001).

c. Test de diagnostic rapide

Bandelette réactive utilisant l'antigène rk39 utilisé en première ligne devant des tableaux cliniques évocateurs en zones d'endémie .La sensibilité est limitée en Afrique de l'est (80 à 90 %), ou les cas suspects cliniquement avec résultats négatifs au IDR doivent faire l'objet d'investigations approfondie : mise en évidence du parasite (ponction médullaire, aspiration ganglionnaire). Ce test a un grand intérêt dans les enquêtes épidémiologiques (Marty et al , 2007)

d. Technique de détection antigénique urinaire

Il consiste à mettre en présence le sérum avec des billes de latex sensibilisées par l'antigène leishmanien. Une réponse positive donne une agglutination visible à l'œil nu, permettant un diagnostic sans prélèvement sanguin. Sa sensibilité est inférieure à celle du DAT et de la bandelette rk39. (Marty, 2010).

5.3. Traitement des leishmanioses

Le traitement des leishmanioses varie selon la forme clinique de l'infection, on utilise généralement les dérivés pentavalents de l'antimoine



Figure 17 : Injection intra-lésionnelle d'antimones.

6. Aspect génétique des leishmanioses

6.1. Génome des Leishmanias

Comme tous les kinétoplastidés, les leishmanias possèdent deux types de génome : un génome nucléaire et un génome kinétoplastique (Ravel et al, 1999).

Les leishmanies sont essentiellement diploïdes, même si le cycle sexuel n'a pas été observé (Ivens et al, 1999). Le projet de séquençage de leishmania a pris forme lors d'une

réunion à Rio de Janeiro en 1994 (**Ouellette et al, 2003**), et il a débuté avec la souche *Leishmania major*.

Le séquençage du génome de *Leishmania major Friedlin* (**Ivens et al ,2005**), a été complété en 2005, suivi par le séquençage des génomes de *Leishmania infantum* et *Leishmania braziliensis* qui a été achevé en 2007 (**Peacock et al ,2007**).

Ainsi, *Leishmania major* et *Leishmania infantum* contiennent 36 paires de chromosomes, tandis que *Leishmania braziliensis* n'en contient que 35, dû à la fusion des chromosomes 20 et 34 dans ce dernier (**Britoo et al, 1998**). Le nombre total de gènes codants pour des protéines est de 8298 pour *Leishmania major* (dont 97 pseudogènes), de 8154 pour *Leishmania infantum* (dont 41 pseudogènes), et de 8153 pour *Leishmania braziliensis* (dont 161 pseudogènes). L'analyse des séquences du génome a révélé une densité de gène de 1 gène par 3.5 kb, et un contenu en bases G-C d'environ 60 %. Les gènes codants pour des protéines sont dépourvus d'introns, uniquement 36% d'entre eux ont des fonctions connues (**Ivens et al, 2005**).

Une particularité remarquable chez les Trypanosomatidae, notamment chez *Leishmania*, est l'organisation des gènes en grandes unités polycistroniques (**Myler et al, 2000**). Par exemple, le chromosome 1 de *Leishmania major* contient deux larges unités polycistroniques divergentes, ce qui veut dire que leur ARNm est transcrit de façon divergente vers les télomères, une unité de 29 gènes située sur un brin d'ADN et l'autre de 50 gènes sur le brin complémentaire. D'autres chromosomes peuvent avoir des unités convergentes ou une combinaison d'unités convergentes et divergentes (**Myler et al ,2000**).

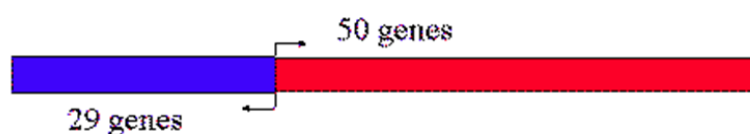


Figure 18 : Chromosome 1 de leishmania major

6.1.1. Génome nucléaire

La taille du génome est d'environ 35 Mb et il a été découpé en 34 à 36 chromosomes (**Wincker et al, 1996**)(**Britto et al, 1998**). Actuellement, plus de 34 Mb de séquences ont été accumulées dans les banques de données. La séquence des chromosomes 1, 3, 4, 5,15, 24, 25 et 31 est terminée et le génome de leishmania est régulièrement annoté.

L'une des principales caractéristiques du génome des Leishmanies est sa richesse en G/C (guanine / cytosine) qui peut atteindre en moyenne 60%, et peut être supérieure dans les régions codantes (**Alvarez et al, 1994**), peu complexe le génome comporte 60 à 65% des séquences uniques, 13 % des séquences moyennement répétées, et environ 12% de séquences fortement répétées (**Ouellette et al, 2003**)

Les chromosomes de cet organisme ne se condensent pas significativement au cours de son cycle de vie, ce qui complique la visualisation des chromosomes, cependant, à l'aide d'une électrophorèse en champs pulsé, on a pu visualiser les chromosomes des leishmanies.

La structure de ces chromosomes semble comparable à celle des autres protozoaires, avec un noyau central et de longues étendues de séquences répétées télomériques et subtélomériques (**Blaineau et al ,1991**). Au niveau des télomères on retrouve 6×10^5 séquences d'ADN hexamériques répétées en tandem (CCCTAA)_n, ces régions télomériques comportent un seul site de coupure pour l'enzyme de restriction Bal 31 (**Van et al ,1984**).

6.1.2. Génome kinétoplastique

Les kinétoplastidés se caractérisent par leur ADN kinétoplastique. Ce dernier renferme deux types d'ADN circulaires, il s'agit des mini-cercles de taille 0,5 à 2,5 Kb et des maxi-cercles 20 à 39 Kb (**Simpson, 1987**).

Les maxi-cercles impliqués dans les phénomènes « d'editing » (insertion / délétion d'uridine) de l'ARN (**Kabb et al, 2001**) (**Gott, 2003**), et les maxi-cercles codant pour les ARN guides et les ARN ribosomiques. Ce mécanisme « d'editing » commun à tous les kinétoplastidés, permet d'exprimer les transcrits des maxi-cercles grâce à l'ancrage des ARN guides sur les ARN pré-édités, la formule « insertion » d'uridine semble être majoritaire à tel point que la taille du transcrit final peut quasiment avoir doublée (**Lodish et al ,2000**).

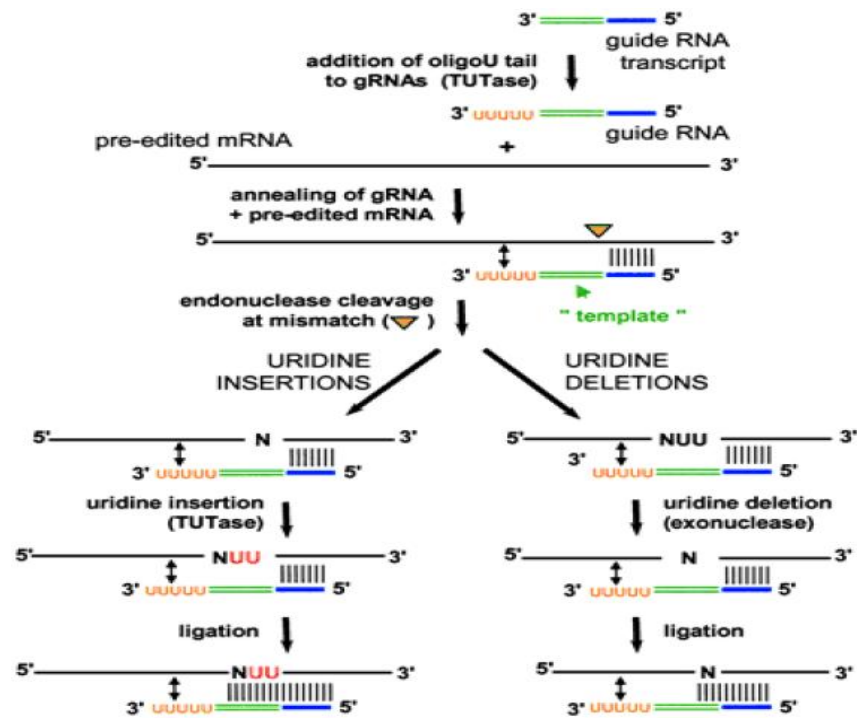


Figure19 : Schématisation du mécanisme d' « editing » chez les kinétoplastidés. Les ARN guide (en bleu et vert) viennent s'ajouter aux ARNm pré-édités, puis le couple subit une insertion (voie de gauche) ou délétion (voie de droite) d'uridines. (Gott , 2003)

6.2. Régulation de l'expression des gènes chez leishmania

L'expression des gènes présente des propriétés inédites .En effet, il ne semble pas exister de régulation au niveau de l'initiation de la transcription, mais essentiellement une régulation post-transcriptionnelle. Ainsi, de longs messagers contenant tous les gènes organisés en tandem sont modifiés par addition d'un mini-exon en 5'(par épissage en trans), et par polyadénylation en 3' (figure 20). Tous les messagers de leishmania ont ce mini-exon de 39 nucléotides à leur extrémité 5' et son addition est étroitement associée à la polyadénylation (Clayton, 2002).

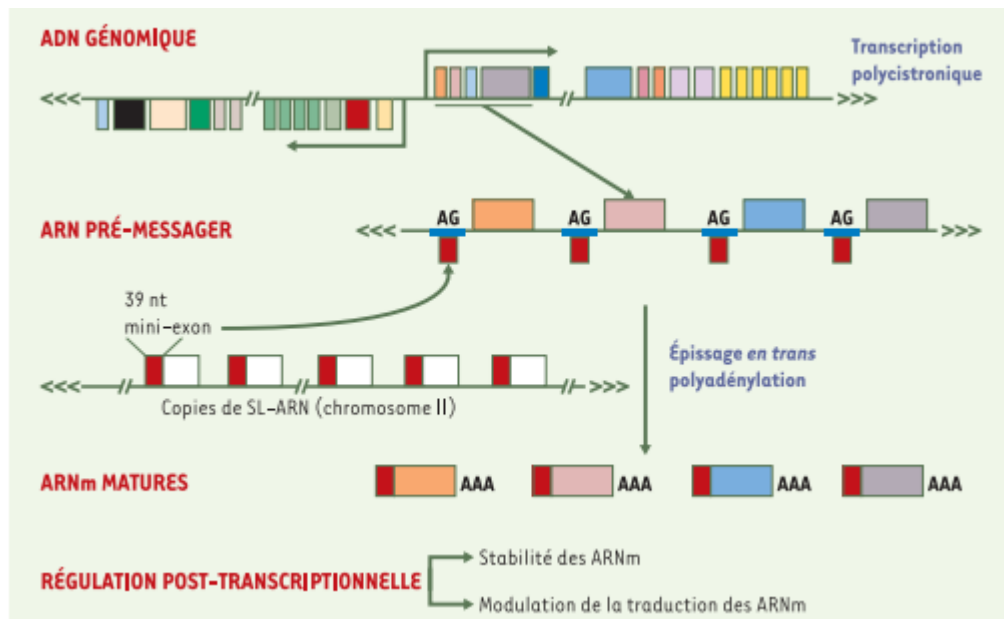


Figure 20. Organisation génique et maturation des messagers chez *Leishmania*. Les gènes de *Leishmania* sont organisés en unités polycistroniques. Ces unités sont co-transcrites en très grands pré-messagers qui sont maturés par l'addition d'un mini-exon en 5' (épissage en trans) et par polyadénylation en 3'. Les réactions d'épissage en trans et de polyadénylation sont couplées. SL-ARN, spliced leader ARN; nt, nucléotide (Myler et al, 2001).

6.2.1. Analyse transcriptomique

Bien qu'il n'y ait pas ; chez *leishmania*, de régulation de l'expression des gènes au niveau transcriptionnel, plusieurs messagers semblent s'accumuler à des stades de développement spécifiques (figure 21).

Les mécanismes impliqués sont peu connus mais pourraient faire intervenir une modulation de la stabilité des ARNm, soit par régulation de la polyadénylation, soit par interaction avec des facteurs spécifiques (Clayton; 2002). Des techniques de criblage différentiel, ont permis d'isoler une vingtaine de gènes exprimés spécifiquement à l'un des stades de différenciation du parasite.

Des analyses récentes de criblage différentiel, ont été réalisées sur des ADNc de promastigotes et d'amastigotes hybridés sur des filtres à haute densité, ont montré que quelques gènes sont différenciellement exprimés entre ces deux stades, parmi lesquels des gènes codant pour une famille de protéines membranaires appelée les amastines (Lamontagne et al, 1999) (Wu Y et al ,2000).

D'autres travaux utilisant des technologies apparentées ont également révélé l'expression de gènes spécifiques de ces stades de différenciation (Charest et al, 1996)(Bellatin et al, 2002). Une autre technique a permis mesurer l'expression différentielle des gènes il s'agit des puces à ADN. Cette technique permet de déposer sur des lames de verre des milliers de sondes, qui peuvent ensuite être hybridées simultanément avec des ADNc marqués par des nucléotides fluorescents provenant, par exemple, de deux stades différents de différenciation (Figure 21). Bien que le génome de *Leishmania* ne soit pas connu dans son intégralité, des puces ont été réalisées soit avec des fragments d'ADNc ; soit avec des fragments aléatoires génomiques de 1 Kb (Almeida et al, 2002) (Beverley et al, 2002). Il a été ainsi possible de confirmer l'expression différentielle qui avait été prédite pour certains gènes.

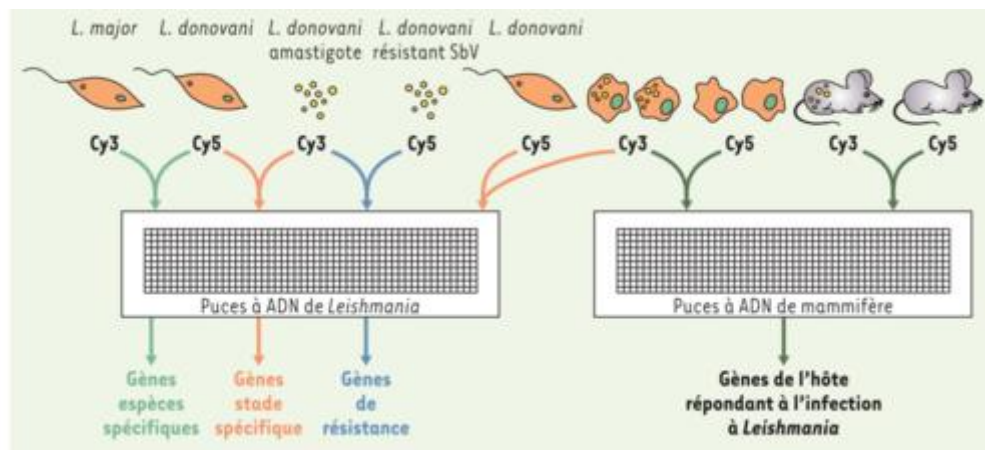


Figure 21. Études transcriptomiques chez *Leishmania*. On peut utiliser des puces à ADN par exemple pour trouver des gènes propres à une espèce de *Leishmania*, en marquant les ADN de deux espèces différentes telles que *Leishmania major* et *Leishmania donovani* avec deux fluorophores différents comme Cy3 et Cy5, et en réalisant une hybridation compétitive sur lame. De la même façon, il est possible de détecter des gènes exprimés spécifiquement à un stade de vie du parasite (promastigote ou amastigote), ou différemment exprimés chez les parasites sensibles ou résistants. En marquant avec des fluorophores différents des ARN provenant de macrophages naïfs ou infectés Par le parasite, ou provenant d'animaux infectés ou non infectés, il sera possible d'observer la réponse de l'hôte de façon globale lorsqu'il interagit avec le parasite (Lamontagne et al, 1999).

6.2.2. Analyse protéomique

L'analyse transcriptomique a motivé une analyse protéomique comparative entre la forme promastigote et amastigote. Il a été montré que plus de 5% des protéines sont différentiellement exprimées entre les deux stades de différenciation. Parmi celles-ci, deux enzymes du cycle glycolytique, dont l'expression est augmentée chez l'amastigote (**EL Fakhry et al, 2002**).

Par électrophorèse bidimensionnelle, et en utilisant de nouveaux logiciels d'analyse, une analyse des protéines solubles exprimées chez *Leishmania infantum*, a été effectuée. Plus de 6 % des protéines exprimées le sont soit exclusivement soit préférentiellement dans la forme amastigote et un pourcentage similaire est spécifique du promastigote. L'analyse protéomique semble plus prometteuse que les puces à ADN pour identifier des gènes exprimés différentiellement. De nouvelles technologies seront nécessaires pour une meilleure représentation des protéomes (**Washburn et al, 2001**).

6.3. Susceptibilité génétique et immunité de l'hôte

La variabilité de réponse clinique suite à l'infection par *Leishmania* est connue depuis longtemps, la présence de porteurs asymptomatiques en est la preuve.

Dans les régions endémiques, il existe une large variabilité interindividuelle de susceptibilité/ résistance à l'infection pour certaines espèces du parasite. Beaucoup de travaux scientifiques ont fourni des preuves sur la régulation de l'infection par des facteurs génétiques de l'hôte.

Des travaux sur *Leishmania donovani* ont indiqué le rôle du locus *Lsh* sur le chromosome 1, d'autres études ont rapporté le rôle de deux autres loci ; il s'agit de H-2 et H-11, ainsi que d'autres gènes situés dans la région 2q22-q23, impliqués dans la susceptibilité ou la résistance à l'infection. (**El safi et al, 2006**)

Le NRAMP1 (Natural Resistance- Associated Macrophage Protein) est un autre gène d'importance. Ce dernier code pour une protéine membranaire de 90 à 100 k Da exprimée dans les endosomes, les membranes lysosomales dans les macrophages. C'est une protéine transporteuse d'ions inhibant la multiplication du pathogène, en le privant des ions nécessaires à son développement. (**Patrick, 2014**) Des mutations pour ce gène responsables

de susceptibilité à l'infection ont été rapportées pour une population au Soudan. (**Sayda safi et al, 2006**)

6. 4. Chimiorésistance

L'étude de la résistance à l'antimoine chez *Leishmania*, fait partie des priorités de l'Organisation Mondiale de la Santé. Les mécanismes de résistance à l'antimoine ont été particulièrement bien étudiés *in vitro* et semblent faire intervenir plusieurs gènes du parasite (**Légaré et al, 2003**). Chez les parasites résistants, l'antimoine pentavalent serait conjugué à une molécule appelée trypanothion, qui est un composé glutathion-spermidine spécifique aux kinétoplastidae. La concentration de trypanothion est effectivement augmentée chez les parasites résistants à l'antimoine (**Haimeur et al, 2003**). Ce conjugué est par la suite soit séquestré à l'intérieur d'une vacuole par un transporteur de type ABC (**Légaré et al, 2001**), soit expulsé à l'extérieur de la cellule.

Il existe des mécanismes de résistance additionnels, mais les approches cellulaires et moléculaires traditionnelles se sont avérées infructueuses pour les caractériser. Grâce à des puces à ADN à faible densité portant une cinquantaine de gènes, les scientifiques ont pu identifier de nouveaux gènes différentiellement exprimés chez les mutants résistants mais qui semblent toujours faire partie de la voie métabolique du trypanothion. Avec des puces portant le génome complet du parasite, de nouveaux gènes impliqués dans la résistance seront peut-être caractérisés, à condition bien sûr que le mécanisme de résistance fasse intervenir des changements dans le niveau d'expression des gènes.

Chapitre II :

Patients et méthodes

La présente étude a été réalisée du 1 avril au 19 juin, au niveau du service de parasitologie de l'hôpital militaire Ali Mendjeli de Constantine. Une période pendant laquelle nous avons essayé de nous familiariser avec les techniques de diagnostic des leishmanioses, et réalisé une enquête statistique rétrospective portant sur l'année 2015-2016 afin d'établir certains paramètres épidémiologiques de l'affection.

1. La leishmaniose cutanée

1.1. Description des lésions

Durant cette étude, deux formes de leishmaniose cutanées ont été recensées : La leishmaniose cutanée du Nord qui se caractérise par une petite lésion très enflammée, sans ulcération et sans croute épaisse, et la leishmaniose cutanée zoonotique qui se présente principalement par la forme ulcéro-croûteuse (Figure).



Figure 22. La forme ulcéro-croûteuse de la LCZ

1.2. Prélèvements

Pour chaque patient, bien avant de procéder au prélèvement, on établit une fiche de renseignement comportant, l'âge, le sexe, le lieu de résidence habituelle, les déplacements effectués avant la survenue des lésions (Notion de séjour en zone d'endémie), le siège des lésions, et le traitement en cours.

-Désinfecter la lésion avec de l'eau oxygénée (il faut éviter l'éthanol puisqu'il favorise la fixation des formes amastigotes).

-Après on gratte à la périphérie des lésions, entre la peau saine et la bordure inflammatoire avec un vaccinostyle stérile pour ramener la sérosité.

-On étale le prélèvement sur des lames gravées préalablement pour réaliser des frottis cutanés.

1.3. Examen direct

Il consiste à rechercher, après coloration, les leishmanies dans l'étalement du produit de grattage.

-Après le prélèvement ; le frottis sanguin séché à l'air est fixé avec 2 ml de méthanol que l'on laisse agir pendant 3 minutes.

- Laisser s'égoutter le méthanol en inclinant la lame et sans lavage préalable, recouvrez la lame avec le colorant de Giemsa qui a été récemment dilué au 1/10 ème avec de l'eau tamponnée (pH 7- 7.2) ou de l'eau de robinet et laisser sécher à l'air.

- Après 20 minutes, laver la lame avec de l'eau de robinet puis laissez la sécher à l'air.

- lecture à fort grossissement $\times 100$ à l'huile d'immersion.

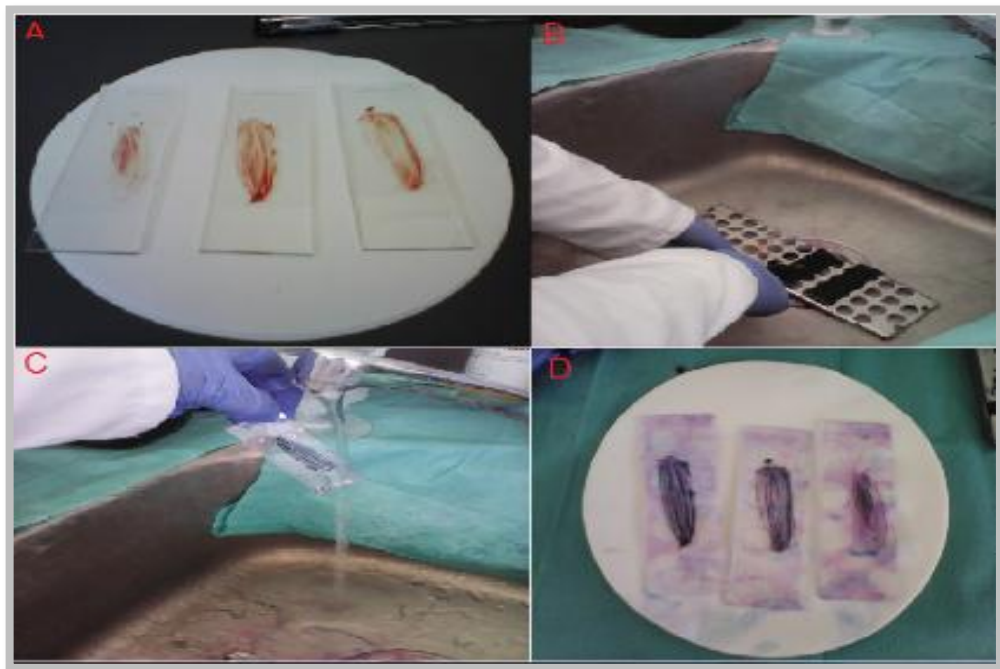


Figure 23. Les étapes de l'examen direct : **A-** Séchage du frottis sanguin. **B-** la coloration par le colorant Giemsa. **C-** Rinçage des lames. **D-** séchage les lames sur du papier absorbant.

Les leishmanies apparaissent comme des cellules ovalaires de taille variable (2 à 6 μm), avec un cytoplasme bleu, un noyau arrondi de couleur rouge et un kinétoplaste en bâtonnet plus sombre. L'amastigote est situé à l'intérieur des cellules phagocytaires mononucléées.

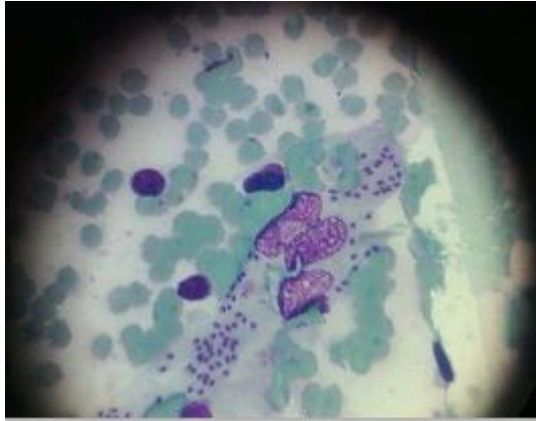


Figure 24. Les formes amastigotes des leishmanies, sur un prélèvement coloré au Giemsa (Observation au microscope à l'objectif 100).

2. La leishmaniose viscérale

2.1. La ponction de la moelle

La ponction de la moelle osseuse ou ponction médullaire est un acte médical qui consiste à effectuer un prélèvement de la moelle osseuse en vue d'une analyse en laboratoire.

- Le myélogramme est un examen douloureux, il est effectué sous anesthésie locale.

-Siège de la ponction : sternum le plus souvent chez l'adulte, de l'os iliaque, postérieur ou antérieur (adultes et enfants) ; chez le petit enfant, un site alternatif peut être la crête du tibia.

-La ponction se fait classiquement avec un trocart, on utilise de nos jours du matériel jetable (seringue 20 cc, paire de gants stérile, compresse stérile, des lames en verre, sparadrap, Bétadine).



Figure 25. Matériel de la ponction de moelle osseuse.

Après désinfection de la peau, le médecin injecte le produit anesthésique avec une aiguille très fine. Avec le trocart, il pique sur le lieu de prélèvement et aspire une petite quantité de la moelle osseuse. Le point de ponction sera soigné par un pansement.

La ponction de la moelle osseuse est donc indiquée pour diagnostiquer les causes d'une anomalie de la numération formule sanguine (anémie, leuco-neutropénie , et thrombopénie) .

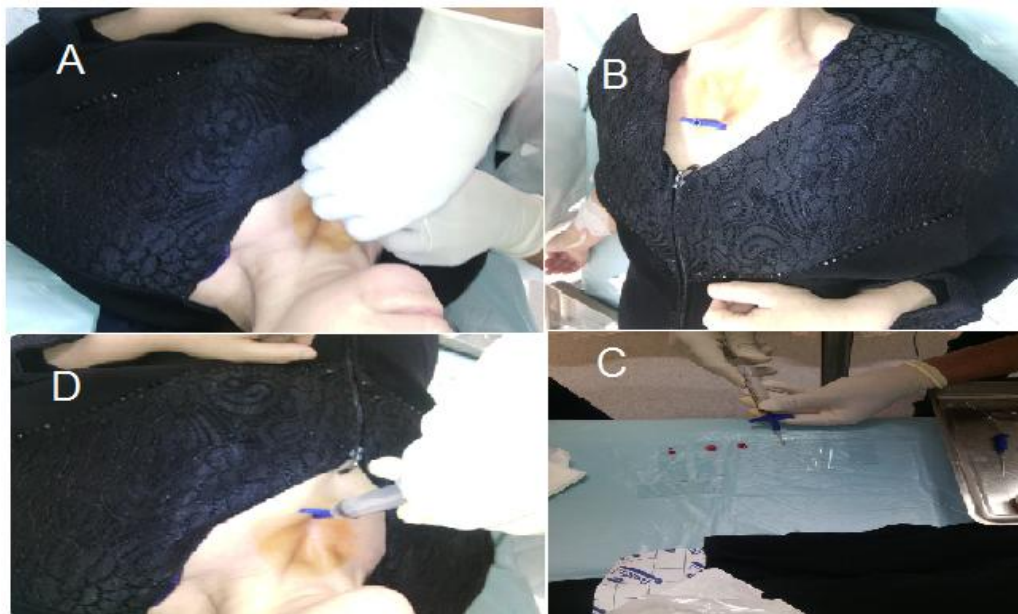


Figure 26. Les étapes de la ponction de la moelle osseuse .A : désinfection de la peau par le Bétadine .B: injection de lanestisé avec un trocart. C : aspiration de la moelle osseuse. D: étalement de la moelle osseuse sur les lames

2.2. Examen direct

L'examen direct , diagnostic de certitude , permet la visualisation des leishmanies dans le produit du prélèvement .Il est obtenu par l'étalement d'une goutte de moelle sur une lame .Le frottis ainsi obtenu est séché puis coloré au May -Grunwald - Giemsa (MGG) , la lecture au microscope optique avec un objectif à immersion , grossissement 50 ou 100 permet d'observer les parasites sous leur forme amastigote : élément arrondi ou ovalaire de 2 à 4 mm de diamètre , cytoplasme bleu , noyau rouge et kinétoplaste rouge .

-Les amastigotes sont observés en amas dans le cytoplasme des leucocytes mononuclées, essentiellement les monocytes.

2.3. Examen sérologique

L'ELISA est une technique immunoenzymatique pour la détection des anticorps spécifiques IgG anti leishmaniens dans le sérum humain.

Principe

La trousse **Cypress Diagnostics** contient le matériel nécessaire pour effectuer 96 tests sur des barrettes sécables sensibilisées avec les antigènes solubles de *Leishmania infantum*.

La présence d'anticorps sériques spécifiques vis-à-vis de l'antigène parasitaire est détectée par immunoglobuline conjuguée à la peroxydase.

Des puits dans les bandes de la plaque microtitre sont recouverts d'antigènes d'*Leishmania infantum* pour attacher les anticorps correspondants du spécimen. Après le lavage des puits ayant pour but d'enlever l'échantillon détaché, protéine A conjugué à la peroxydase est ajouté. Ce conjugué s'attache aux anticorps spécifiques pour l'*Leishmania infantum*. Le complexe immun constitué par le conjugué attaché est visualisé en ajoutant le substrat de qui donne un produit de réaction bleu. L'intensité de ce produit est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques pour *Leishmania infantum* dans le spécimen. La solution d'arrêt est ajoutée pour arrêter la réaction.

Calcul et interprétation

A/ Calcul de la moyenne des densités optiques DO du contrôle négatif CN

Pour calculer la moyenne des densités on utilise deux valeurs individuelles de DO du contrôle négatif

$$C' = \frac{\sum DO (CN-) + DO (CN-)_2}{n}$$

B/ Facteur de correction

Afin de prendre en compte les variations journalières (temps, température). Un facteur de correction est déterminé pour chaque de trousse de diagnostic (cypress diagnostic)

C/ Calcul de la valeur-seuil du contrôle négatif ou le Cut-Off :

La valeur seuil correspond à la moyenne des absorbances du contrôle Cut-off. Celle-ci est obtenue en ajoutant la moyenne des DO des contrôles négatifs et le facteur de correction

$$CO = C' + 0,150$$

$$CO = [\sum DO/n] + 0,150$$

D/ Calcul de ration S :

Pour chaque échantillon on divise la DO du sérum du patient par la valeur de seuil du contrôle négatif. Pour chaque échantillon la ration d'immunité (S) est calculée en divisant la DO du sérum du patient par le seuil de contrôle négatif

Tableau : Interprétation des résultats de la technique d'ELISA

La ration	Résultats	Interprétation
< 0,9	négative	Absence d'anticorps spécifique d'anti-leishmania dans le sérum humain
0,9 - 1,1	Douteux	Echantillon devant être testé à nouveau
≥ 1,1	positif	Présence d'anticorps spécifique d'anti-leishmania dans le sérum humain

Chapitre III :

Résultats et discussion

1. Diagnostic des leishmanioses

1.1. Patients

Huit prélèvements ont été examinés pendant notre stage pratique, sept frottis cutanés et une ponction de la moelle osseuse. Parmi ces huit examens quatre examens directs se sont avérés positifs.

1.2. Examen parasitologique

Pendant cette étude sept examens parasitologiques sur des lésions cutanées ont été réalisés ; l'examen microscopique consiste à mettre en évidence les formes amastigotes du parasite. Dans 57% des échantillons (4/7 cas) les prélèvements ont donné des résultats positifs.

Tableau : Sensibilité de l'examen direct dans le diagnostic de la LC

	Cas cliniques suspects
ED+	4
ED-	3
Total	7
Sensibilité	57%

2. Enquête statistique

Dans la région de Constantine au niveau de l'hôpital militaire Ali Mendjeli, durant la période Janvier 2015 au Mai 2016 , 99 cas sont vus en consultation pour le diagnostic d'une leishmaniose cutanée , 65 cas de l'examen direct négatif , 34 cas de l'examen direct positif (28 cas positif en 2015 et 7 cas positif en 2016) un seul cas pour la leishmaniose viscérale.

2.1. Répartition du pourcentage de positivité de l'examen direct de la leishmaniose cutanée en 2015

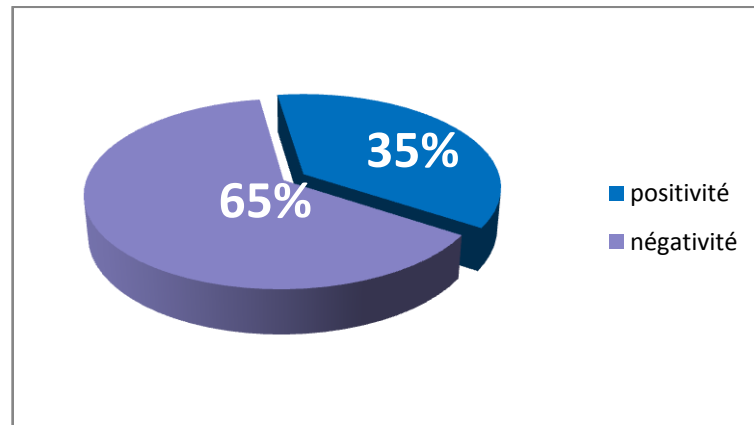


Figure1. Pourcentage de positivité de l'examen direct durant l'année 2015.

Nous avons remarqué 80 cas de la LC, 28 cas sont positifs de pourcentage 35% et 52 cas négatifs (65 %) pendant l'année 2015.

2.2. Répartition du pourcentage de positivité de l'examen direct de la leishmaniose cutanée en 2016

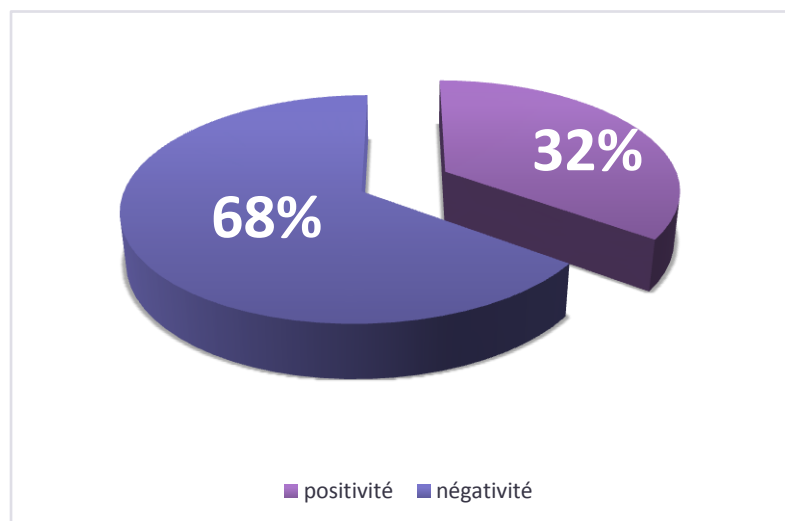


Figure 2. Pourcentage de positivité de l'examen direct de la LC pendant l'année 2016.

2.3. La variation mensuelle du nombre de cas de leishmaniose cutanée pendant l'année 2015

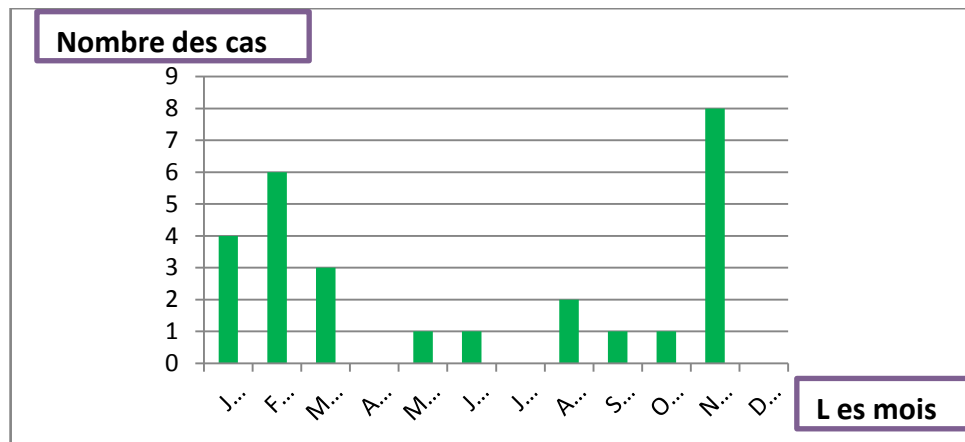


Figure 3. La variation saisonnière du nombre des cas de la leishmaniose cutanée en 2015.

Selon les moyennes de la répartition mensuelle et la répartition du nombre des cas de la LC pendant l'année 2015, nous avons remarqué qu'il y a un pic qui commence au mois de novembre (n= 8 cas) et diminue en janvier (n=4) et mars (n=3).

2.4. Variation mensuelle du nombre de cas de leishmaniose cutanée pendant l'année 2016

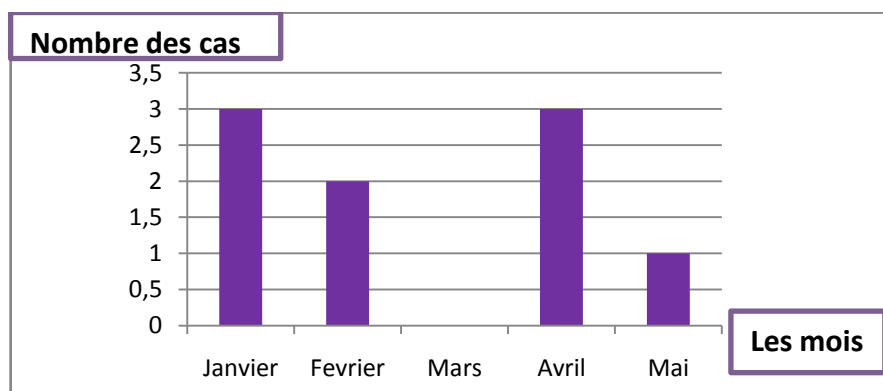


Figure 4 : la variation saisonnière du nombre des cas de la leishmaniose cutanée durant l'année 2016.

Nous avons remarqué en 2016 qu'il y'a une diminution du nombre de cas de la LC et surtout le mois de janvier et février. Ainsi le nombre des cas était de 2 à 3 cas.

2.5. Répartition des cas selon les régions de provenance géographique

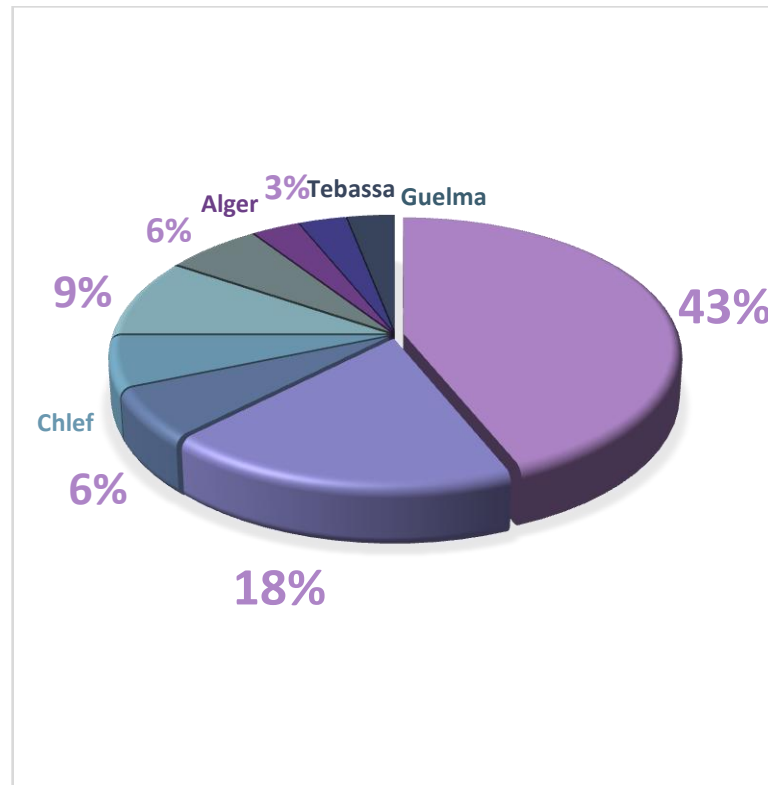


Figure 5. Les principales régions de provenance des cas de la leishmaniose cutanée durant l'année 2015-2016

Nous avons remarqué que les cas provenaient de neuf régions de l'Algérie : Barika 43% (n=14) qui était la région la plus touchée , la région de Msila par un pourcentage 18% (n= 6), la région de Mila avec un taux de 9% . Les régions les moins touchées étaient représentées par Taraf, Chlef, Jijel , Tébessa, Alger et Skikda avec des pourcentages qui varient entre 6 % et 3 % (n= 1 à 2 cas).

2.6. Répartition de la leishmaniose cutanée selon l'âge pendant l'année 2015-2016

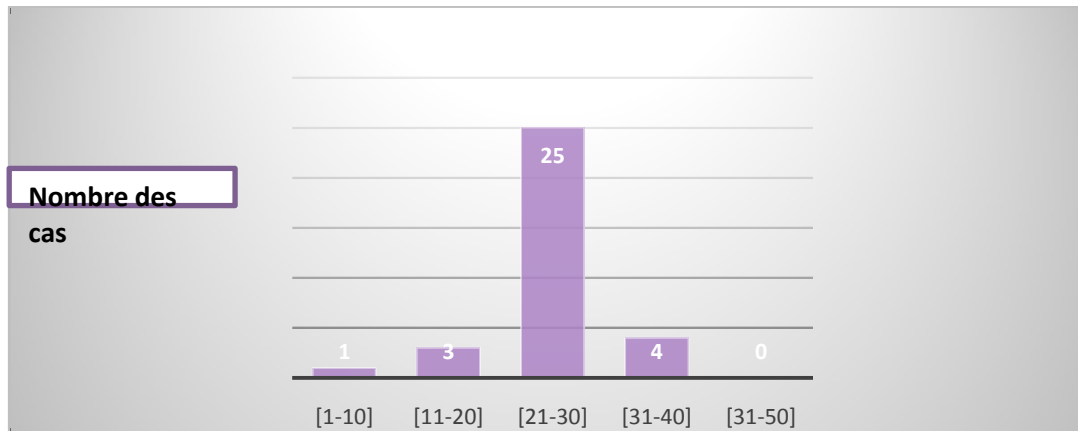


Figure 6. La distribution de la LC selon la tranche d'âge durant l'année 2015-2016.

La LC touche tous pratiquement toutes les catégories d'âge, la classe la plus exposée est entre 21 ans et 30 ans.

2.7. Distribution des cas selon le sexe

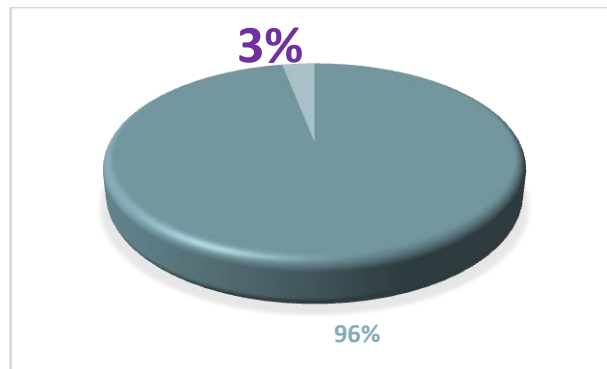


Figure 7 : Distribution des cas selon le sexe.

Nous avons noté une nette prédominance masculine avec 96 % des hommes et uniquement 3% de femmes.

Discussion

Les leishmanioses sévissent selon un mode endémo épidémique avec un pic d'alerte de 30.000 cas enregistrés en 2005 (**Fendri et al ,2011**). Dans notre enquête rétrospective portant sur l'année 2015-2016, 99 cas suspects ont été examinés, dont 34 seulement se révélaient positifs, avec 28 cas en 2015 et 7 cas en 2016, un seul cas de la leishmaniose viscérale a été enregistré en 2016. Ce qui concorde avec presque toutes les études faites en Algérie où la LC constitue la forme la plus rencontrée en Algérie. (**Izri et al, 1992**).

Dans notre étude la majorité des cas étaient âgés entre 21 et 30 ans, ceci a été aussi observé par Fendri et al dans la période de 2006 à 2010, où la classe modale se situe entre 20 et 30 ans avec 67 cas (**Fendri et al ,2011**). Par contre, nos résultats sont en désaccord avec l'étude faite par N. Achour et al. où la tranche d'âge la plus touchée était entre 1 et neuf ans, de même Izri et al ont observé que la catégorie d'âge la plus touchée était des enfants de moins de cinq ans. (**Izri et I, 1992**). Selon zait et al. La tranche d'âge la plus exposée sont les enfants.

Pour le sexe nous avons noté une nette prédominance de l'atteinte masculine ce qui concorde avec l'étude faite par Zait et al. où le sex-ratio était de 1,53 (43H/28F) (**Zait et al, 2012**).

En ce qui concerne la variation saisonnière, nous avons observé que l'affluence des malades était maximale en Automne et au début de l'hiver. Selon Zait et al. sur la période de 1998 à 2009 la variation saisonnière était plus élevée en hiver (n=25 soit 35,5%) et au printemps (n=26 soit 36,3%) (**Zait et al, 2012**). Par contre N. Achour et al. n'ont observé aucune saison de prédilection, selon cette équipe la LC est vue toute l'année avec une moyenne de 17.75 cas par mois, et un discret pic de recensement en Mars, Avril et Juillet. (**N.Achour et al, 2009**).

Les foyers de Tizi-Ouzou , brouira, Bejaia , boumerdes , Constantine , Jijel ,Mila, et Ténès offrent le plus grand nombre de cas (**Mokni et al, 2014**). les régions les plus touchées dans notre enquête étaient : Barika et Msila qui représentent les régions d'enzootie leishmanienne et les foyers anciennement connus de la LC en Algérie (**Harrat et al, 1995**). ces régions sont situées dans les régions steppiques à climat aride ou semi-aride et sont le terrain propice au déroulement di cycle parasitaire de la LC conjoignant la présence de réservoir naturel et de vecteur transmetteur de la maladie (**Harrat et al, 1995**) , les régions les moins touchées étaient Mila, taraf, Chleff , Jijel , Alger , Skikda , Tébessa.

Conclusion

Conclusion

Les leishmanioses sont des zoonoses parasitaires dues à des protozoaires flagellés du genre *leishmania*, transmises par la piqûre d'un insecte vecteur phlébotome femelle. Chez l'Homme, les leishmanioses sont endémiques dans 98 pays dans le monde, la prévalence globale des leishmanioses est estimée à 12 millions d'individus, l'OMS estime que le nombre de nouveaux cas par année est de 1,3 millions. Deux formes de leishmaniose coexistent à l'état endémique en Algérie : la forme cutanée due à *leishmania major* et la forme viscérale due à *leishmania infantum*, cette dernière pose un réel problème de santé publique.

Les méthodes de diagnostic biologique les plus couramment utilisées sont : l'examen direct à la recherche d'amastigotes de *leishmania* dans les frottis sanguins pour la leishmaniose cutanée, et la sérologie notamment la technique d'ELISA pour la recherche d'amastigotes dans le frottis de la moelle osseuse pour la leishmaniose viscérale.

Sur le plan préventif aucun vaccin contre la leishmaniose n'est encore disponible, la prévention de la leishmaniose repose essentiellement sur les mesures de réduction de la densité des populations de phlébotomes vecteurs au voisinage des chiens parasités par l'utilisation d'insecticides dans les gîtes de reproduction.

Devant l'ampleur de l'extension géographique, l'émergence de nouveaux foyers et du fait du lourd impact socioéconomique. l'Algérie a adopté en urgence une stratégie de lutte intégrée ciblant les différents maillons du cycle épidémiologique de la maladie avec mise en œuvre d'un plan d'action national de lutte contre la leishmaniose depuis mars 2006.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abdelouhab A , Mesli M F , Ahmed Fouatih Z (2007).**Les Leishmanioses en algérie : situation épidémiologique . Bull Soc Pathol Exot ; 100(4) :p303 -308.
- **Addadi K , belazzoug S Mokrani T, et al (1985)** .La leishmaniose viscérale en Algérie .Ann Soc Belg Med Trop ;65 :p329-335
- **Adlaoui E (2003)** .Hygiène et salubrité publique Les arthropodes parasites et vecteurs de maladies. *Laboratoire d'Entomologie Médicale, Département de Parasitologie, Institut National d'Hygiène* : p34.
- **Almeida R , Norrish A ,Levick M ,et al (2002).** From genomes to vaccines :leishmania as a model . Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci ;357 :p05-11 .
- **Alvar J, et al (2012).** Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence PLoS One, 7(5): p :35671.
- **Alvarez F, Robello C, Vignali M (1994).** Evolution of codon usage and base contents in kinetoplastid protozoons .Mol Bio Evol 11 :p790-802.
- **Antoine JC, Lang T, Prina E. (1999).** Biologie cellulaire de *Leishmania*. In: Dedet JP, editor. *Les Leishmanioses*. Paris: Ellipses : p 41-62.
- **Aurbry P (2014).**Cour pour le diplome de médecine tropical des pays de locéant indien .
- **Ba Y (1999).** Phlébotomes du Sénégal : Dynamique des populations de trois régions biogéographiques - Rôle dans la transmission des Arbovirus. Thèse docteur de troisième cycle de Biologie Animale ; Université Cheikh Anta Diop de Dakar Faculté des Sciences et Techniques : p154
- **Bachi F. (2001).** Amélioration des moyens diagnostique des leishmanioses en ALGERIE. Thèse de Doctorat en Sciences Médicales. Faculté de Médecine. Université d'Alger.
- **Bachi F (2006)** .Aspects épidémiologiques et cliniques des leishmanioses en Algérie. La Lettre de l'infectiologue 21(1):p09–15
- **Belazzoug Smail (1983)** .Le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de M'sila (Algérie) infestation naturelle de "Psammomys obesus" (rongeur ,gerbillide) .Bull Soc Pathol Exot 76:p146-149 .
- **Belazzoug Smail (1984).** La leishmaniose en algérie à travers l'identification isoenzymatique des souches. Coll Inter Tax Phy des leishmania, Montpellier :p397-

400.

- **Belazzoug S, Ammar khoudja ,et al (1985)** . La leishmaniose cutanée du Nord de l'Algérie . Bull Soc Pathol Exot ; 78 : p 615-622

- **Belazzoug S, Addadi K, Mokrani T, Hafirassou N, Hamrioui B et al (1985)**
La leishmaniose viscérale en Algérie : étude des cas hospitalisés entre 1975 et 1984. Ann Soc Belg Med Trop 65:p 329-335.
- **Belazzoug S, Ammar Khodja A, Rioux JA, Pralong F (1986)**. Forme chronique de leishmaniose cutanée humaine à *Leishmania major*. Yakimoff et Schokhor, 1914 L'homme, réservoir éventuel. *Coll Inter CNRS/INSERM 1984 IME.EE* Montpellier :p 459-461.
- **Belazzoug S, Bendali-Braham S, Lakhel Z, Abdennebi H(1986)**. Hémagglutination indirecte dans le sérodiagnostic de la Leishmaniose viscérale, comparaison avec l'immunofluorescence indirecte. Arch Inst Pasteur Alger 1986;55:p107-112.
- **Belazzoug Smail (1986)** . Découverte d'un Merionis chawi (rongeur , gerbillide) naturellement infesté par leishmania dans le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de Ksar chellala (Algérie) .Bull Soc Pathol Exot 79:p630-633.
- **Belazzoug S (1987)** .La leishmaniose canine en Algérie. Magh Veter 3:(13):p11-13.
- **Belazzoug S et Izri A (2007)** .Diagnostic de laboratoire des leishmanioses rencontrées en Algérie. *Elsevier* : p 3-8
- **Belhadj S, Djaret-Baraket Z, Jemli B, Benosman A, Chaker E (1996)**. Leishmaniose viscérale et cutanée du Nord : étude rétroactive des cas diagnostiqués à l'hôpital la Rabta de Tunis. *Bull Soc Pathol Exot*;78:p269-273.
- **Belkaid M, Harrat Z (1997)**. La leishmaniose en Algérie. *Mise au point. Rev Med Phar*:p43-46.

- **Bellatin JA , Muray AS , zha M ,Mc Master WR (2002)**. *Leishmania mexicana* : identification of genes that are preferentially expressed in amastigotes . Exp parasitol ;100: p 44-53 .
- **Ben Ismail R ,Ben Rachid M.S (1989)** .Epidémiologie des leishmaniose en Tunisie maladie tropicales transmissibles :p70-80
- **Benelbarhadad I, Ajana F.Z , Benazouz M, et al (1995)**. La leishmaniose viscérale chez l'adulte à propos de 6 cas . *Revue Médecine de Maghreb* n°50 : p24-26.

- **Benmiloud S, Brasseur, Brichard B, et al (2009).** La leishmaniose infantile à propos d'un cas importé. *Louvain Médical* (128/2) : p 85
- **Beverley SM , AKopyants NS ,Goyard S et al (2002).** Putting the leishmania genome to work :functional genomics by transposon trapping and expression profiling . *Philos Trans .R .Soc .Lond .B .Biol .Sci* ; 357 :p47-53 .
- **Blaineau,C., Bastien,P., Rioux,J.A., Roizès,G. and Pagès,M. (1991)** *Mol. Biochem. Parasitol.*, **46**, 293–302
- **Bogdan C, Rollinghoff M, Solbach W (1990).** Evasion stratégies of Leishmania parasites. *Parasitol Today* , 6(6): p183-187
- **Bogdan C, Rollinghoff M(1998).** The immune response to Leishmania: mechanisms of parasite control and évasion. *Int J Parasitol* , 28(1): p 121-134.
- **Boubidi S , Harrat Z , et al (1998).** Description of a dermatropic leishmania clos to l.killicki in Algeria. *Trans .R.Soc. Trop. Med .Hyg* 103(7) :p716-720 .
- **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.
- **Boulkenafet F (2006).**Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Mémoire Soutenue en 2006 à l'Université Mentouri Constantine Algérie.
- **Boussaa S (2008).** Epidémiologie des leishmanioses dans la région de Marrakech. Maroc : effet de l'urbanisation sur la répartition saptio-temporelle de phlébotomes et caractérisation moléculaire de leurs populations : thèse de Doctorat en ecologie-épidémiologie. Université louis pasteurs strasbourg I .217 :p 06-25.
- **Britto C, Ravel C, Bastien P,et al (1998).**Conserved linkage groups associated with large-scale chromosomal rearrangements between Old World and New World *Leishmania* genomes. *Gene*; 222: p107-117.
- **Carré N, Collot M, Guillard P et al (2010).** La leishmaniose viscérale : Epidémiologie diagnostic. Traitement et prophylaxie.127 :p121-148.
- **Chabasse D, Danis M, Guiguen C , et al (2007) .** Parasitoses et mmycoses des régions tempérées et tropicales .*Elsevierp* : p480.
- **Chappuis F, Rejal S , Soto A, et al (2006) .**Ameta-analysis of the diagnostic performance of the direct agglutination test and rk 39 dipstick for viscéral leishmaniasis .*Br .Med.J*.333(7571) :p 23.

- **Clayton CE , EMBO J(2002).**Life without transcriptional control ? From fly to man and back again ; 21 :p1881-1888 .
- **Cruz I , Chicharro C , Nieto J , Bailo B , Canavate C , et al (2006).**Comparison of new diagnostic tools for management of pediatric mediterranean visceral leishmaniasis. J.C.Lin. Microbiol ; 44: p 2343-2347.
- **Dedet JP,Addadi K , Iannuzel b (1977) .** Epidémiologie des leishmanioses en algérie :leishmaniose viscérale dans le foyer de grande kabylie . Bull Soc Pathol Exot 70:p250-265.
- **Dedet , J.-P (1999).** Les leishmanioses. Ellipses Paris Edp : p253.
- **Dedet J.P (2001).** Leishmanies. leishmaniose, biologie clinique et thérapeutique encyclopédie médico-chirurgical : 8 :p506-510.
- **Dedet. J.P (2009).** Leishmanies, leishmanioses : biologie, clinique et thérapeutique *Elsevier Masson Sas a-10* :p508-506
- **Dedet J-P,Berand C, Nicole D Gilles B ,et al (2013).**Épidémiologie des leishmanioses autochtones en France métropolitaine et d'outre-mer, Presse Med :p01-12
- **Descoteaux A, Turco SJ (1999).** Glycoconjugates in Leishmania infectivity. *Biochim BiophysActa* , 1455(2-3): p341-352.
- **Desjeux P (2004).** Leishmaniasis ; current situation and new perspectives : p 305-318
- **Djezzar Mihoubi (2006) .**Etude des leishmaniose diagnostiques au centre hospital – universitaire ben baddis de constantine. These de Doctorat d'étet Es-microbiologie. Universite Mentouri Constantinte 119 :p119-138.
- **EL Fakhry Y, Ouellette M, Papadopoulou B (2002).** A proteomic approach to identify developmentally regulated proteins in *leishmania infantum* . Proteomics; 2 : p1007-1017 .
- **El-Safi , Musa M. Kheir , Bruno Bucheton , et al (2006).** Genes and environment in susceptibility to visceral leishmaniasis. C R Biologies 329: p863–870.
- **Epelbion loic (2012).** Prise en charge de la leishmaniose en Algérie.
- **Estevez Y (2009) .**Activité leishmanicide de plantes issues de la pharmacopée traditionnnalle péruvienne et de molécules de synthèse : Etude relation structure activité .Thèse de Doctorat en biologie –santé-biotechnologie . Université Toulouse III- paul sabtier 93 :p04-16

- **Eugénie Gay, Hélène Guegan, Marie Ameline, Jean-Pierre Gangneux (2015).** Les leishmanioses humaines : parasitoses importées et autochtones :p461-477.
- **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.
- **Ferguson M A (1997).** The surface glycoconjugates of trypanosomatid parasites. *Philos Trans R Soc LondB Biol Sci*, 352(1359): p1295-1302.
- **Ferroglio E E , Centaro W, Mignone, et Trisciuglio A (2007).** « Evaluation of an ELISA Rapid Device for the Serological Diagnosis of Leishmania Infantum Infection in Dog as Compared with Immunofluorescence Assay and Western Blot ». *Veterinary Parasitology* 144 (1-2): p162-166.
- **Gangneux J-P ,Beraz S, Robert-Gangneux F (2015) .**Mise au point et actualités sur la leishmaniose viscérale méditerranéenne. *Journal des Antiinfectieux* p :04.
- **Garnham PC (1995).** The leishmaniasis, with special reference to the role of animal reservoirs. *Am Zool.* 5:p141-151.
- **Gott J L(2003).**Two distinct roles for terminal uridylyl transferases in RNA editing « Proc Natl Acad sci 4SA » 100 (19) :10583-10584.
- **Haimeur A , Brochu C , Genest P , Ouellete M, et al (2003).** Amplification of the ABC transporter gene PGPA and increased trypanothione levels in potassium antimonyl tartrate (SbIII) resistant *Leishmania tarentolae* . *Mol Biochem Parasitol* ; 108 :p131 -135 .
- **Harrat Z, Addadi K, Tabet Derraz O (1992) .**La leishmaniose viscérale en Algérie :recensement des cas de leishmaniose Période de 1985 à 1990. *Bull Soc Pathol Exot* 85:p296-301.
- **Harrat Z, Hamrioui B , et al (1995) .** Point actuel sur l'épidémiologie des leishmaniose en algerie .*Bull Soc Pathol Exot* ; 88 :p180-184 .
- **Herwaldt BL (1999).** Leishmaniasis, *Lancet* ; 354: p1191-1199.
- **Hide M (2004).** Variabilité pathgénique du complexe leishmania donovani. Agent de la leishmaniose viscérale. Thèse de Doctorat en parasitologie. Université de Montpellier II.403 :p9-29
- **Ivens AC, Blackwell JM, (1999) .** The leishmania genome comes Age. *Parasitologie* aujourd'hui persona Ed. Vol. 15. Num . Ed. Ltd : p225-231.

- **Ivens AC, Peacock CS, Worthey EA, Murphy L, Aggarwal G, et al (2005)** .The génome of the kinetoplastid parasite, *Leishmania major*. *Science* 309(5733) :p436-442.
- **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
- **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.
- **Izri A, Deniau A, Brière C, Rivollet D et al, (1996)**. Leishmaniasis in AIDS patients : Evaluation of fast biological method of diagnosis. *Bull.WHO*.74(1) :p91-94
- **Jarry DM (1999)**. Historique des leishmanioses et de leurs complexe pathogènes In.Dedet J.P. Les leishmanioses Ellipses Ed .Paris : p89-108.
- **Kabb A L L M, Opegard, B.A.Mc kenzie et al (2001)**. ARNm a determinant of gARN-directed kinetoplastid editing. « *Ncleic Acids Res* 29(12) : p2575-2585
- **Khaldi. F, Achouri .E, Gharbi et al (1991)**.La leishmaniose visceral de l'enfant . Etude des cas hospitalizes de 1974 à 1988 à l'hopital d'enfants de Tunis . *Méd. Trop.* 51: p143-148.
- **Lachaud L , Dereure J , Chabbert E , Reynes J ,Mauboussin JM , Oziol E , et al (2000)**.Optimized PCR using patient blood samples for diagnosis and follow -up of visceral leishmaniasis , with special reference to AIDS .patients .*J Clin Microbiol* ;38: p236-240.
- **Lamontagne J , Papadopoulou B (1999)**. Developmental regulation of spliced leader RNA gene in *leishmania donovani* amastigotes is mediated by specific polyadenylation . *J Biol .Chem* ;274: p6602-6609.
- **Lannot G, Maazoun R et al (1908)** .Un nouveau variation enzymatique *Leishmania infantum* .*Nicole*; 60 :p01-03
- **Légaré D , Richard D , Mukhopadhyay R , et al (2001)**. The *Leishmania* ABC protein PGPA is an intraellular meytal-thiol transrtr ATPase .*J Biol Chem* ; 276 : p469-474 .
- **Légaré D , Cayer S , Singh AK , Ricad D , Papadopulou B , Ouellette M (2003)** .ABC poteins of *Leishmania* . *j Biomembr* :p469 -474 .

- **Léger N, Depaquit J (1999).** Les phlébotomes. In: Dedet JP, editor. *Les Leishmanioses*. Paris: Ellipses: p 89-108.
- **Lodish H, A. Berk, L.S Zipursky et al (2000).** Other mechanisms of post-transcriptional control .Molecular Cell Biology .E .W. H.Freeman . New york .
- **Marc F, Saihi M, Teyssandier M (2007).** Maladies transmissibles et insectes piqueurs sur le territoire métropolitain. France. Atelier Santé Environnement –ENSP-IGS:p01-59

- **Marty P, Ficoux Y, Prallong F (1994).** Human visceral leishmaniasis in Alpes – Maritimes . France. Epidemiological characteristics for the period 1985-1992, *Trans. Roy. Soc. Trop. MED. Hyg* . 88 :p33-34.
- **Marty P , Lelièvre A, Quaranta J F, Suffia I, Eulalio M ,Gari-Toussaint M, et al (1995) .** Detection by Western Blot of Four Antigens Characterizing Acute Clinical Leishmaniasis due to *Leishmania Infantum* *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 89 (6): p690-691.
- **Marty P , Lacour JP , Pralong 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
- **Marty p, Delaunay p et al (2007).**La leishmaniose méditerranéenne due à *L. infantum* . Mise au point .Interet des tests de diagnostic rapide . *Med . Trop* , 67 : p 79 -88 .
- **Marty P , Pomares-Estranc , Hasseine L, Delaunay P, et al (2009).**Actualités sur les leishmaniose en France . *Archiver de pédiatrie* 2009 :16 : p96-100.
- **Marty p (2010).** Leishmaniose viscéral : Epidémiologie , diagnostic et traitement . *La lettre infectiologique* (25) :p 186-190 .
- **Mary C , Faraut F , Drogoul MP , Xeridat B, et al (2006).** Reference values for *Leishmania infantum* parasitemia in different clinical presentation: Quantitative polymerase chain reaction for therapeutic monitoring and patient follow-up .*Am J Trop Med Hyg* ;75: p858-863.
- **Mazelet L (2004) .**La leishmaniose canine dans le bassin méditerranéen français. Thèse de maîtrise de biologie des populations et des écosystèmes .Université pierre de marie curie. Paris.VL.

- **McConville MJ, Ralton JE (1997).** Developmentally regulated changes in the cell surface architecture of *Leishmania* parasites. *Behring Inst Mitt* (99): p34-43.
- **Minodier P, Jurquet A-L, Noel G ,et al (2010).** Le traitement des leishmanioses : Elsevier Masson SAS : p838-839.
- **Mokni M, boubaker S, Ben sala A (2014).** Leishmanioses cutanées. *Elsevier* : p219-227
- **Moziane F, Benalioua M, Trebycka K, Bouhass R, Belazzoug S, AguerCIF M. (1983).**Kala azar chez l'enfant dans l'Ouest algérien : à propos de 14 observations. *Med. Hyg*;41:p3649-3650.

- **Myler, P. J, E. Sisk, P. D. McDonagh, S. Martinez-Calvillo, A. Schnauffer, et al (2000).** Genomic organization and gene function in *Leishmania*. *Biochem Soc Trans* 28: p527-531.
- **Myler PJ, Beverley SM, Cruz AK, Dobson DE, Ivens AC,McDonagh PD,et al (2001)** The *Leishmania* genome project: new insights into gene organization and function. *Med Microbiol Immunol.* 190 (1-2): p09-12.
- **N.Achour Barchiche, M.Madiou. (2009).**Recrudescence des leishmanioses cutanées à propos de 213 cas dans la wilaya de Tizi-Ouzou. *Pathologie Biologie.* Elsevier Masson.
- **Nadau Q (2005).** Etude préliminaire de l'utilisation de protéine LACK dans le test d'intradermoréaction de la leishmaniose canine. Thèse de doctorat vétérinaire .Université Paul Sabatier de Toulouse : p122
- **Olivier M, Gregory DJ, Forget G (2005).** Subversion mechanisms by which *Leishmania* parasites can escape the host immune response: a signaling point of view. *Clin Microbiol Rev*, 18(2): p293-305
- **Organisation Mondial de la Santé (OMS) (2015).**<http://www.who.int/leishmaniasis>.
- **Oshea B, et al (2002).** Enhanced Sandfly attraction to leishmania-infected hosts;p 117-118.
- **Ouellette M ,Olivier M, Sato S, Papadopoulou B (2003).**Le parasite leishmania à l'ère de la post-génomique.
- **Paratlong F, Harrat Z , et al (1990).** *Leishmania major* in Algeria .*Tans. R.Soc. Trop Med. Hyg* 90 : p 625-629 .

- **Patrick Bastien , (2014).** Les aspects génétiques des leishmanioses à *Leishmania infantum* :The genetic sides of leishmanioses :p31-49
- **Peacock C S , Seeger K, Harris D, Murphy L, Ruiz J C, et al (2007).** Comparative genomic analysis of three Leishmania species that cause diverse human disease. Nat Genet 39:p 839-847.
- **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 :p 60
- **Puentes SM, Da Silva RP, Sacks DL, Hammer CH, Joiner KA (1990).** Sérum résistance of metacyclic stage Leishmania major promastigotes is due to release of C5b-9. *J Immunol*, 145(12): p4311-4316.
- **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.
- **Ravel C, Dubessay P, Britto C, Blaineau C, Bastien P, Pagès M (1999).** High conservation of the fine-scale organisation of chromosome 5 between two pathogenic *Leishmania* species. *Nucleic Acids Res.* 27(12): p2473-2477.
- **Ravel C, Wincker P,Blaineau C (1999) .** Biologie moléculaire de leishmania in « les leishmaniose » Dedet JP Ed Ellipses 249 :p259-262.
- **Reithinger R , Dujardin JC (2007).** Molecular diagnosis of leishmaniasis Current status and future applications .*J Clin Microbiol* 45:p21-25.
- **Sacks D and Kamhawi s (2001).** Molecular aspects of parasito-vector and vector - host interaction of *leishmaniasis* .*Annu Rev Microbid* 55:p453-483.
- **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.
- **Sanyal RK (1985).** Leishmaniasis in the Indian sub-continent In: Chang KP, Bray RS, editors *Leishmaniasis*.London: *Elsevier* :p 443-467.
- **Schnur LF , Arivah Z (1977).** Leishmania excreted factor serotypes in Sudan kenya and Ethiopia .*Ann Trop Med Parasitol* ; 71(3) :p273-294

- **Schwenkenbecher JM ,With T, Schnur LF ,Jaffe CL , Schallig h, Al-jawabreh A ,et al (2006)** .Microsatellite analysis reveals genetic structure of *leishmania tropica* .
Int J Parasitol 36:p 237-246 .
- **Seaman J, Mercer AJ, Sondorp E (1996)**.The epidemic of visceral leishmaniasis in northern sudan during 1984-1996 course, Impact, Clinical Outcome and costs. *Trans. R.Soc .Trop. Med. Hyg* :p 90-122.
- **Sergent ED et Sergent ET (1910)** . Kala azar :existence de la leishmaniose chez les chien d'alger , Première Not . Bull .Soc .Pathol .Exot 3:p510-511.
- **Sergent ET et Gueidon (1923)**.Chronique du bouton d'orient en algérie le (clou de mila) Archinst Pasteur Algérie1:p01-03.
- **Silva E S, Schoone G J , Gontyo C.M.F , Brazil R P, et al (2005)**. Application of direct agglutination test (DAT) and fast agglutination screening test (FAST) for serodiagnosis of visceral leishmaniasis in endemic area of Gerais .Brasil. Kinetoplastid .BIOL .Dis. 04:p04.
- **Simpson, L (1987)** .The mitochondrial genome of kinetoplastid protozoa: genomic organization transcription replication and evolution .*Annu .Rev. Microbiol* 41 :p363-382.
- **Thakur CP, Kumar K (1992)**. Post kala-azar dermal leishmaniasis, a neglected aspect of kala-azar control programmes. *Ann .Trop .Med. Parasitol* 86:p355-359.
- **Turco SJ, Descoteaux A (1992)**. The lipophosphoglycan of Leishmania parasites. *Annu Rev Microbiol*, 46:65-94.
- **Van Der Ploeg L H T, Liu A Y C and Borst P (1984)**. Structure of the growing telomeres of trypanosomes cell :p 36.
- **Vega-Loper F (2003)**. Diagnosis of cutaneous leishmaniasis .*Curr .Opin .Infect. Dis* 16 :p 97-101.
- **Vilela Dionicia G (2008)**. Analysis of Gene Expression in the Leishmania life cycle : Leishmania (viannia) braziliensis and L (viannia peruviana model. Thesis university Maastricht. 121 :p 17.
- **Washburn MP, Wolters D ,Yates J R (2001)** .3rd large-scale analysis of the yeast8proteome by multidimensional protein identification technology nat biotechnol ; 19 : p 242-247 .
- **World Health Organization (WHO) (2011)**. Expert Committee on the control of leishmaniases, control of the leishmaniases .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.

- **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.
- **Wincker P c, Ravel c, Blaineau M et al (1996).** The leishmania genome comprises 36 chromosomes conserved across widely divergent human pathogenic species « *Nucleic Acids Res* »24(9) : p1688-1694.
- **Wu Y , EL Fakhry Y , Sereno D, Tamar S, Papadopoulou B (2000).** A new developmentally regulated gene family in leishmania amastigotes encoding a homolog of amastin surface proteins *parasitol* ;110:p345-57.
- **Zait H, Ferhani Y, Achir I, Hamrioui B (2012).** Etude de 71 cas de leishmaniose viscérale diagnostiqués au CHU Mustapha d'Alger entre 1998 et 2009. *Elsevier Masson SAS* : p119-125.

Annexes

Annexe I

Composition du colorant May Grunwald Giemsa (MGG)

A / Le May -Grunwald contient deux colorants :

Colorant acide (l'éosine)

Colorant basique (bleu de méthylène)

B/ Le Giemsa contient lui aussi deux colorant :

Colorant acide (l'éosine)

Colorant basique (l'azur de méthylène)

- ❖ Pour la préparation du May Grunwald Giemsa on ajout ; 1g de Giemsa, 54g de glycérine, 84g de méthanol, à 1000 ml d'eau distillée.

Annexe II



Figure27 : La trousse cypress diagnostics de meishmania

Annexe III

Protocole de la technique d'ELISA :

- 1- Faire sortir les réactifs à température ambiante.
- 2- Diluer la solution de lavage.
- 3- Diluer les échantillons (sérum 1/50) ou utiliser la solution tampon (diluant des sérum) 10 µl sérum +490 µl Diluant des sérum.
- 4- Ajouter 100 µl de sérum dilués et les 100 µl contrôles (ne doivent pas être dilués).
- 5- Incuber 15 minutes à température ambiante.
- 6- Lavage 5 fois (300 µl de solution de lavage).
- 7- Additionner 100 µl de conjugué.
- 8- Incuber 15 minutes à température (20-25 °C).
- 9- Répéter les lavages cinq fois avec 300 µl solution de lavage.
- 10- Ajouter 50 µl de substrat et de chromogène dans chaque puits.
- 11- Incuber 15 minutes à température ambiante (20-25°C).
- 12- Ajouter 50 µl solution d'arrêt dans chaque puits.
- 13- Calculer la densité optique à 450 nm.

Résumé :

Les leishmanioses sont des zoonoses parasitaires dues à des protozoaires flagellés du genre leishmania. Les leishmanioses cutanées sont endémiques en Algérie, la recrudescence alarmante dans ce pays depuis les années 1990, a entraîné une forte demande de diagnostic au laboratoire de cette affection.

Entre l'année 2015-2016, 34 patients avec une LC et un patient avec une LV ont été enregistrés au niveau de l'Hopital militaire Ali Mendjeli de Constantine. L'objectif du présent travail est de déterminer certaines caractéristiques épidémiologiques des cas rapportés durant cette période, et de maîtriser les techniques routinières de diagnostic des leishmanioses en laboratoire.

La majorité des cas rapportés sont âgés entre 21 et 30 ans, avec une prédominance masculine, ils habitaient au Nord du pays pour la majorité des patients. La saison de prédilection était l'Automne et le début d'hiver.

Ces résultats ne peuvent être confirmatifs, une étude plus large est donc nécessaire pour confirmer nos résultats.

Mots clés : leishmaniose, leishmaniose cutanée, leishmaniose viscérale, diagnostic, phlébotome

Abstract

Leishmaniasis are parasitic zoonosis caused by protozoa flagellates of the genus Leishmania. Cutaneous leishmaniasis are endemic in Algeria. The alarming recrudescence of the disease in this country since the nineties has for direct consequence a strong demand for laboratory diagnostic of this affection.

From 2015 to 2016 35 patients were with a biologically confirmed diagnostic. 34 with a CL and just one patient with a VL. The aim of this work is to establish some epidemiological characteristics of leishmania and to master diagnostic techniques of leishmaniasis.

The majority of cases were men aged between 21 and 30 years old, lived in the North of the country. The highest incidence was observed in autumn and at the beginning of winter.

These results can not be confirmed, a large study is needed to confirm these results.

Résumé

داء اللشمانيا هو مرض طفيلي حيواني المنشأ ناتج عن عدوى بالأوليات السوطية من نوع الشمانيا

داء اللشمانيا الجلدية مرض متوطن في الجزائر و قد ادت عودة ظهور هذا المرض خلال التسعينات من جديد الى تزايد كبير في طلبات التشخيص المخبرية لهذا المرض حيث تم تسجيل 34 مريض في الفترة الممتدة ما بين جانفي 2015 حتى ماي 2016 مصابين بداء اللشمانيا الجلدية و مريض واحد بداء اللشمانيا الحشوية , على مستوى المستشفى العسكري الجامعي بن بعبوش بقسنطينة

إن الهدف من هذا البحث هو تحديد بعض الخواص و الصفات الوبائية للحالات المسجلة خلال هذه الفترة إضافة الى التمكن من التقنيات اليومية و البسيطة لتشخيص هذا المرض على مستوى المخبر.

ان اغلبية الحالات المسجلة كانت ما بين 21-30 سنة مع غالبية الفئة الذكورية الذين يعيشون شمال البلاد , إضافة الى ان المرض يزيد بكثرة خلال فصل الخريف و بداية فصل الشتاء

ان هذه النتائج لا تؤكد الواقع بصفة كاملة ، لذلك من الضروري إجراء بحوث و دراسات أكثر عمقا و أكثر دقة لتأكيد واقع هذا المرض

THÈME : ASPECTS CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DES LEISHMANIOSES CUTANÉE ET VISCÉRALE

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire.

Résumé

Les leishmanioses sont des zoonoses parasitaires dues à des protozoaires flagellés du genre *Leishmania*. Les leishmanioses cutanées sont endémiques en Algérie, la recrudescence alarmante dans ce pays depuis les années 1990, a entraîné une forte demande de diagnostic au laboratoire de cette affection.

Entre l'année 2015-2016, 34 patients avec une LC et un patient avec une LV ont été enregistrés au niveau de l'hôpital militaire Ali Mendjeli de Constantine. L'objectif du présent travail est de déterminer certaines caractéristiques épidémiologiques des cas rapportés durant cette période, et de maîtriser les techniques routinières de diagnostic des leishmanioses en laboratoire.

La majorité des cas rapportés sont âgés entre 21 et 30 ans, avec une prédominance masculine, ils habitaient au Nord du pays pour la majorité des patients. La saison de prédilection était l'Automne et le début d'hiver.

Ces résultats ne peuvent être confirmatifs, une étude plus large est donc nécessaire pour confirmer nos résultats.

Mots clés : leishmaniose, leishmaniose cutanée, leishmaniose vésicale, diagnostic, phlébotome

Laboratoire de recherche : Laboratoire de parasitologie de l'Hôpital Militaire Ali Mendjeli de Constantine

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Dr REZGOUNE-CHELLAT D*
Rapporteur : *Mme BOUDOKHANE .I.M*
Co-encadreur : *Dr REHAMNIA YACINE*
Examineur : *Dr CHETTOUM. A*

Date de soutenance : 21/06/2016