



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2016

Thèse N°184

**Apport du laboratoire au diagnostic de la
leishmaniose viscérale : Experience du service de
Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de
Marrakech .**

THESE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 23/11/2016

PAR

Mme.MERYEM ELGHAIDI

Née le 26 janvier 1990 à AGADIR.

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS

Leishmaniose viscérale- Enfant -Leishmania infantum-Diagnostic - Biologie- Méthodes
Marrakech- Maroc.

JURY

Mr.	M. CHAKOUR Professeur d'Hématologie.	PRESIDENT
Mr	R. MOUTAJ Professeur de Parasitologie -Mycologie.	RAPPORTEUR
Mr.	A .BOUKHIRA Professeur de Biochimie-Toxicologie.	} JUGES
Mme.	A. BOURRAHOAT Professeur agrégée de Pédiatrie.	
Mr	H.QACIF Professeur agrégé de Médecine interne.	



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"رب أوزعني أن أشكر نعمتك
التي أنعمت عليّ وعلى والديّ
وأن أعمل صالحاً ترضاه
وأصلح لي في ذريّتي
إنّي تبّيت إليك و إنّي من المسلمين"
صدق الله العظيم





Serment d'hypocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948





*LISTE DES
PROFESSEURS*

UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires : Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen : Pr. Mohammed BOUSKRAOUI
Vice doyen à la Recherche et la Coopération : Pr. Ag. Mohamed AMINE
Vice doyen aux Affaires Pédagogiques : Pr. EL FEZZAZI Redouane
Secrétaire Générale : Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie- obstétrique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	KISSANI Najib	Neurologie
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KRATI Khadija	Gastro-entérologie
AKHDARI Nadia	Dermatologie	LMEJJATI Mohamed	Neurochirurgie
AMAL Said	Dermatologie	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie – générale
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique B	MAHMAL Lahoucine	Hématologie - clinique
ASRI Fatima	Psychiatrie	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale

BENELKHAIAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio-Vasculaire	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie A	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
CHABAA Laila	Biochimie	NAJEB Youssef	Traumato-orthopédie
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
DAHAMI Zakaria	Urologie	SAIDI Halim	Traumato-orthopédie
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie-réanimation
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	SARF Ismail	Urologie
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	SBIHI Mohamed	Pédiatrie B
ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie-obstétrique A/B
ETTALBI Saloua	Chirurgie réparatrice et plastique	YOUNOUS Said	Anesthésie-réanimation
FINECH Benasser	Chirurgie – générale	ZOUHAIR Said	Microbiologie

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato- orthopédie B	EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie- réanimation	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FAKHIR Bouchra	Gynécologie-obstétrique A
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	FOURAIJI Karima	Chirurgie pédiatrique B
ADALI Imane	Psychiatrie	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale

ADERDOUR Lahcen	Oto- rhino- laryngologie	HADEF Rachid	Immunologie
ADMOU Brahim	Immunologie	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique A	HAOUACH Khalil	Hématologie biologique
AISSAOUI Younes	Anesthésie - réanimation	HAROU Karam	Gynécologie- obstétrique B
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie- obstétrique A	JALAL Hicham	Radiologie
ALAOUI Mustapha	Chirurgie- vasculaire péripherique	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique B
ALJ Soumaya	Radiologie	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie- réanimation
AMINE Mohamed	Epidémiologie- clinique	KHOUCANI Mouna	Radiothérapie
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	KOULALI IDRISSE Khalid	Traumato- orthopédie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie -Virologie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LAKMICH Mohamed Amine	Urologie
BAHA ALI Tarik	Ophtalmologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
BASRAOUI Dounia	Radiologie	LOUHAB Nisrine	Neurologie
BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique A	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie A
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BELKHOU Ahlam	Rhumatologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MEJDANE Abdelhadi	Chirurgie Générale
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie B	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUFID Kamal	Urologie

BENLAI Abdeslam	Psychiatrie	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	NARJISS Youssef	Chirurgie générale
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique B	NOURI Hassan	Oto rhino laryngologie
BOUKHIRA Abderrahman	Toxicologie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
BOURRAHOUEAT Aicha	Pédiatrie B	OUBAHA Sofia	Physiologie
BOURROUS Monir	Pédiatrie A	QACIF Hassan	Médecine interne
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie A	QAMOUSS Youssef	Anesthésie- réanimation
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	RADA Nouredine	Pédiatrie A
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
EL HAOURY Hanane	Traumato- orthopédie A	RBAIBI Aziz	Cardiologie
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ROCHDI Youssef	Oto-rhino- laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	SORAA Nabila	Microbiologie - virologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL BARNI Rachid	Chirurgie- générale	TAZI Mohamed Illias	Hématologie- clinique
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie - virologie
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie B	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZIADI Amra	Anesthésie - réanimation

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	GHAZI Mirieme	Rhumatologie
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	GHOZLANI Imad	Rhumatologie
ADALI Nawal	Neurologie	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie – Embryologie - Cytogénétique
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
AIT BATAHAR Salma	Pneumo- phtisiologie	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	KADDOURI Said	Médecine interne
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BELBACHIR Anass	Anatomie- pathologique	MAHFOUD Tarik	Oncologie médicale
BELHADJ Ayoub	Anesthésie -Réanimation	MARGAD Omar	Traumatologie - orthopédie
BENHADDOU Rajaa	Ophthalmologie	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino - Laryngologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	MOUHADI Khalid	Psychiatrie
BOUCHENTOUF Sidi Mohammed	Chirurgie générale	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BOUKHRIS Jalal	Traumatologie - orthopédie	MOUZARI Yassine	Ophthalmologie

BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	NADER Youssef	Traumatologie - orthopédie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	NADOUR Karim	Oto-Rhino - Laryngologie
CHRAA Mohamed	Physiologie	NAOUI Hafida	Parasitologie Mycologie
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	OUEIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
DIFFAA Azeddine	Gastro- entérologie	REBAHI Houssam	Anesthésie - Réanimation
EL HAOUATI Rachid	Chiru Cardio vasculaire	SAJIAI Hafsa	Pneumo- phtisiologie
EL HARRECH Youness	Urologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	SAOUAB Rachida	Radiologie
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	SERGHINI Issam	Anesthésie - Réanimation
EL MEZOUARI EI Moustafa	Parasitologie Mycologie	SERHANE Hind	Pneumo- phtisiologie
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
ELQATNI Mohamed	Médecine interne	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
FADIL Naima	Chimie de Coordination Bioorganique	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie Thoracique
FAKHRI Anass	Histologie- embyologie cytogénétique	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- Vasculaire



DÉDICACES

« Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur ; elles sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries »

Marcel Proust.



Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif. C'est avec amour, respect et gratitude que

Je dédie cette thèse ... 

À Allah

Le tout miséricordieux, le très miséricordieux, Le tout puissant, Qui m'a inspiré, Qui m'a guidé sur le droit chemin. Je vous dois ce que j'étais, Ce que je suis et ce que je serais Inchaallah. Soumission, louanges et remerciements Pour votre clémence et miséricorde

A MON TRÈS CHER PÈRE

A celui qui m'a aidé à découvrir le 'savoir' le trésor inépuisable. De tous les pères, tu es le meilleur, tu as su m'entourer d'attention, m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité. Merci d'avoir été toujours là pour moi, un grand soutien tout au long de mes études. Tu as été et tu seras toujours un exemple à suivre pour tes qualités humaines, ta persévérance et ton perfectionnisme. Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon respect, ma considération, ma reconnaissance et mon amour éternel. Que Dieu te préserve des malheurs de la vie afin que tu demeures le flambeau illuminant mon chemin...

Ce travail est ton œuvre, toi qui m'a donné tant de choses et tu continues à le faire... sans jamais te plaindre. J'aimerais pouvoir te rendre tout l'amour et la dévotion que tu nous as offerts, mais une vie entière n'y suffirait pas. J'espère au moins que ce mémoire y contribuera en partie

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE

A la plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans. A une personne qui m'a tout donné sans compter.

Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur ; l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour toi. Sans toi, je ne suis rien, mais grâce à toi je deviens médecin. J'implore Dieu qu'il te procure santé et qu'il m'aide à te compenser tous les malheurs passés.

Pour que plus jamais le chagrin ne pénètre ton cœur, car j'aurais encore besoin de ton amour. Je te dédie ce travail qui grâce à toi a pu voir le jour. Je te dédie à mon tour cette thèse qui concrétise ton rêve le plus cher et qui n'est que le fruit de tes conseils et de tes encouragements. Tu n'a pas cessé de me soutenir et de m'encourager, ton amour, ta générosité exemplaire et ta présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Tes prières ont été pour moi un grand soutien tout au long de mes études. J'espère que tu trouveras dans ce modeste travail un témoignage de ma gratitude, ma profonde affection et mon profond respect. Puisse Dieu tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie, santé et bonheur afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois. Je t'aime maman.

A Mon CHÈRE MARI

Aussi pur que la neige claire

Aussi clément qu'une mère

Ton amour est un don du dieu. Aucune dédicace, aussi expressive qu'elle soit, ne saurait exprimer la profondeur de mes sentiments et l'estime que j'ai pour toi. Dans tes yeux, j'ai toujours pu lire de la tendresse, tu m'as toujours soutenu, compris et réconforté tu es et resteras toujours ma source d'inspiration.

Merci pour ta tendresse, ton attention, ta patience et tes encouragements; Merci pour tout. Puisse Dieu nous préserver du mal, nous combler de santé, de bonheur et nous procurer une longue vie pour le service de Dieu.

A

mon cher frère et ma chère sœur : TAHA ET HAJAR

*Entre nous les mots n'ont pas leur place. Je souhaite simplement que Dieu nous
accorde*

*longue vie et une bonne santé pour que nous puissions cheminer ensemble sur la
route*

*du destin avec amour, respect mutuel, solidarité comme nous l'ont enseigné nos
parents.*

*je vous dédie ce travail, pour tous les moments de joie et de taquinerie qu'on a pu
partager ensemble. Puisse DIEU, le tout puissant, vous préserver du mal, vous
comblee de santé et de bonheur.*

A

MON FUTUR ENFANT

*jete remercie d'avoir été gentil et patient durant mes nuits d'études. Ta
présence me tenait compagnie, chacun de tes petits mouvements
m'apportait joie et bonheur.*

*Dans quelques jours, Inchaallah, tu seras parmi nous .Puisse Dieu te
protéger, te procurer santé et longue vie.*

A mes beaux-parents

Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous.

*Vous avez fait de votre fils un époux parfait et exemplaire. Je suis en
paix grâce à l'éducation qu'il a reçue de vous.*

*Je prie Dieu le tout puissant de vous accorder santé, bonheur et longue
vie.*

A

mes beaux-frères et sœurs

*Merci de m'avoir accueillir parmi vous. Puisse ce travail témoigner de
ma profonde affection et de ma sincère estime.*

A

ma deuxième sœur Hanane El Hammaoui .

*Aucune dédicace, aussi expressive qu'elle soit, ne saurait exprimer la
profondeur de mes sentiments et l'estime que j'ai pour toi.
Tu m'as toujours soutenu, compris et réconforté tu es et restera toujours
ma meilleure amie.*

*Merci pour, ton attention, ta patience et tes encouragements
Puisse Dieu te préserver du mal, te combler de santé, de bonheur et te
procurer une longue vie pour le service de Dieu
Toute mon affection pour ton admirable famille, que je remercie
beaucoup*

A

LA MEMOIRE DE MES GRANDS PARENTS

*J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes dans sa
sainte miséricorde*

A

mes tantes et oncles, cousins et cousines

*Que ce travail traduise toute mon affection et mes souhaits de bonheur, de
santé et de longue vie. Que dieu vous garde et vous préserve*

A

la famille BOUKLOU

*Que ce travail soit le symbole de ce que je ressens envers vous. Que dieu
vous bénisse et vous accorde longue vie pleine de joie et de réussite.*

*À
MES très chers Amis*

*Je ne peux vous citer toutes, car les pages ne le permettraient pas, et je ne
peux vous mettre en ordre, car vous m'êtes toutes chères.....*

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables
que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail
l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus
sincère.*

*À
ma famille adoptive*

Celle des médecins internes

A.M.I.M.A

À laquelle j'y crois beaucoup

*C'est une grande fierté pour moi d'être parmi vous. Et je vous remercie
pour la confiance dont vous m'avez fait part.*

*À tous mes enseignants du primaire, secondaire et de la
faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech.*

*À toute l'équipe Médicale et paramédicale du Service de
parasitologie, Pédiatrie et de Radiologie*

À tous les médecins dignes de ce nom.

*À tous ceux dont l'oubli du nom n'est guère celui du
cœur.*



REMERCIEMENTS



**Maître et président de Jury Monsieur M. CHAKOUR, Professeur
d'Hématologie à l'hôpital Militaire Avicenne, Marrakech**

*Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant la présidence du jury
de notre thèse.*

*C'est pour moi l'occasion de vous témoigner ma profonde reconnaissance pour vos
qualités professionnelles et humaines.*

Veillez accepter, cher maître, l'assurance de mon estime et mon profond respect.

A

**notre Maître et rapporteur de thèse Mr R. MOUTAJ, Professeur de
Parasitologie Mycologie à l'hôpital Militaire Avicenne, Marrakech.**

*Je vous remercie, cher Maître, de la bienveillance que vous m'avez
réservé en m'accordant ce travail. Vous n'avez jamais hésité à me
réserver une large part de votre temps précieux pour me diriger et me
conseiller dans l'élaboration de ce travail.*

*Ma reconnaissance n'a d'égal que mon admiration pour vos qualités
intellectuelles et humaines. Je vous prie, cher maître, de recevoir mes
remerciements renouvelés ainsi que l'assurance de ma très haute et mon
profond respect*

A

**notre Maître et juge de thèse, Mr H. QACIF, Professeur agrégé de
Médecine interne à l'hôpital Militaire Avicenne, Marrakech.**

*Votre présence au sein de notre jury constitue pour moi un grand
honneur. Par votre modestie, votre gentillesse, votre disponibilité pour
tout conseil ou avis,*

*Qu'il me soit permis de vous présenter à travers ce travail
le témoignage de mon grand respect et l'expression de ma profonde
reconnaissance*

A

notre Maitre et juge de thèse, Professeur A. BOUKHIRA. Professeur de Biochimie à l'hôpital Militaire Avicenne, Marrakech.

Nous vous remercions de nous avoir honorés par votre présence. Cet honneur nous touche infiniment et nous tenons à vous exprimer notre profonde reconnaissance.

Nous vous exprimons notre grande admiration pour vos hautes qualités morales, humaines et professionnelles.


Veillez accepter, cher maître, dans ce travail l'assurance de notre estime et notre profond respect.


A

notre Maitre et juge de thèse, Mme A. BOURREHOUI, Professeur agrégée de Pédiatrie au CHU Mohammed VI


Nous sommes particulièrement reconnaissants pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail.


Notre gratitude est grande pour l'intérêt que vous lui avez porté. Veillez trouvé dans cet ouvrage le témoignage de notre profonde reconnaissance et respect





ABBREVIATIONS

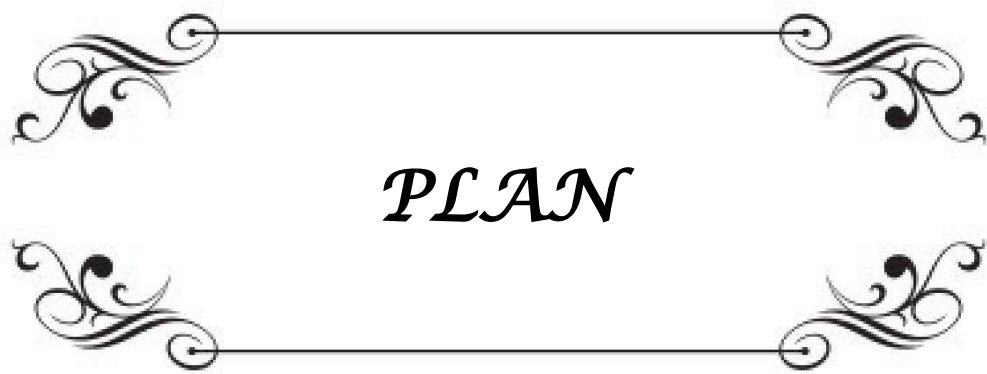




Liste des abreviation

ADP	: Adénopathie
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AEG	: Altération de l'état général
AMG	: Amaigrissement
AmB	:L'amphotéricine B
AMM	:Autorisation de mise au marché
ATB	: Antibiotique
ATP	: Adénosine triphosphate
CHU	: Centre Hospitalier universitaire
CRP	: Proteine C réactive
DPA	:Dérivés pentavalents de l'antimoine
ED	: Examen direct
EMC	:Encyclopédie Médicochirurgicale
DAT	: Direct Agglutination Test
HPM	: Hépatomégalie
HAI	: Hémagglutination indirecte
HMA	: Hôpital Militaire Avicenne
IFI	: Immuno fluorescence indirecte
Ig	: Immunoglobuline
IM	: Intramusculaire
IV	: Intraveineuse
LCC	: Leucocyto-concentration
LVI	: Leishmaniose viscérale infantile
LVA	: Leishmaniose viscérale anthroponotique

LVZ : Leishmaniose viscérale zoonotique
NFS : Numération Formule sanguine
OMS : Organisation mondiale de la santé
PCR : Polymérase Chaîne Reaction
Pq : Plaquettes
Sbv :Antimoine Pentavalent
SPM : Splénomégalie
TDR : Test de diagnostic rapide
VIH : Virus d'immunodéficience humaine
VS : Vitesse de sédimentation
WB : Western-blot



PLAN

INTRODUCTION.....	1
Matériels et méthodes.....	4
I. Patients.....	5
II. Matériels :.....	5
1. Dossiers médicaux	5
2. Registre du service de parasitologie	5
3. Equipements	5
III. Méthodes	6
1. Diagnostic direct :	6
2. Diagnostic indirect :	8
RÉSULTATS	18
I. Profil de la population d'étude.....	19
1. Répartition de la population selon les données démographiques.....	19
2. Symptomatologie Clinique.....	20
II. Méthodologie diagnostique.....	22
1. Bilan de présomption:.....	22
2. Diagnostic parasitologique :.....	26
III. Modalités thérapeutique.....	31
1. Traitement Spécifique :.....	31
2. La surveillance :.....	31
IV. L'évolution	31
DISCUSSION.....	32
I. Généralités	33
II. Epidémiologie.....	33
1. La Fréquence de la Leishmaniose viscérale.....	33
2. L'Age.....	38
3. Sexe	38
4. Origine géographique	39

III. Symptomatologie clinique.....	41
IV. Démarche diagnostique.....	43
1. Diagnostic de présomption.....	43
2. Le diagnostic de certitude	47
3. Le diagnostic parasitologique indirect.....	51
4. Evaluation des performances des méthodes adoptées dans l'étude :.....	58
5. Conduite à tenir pour le diagnostic biologique de la LV.....	60
VI. Modalités thérapeutiques et évolutives	61
1. Le traitement spécifique	61
2. Evolution.....	61
CONCLUSION	64
RÉSUMÉ.....	66
ANNEXES.....	73
BIBLIOGRAPHIE.....	93



INTRODUCTION

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

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

Les leishmanioses sont endémiques dans les zones tropicales et subtropicales de 88 pays et quatre continents : Afrique du nord et de l'est, Amérique centrale et du Sud, Asie du sud et Europe du sud.

Au total, 370 millions de personnes sont exposées au risque de la maladie dont 12 millions sont atteintes, on compte 500 000 nouveaux cas par an de leishmaniose viscérale, et 1 000 000 à 1 500 000 nouveaux cas par an pour la leishmaniose cutanée [2]. Un tiers seulement des nouveaux cas étant officiellement déclarés [1].

Au Maroc, La Leishmaniose viscérale infantile constitue un problème de santé public. Elle est classée, depuis 1995, parmi les maladies à déclaration obligatoire. A fin d'éradiquer cette pathologie, un programme de lutte a été établi.

Dans sa forme typique, la leishmaniose viscérale infantile est de diagnostic facile devant la triade classique : anémie, fièvre anarchique et splénomégalie. Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence de corps leishmanies sur le frottis du sang médullaire, ou la recherche de traces immunologiques par les sérologies dont les techniques ne cessent de se développer. Les méthodes génomiques en pleine essor et dotées d'une grande performance, offrent des possibilités de diagnostic et aussi d'identification des espèces Leishmaniennes.

L'évolution spontanée est fatale, alors qu'avec un traitement précoce et bien mené, habituellement, la guérison est obtenue en quelques jours.

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

La tendance actuelle à l'augmentation de la fréquence de la maladie, la constatation des formes de plus en plus atypiques et graves, la résistance au traitement par les dérivés de l'antimoine, et la fréquence des cas de rechutes ,font de la leishmaniose viscérale infantile, un sujet d'actualité, méritant une attention toute particulière, qu'il convient de rappeler.

L'objectif de la présente étude est de discuter l'apport des différents moyens de diagnostic biologique de la leishmaniose viscérale infantile avec mise au point sur les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, paracliniques, thérapeutiques et évolutives de cette parasitose.



Matériels et Méthodes

I. Patients :

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive intéressant les dossiers des enfants hospitalisés pour suspicion de leishmaniose viscérale, au sein du service de pédiatrie au CHU Mohamed VI de Marrakech et chez qui la confirmation du diagnostic a été faite au service de parasitologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech, entre Janvier 2010 et septembre 2016.

II. Matériels :

1. Dossiers médicaux :

Les données ont été recueillies à partir des dossiers des patients à l'aide d'une fiche d'exploitation (Annexe1).

2. Registre du service de parasitologie :

Utilisé pour recueillir les résultats des examens parasitologiques demandés, à fin de confirmer le diagnostic.

3. Equipements :

- ✚ Microscope optique
- ✚ Microscope à fluorescence
- ✚ Automate pour ELISA

III. Méthodes :

Une fiche d'exploitation, (Annexe1), est réalisée pour recueillir les données, épidémiologiques, cliniques, para cliniques, thérapeutiques et évolutives de la maladie.

1. Diagnostic direct :

Le prélèvement de moelle est obtenu par une ponction de la crête iliaque le plus souvent, la ponction sternale est exceptionnellement pratiquée chez l'enfant.

Le prélèvement est reçu au laboratoire, étalé sur des lames en frottis mince, puis fixé et coloré au May-Grunwald Giemsa (MGG) ou par des kits de coloration rapide tels que Kit RAL 555®.

Coloration au Giemsa :

a) Fixation :

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

b) Coloration :

Parallèlement à la fixation, on procède à la dilution du Giemsa au 1/10ème et cette dernière doit être précédée par une simple filtration de ce colorant.

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

c) Lavage et séchage :

Après l'achèvement du temps de coloration, le Giemsa doit être chassé par un faible jet d'eau, puis on passe au séchage des lames à l'air libre. (Photos 1,2)

La lecture au microscope se fait à l'immersion x 1 000.

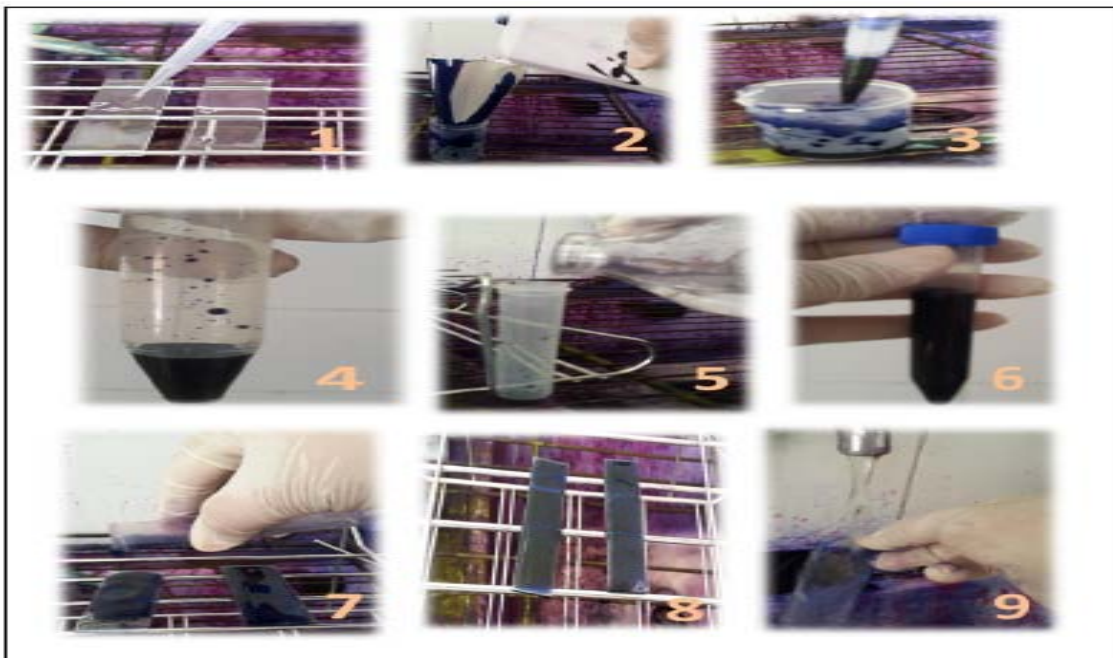


Figure1 : Les étapes de coloration des frottis par le May-Grunwald Giemsa (MGG).



Figure 2 : Kit de coloration RAL555 ®.

2. Diagnostic Indirect :

2.1 ELISA :

Principe :

La détermination immuno-enzymatique qualitative et quantitative des anticorps contre l'*leishmania infantum* est basée sur la technique d'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

Des puits dans les bandes de la plaque microtitre sont recouverts d'antigènes de *leishmania infantum* pour attacher les anticorps correspondants du spécimen.

Après le lavage des puits ayant pour but d'enlever l'échantillon détaché, la protéine 'A' conjuguée est ajoutée.

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 Tetramethylbenzidine (TMB) qui donne un produit de réaction bleu.

L'intensité de ce produit est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques pour l'*leishmania infantum* dans le spécimen.

De l'acide sulfurique est ajouté pour arrêter la réaction. Ceci produit une couleur jaune.

L'absorbance à 450 nm est lue en utilisant un lecteur plaque microtitre (microwell plate reader) d'ELISA.

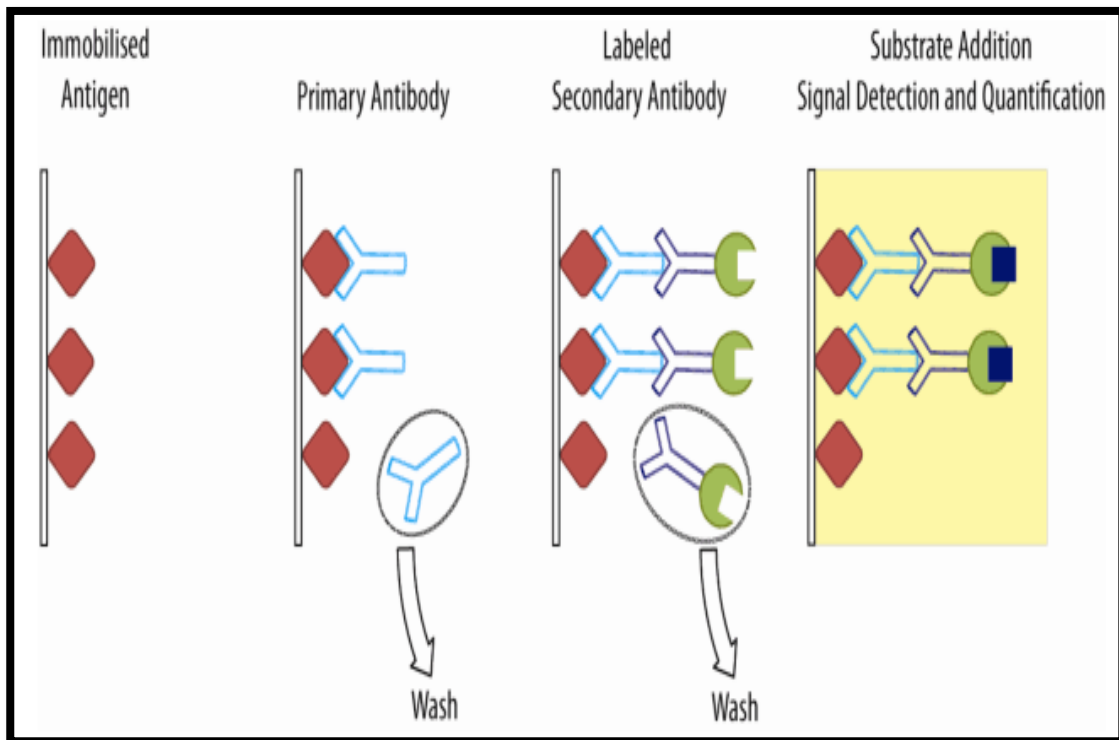


Figure 3 : Principe de la technique ELISA.

2.2 Immunofluorescence indirecte (IFI) :

- **Principe :**

Il consiste à mettre en présence un antigène figuré avec des dilutions successives de sérum. La fixation des anticorps spécifiques sur l'antigène figuré correspondant forme le complexe antigène -anticorps révélé par l'adjonction d'anti-immunoglobuline marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine.

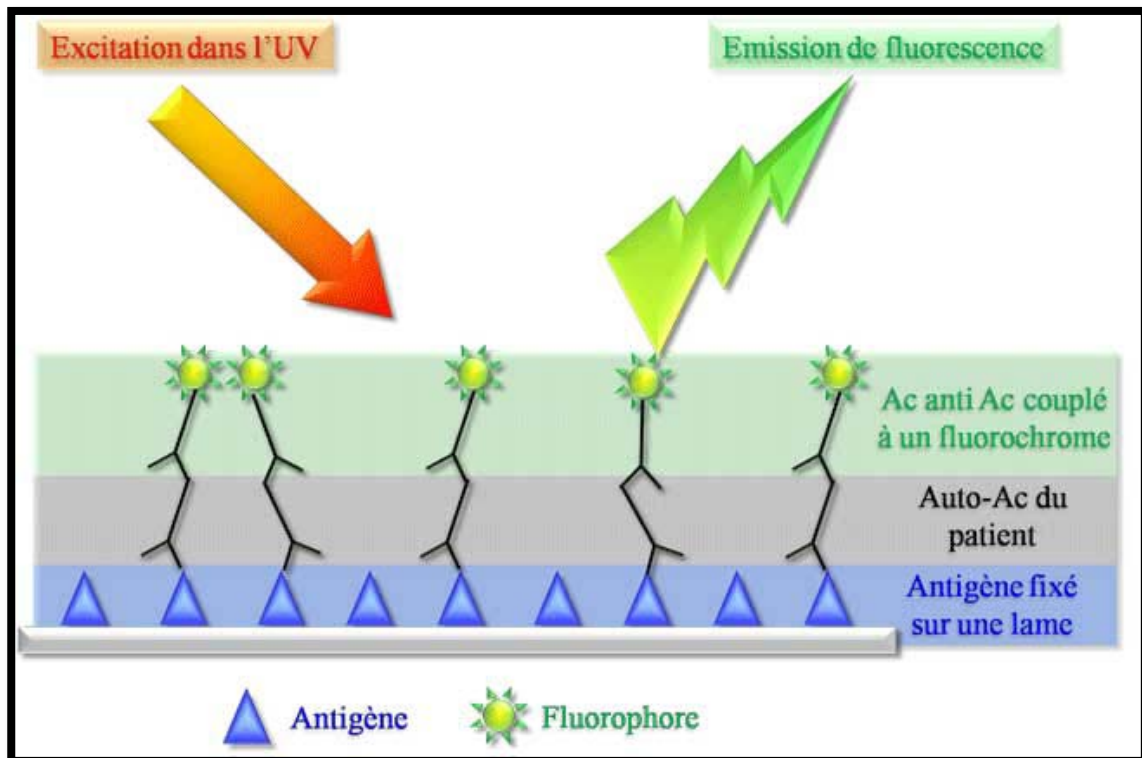


Figure 4 : Principe de la technique d'immunofluorescence indirecte.

• **Mode opératoire :**

- Les lames sorties du congélateur sont séchées sous ventilation puis fixées dans un bain d'acétone pendant 10min.
- On effectue des dilutions de sérum dans du tampon PBS pH 7,2 dans des tubes de khan au 1/20, 1/40 et 1/80. Si c'est positif, on poursuit les dilutions.
- On dépose une goutte de chaque dilution par spot et on incube en chambre humide à 37°C pendant 30 min.
- Deux lavages en tampon phosphate de 5 min chacun sont effectués.
- On ajoute une goutte par spot d'anti-immunoglobuline marquée diluée au 1/30 dans du PBS pH7,2 et on incube en chambre humide à 37°C pendant 30 min.
- Deux lavages en tampon phosphate de 5 min chacun.
- Enfin la contre coloration au bleu d'Evans au 1/10.000, 30 min à 37°C en chambre humide.

- Les deux derniers lavages sont suivis par le montage avec de la glycérine tamponnée (9 volume de glycérine et un volume de tampon PBS pH 7,2). On recouvre d'une lamelle et on fait la lecture au microscope à ultra-violet.
- **Lecture :**
 - Une réaction positive s'exprime par un liseré vert fluorescent autour de toute la forme promastigote, flagelle compris. Une fluorescence limitée au noyau correspond soit à une réaction croisée dans le cadre d'une connectivité soit à un portage asymptomatique lié à la présence d'anticorps anti 14 et/ou 18 Kd en immunoempreinte. Il y a des interférences sérologiques (faux positif) chez les sujets atteints de paludisme ou de trypanosomose .
 - Une réaction négative, la leishmanie est rouge. Chaque série de malade est traitée en parallèle avec un témoin positif, un témoin négatif et un témoin réactif.

2.3 Test de diagnostic rapide : IT LEISH

- **Principe:**

IT LEISH est un test de diagnostic rapide (TDR) , immuno-chromatographique de référence, utilisant l'antigène rK39 pour conférer une grande spécificité et une sensibilité élevée de détection.

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

- **Les composants :**

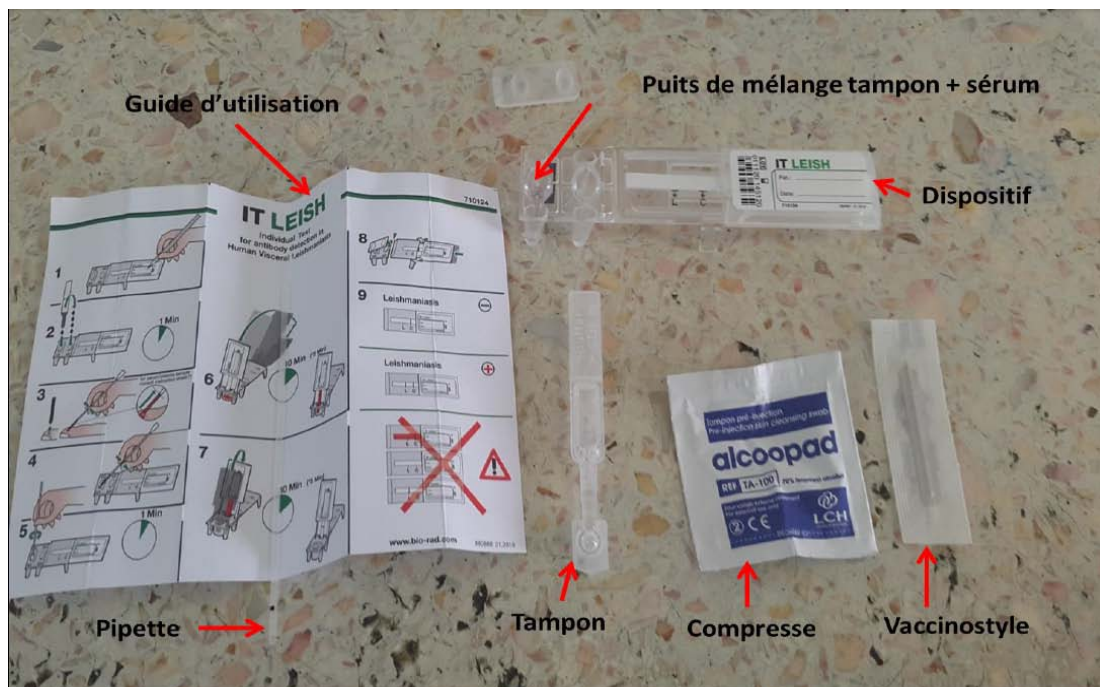


Figure 5 : Les composants du test IT LEISH.

- **Protocole :**

- 1) Faire centrifuger le sang total du malade à 4000 T/min pendant 05 min.
- 2) Ecrire sur le dispositif le nom et le prénom du malade et aussi la date du prélèvement.
- 3) Mettre une goutte de tampon dans le 1^{er} puits conjugué avec l'antigène rK39 (a) et quatre goutte sur l'autre puits et laisser le pendant 1 min (b).
- 4) Prélever à l'aide de pipette par capillarité le sérum jusqu'au trait noir (sur la pipette).
- 5) Déposer le sur le 1^{er} puits et agiter avec la pipette pendant 1 min.
- 6) Mettre la bandelette du test sur le puits de sérum pendant 10 min .
- 7) Après que la bandelette absorbe tout le sérum, déplacer la bandelette sur le 2^{ème} puits pour qu'elle absorbe aussi le tampon seul et laisser pendant 10 min.
- 8) Lecture de bandelette : (photo5)

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

- le test est positif, si on trouve deux traits L (leishmaniose) et C (contrôle).
- le test est négatif, si on trouve que le trait C de contrôle.

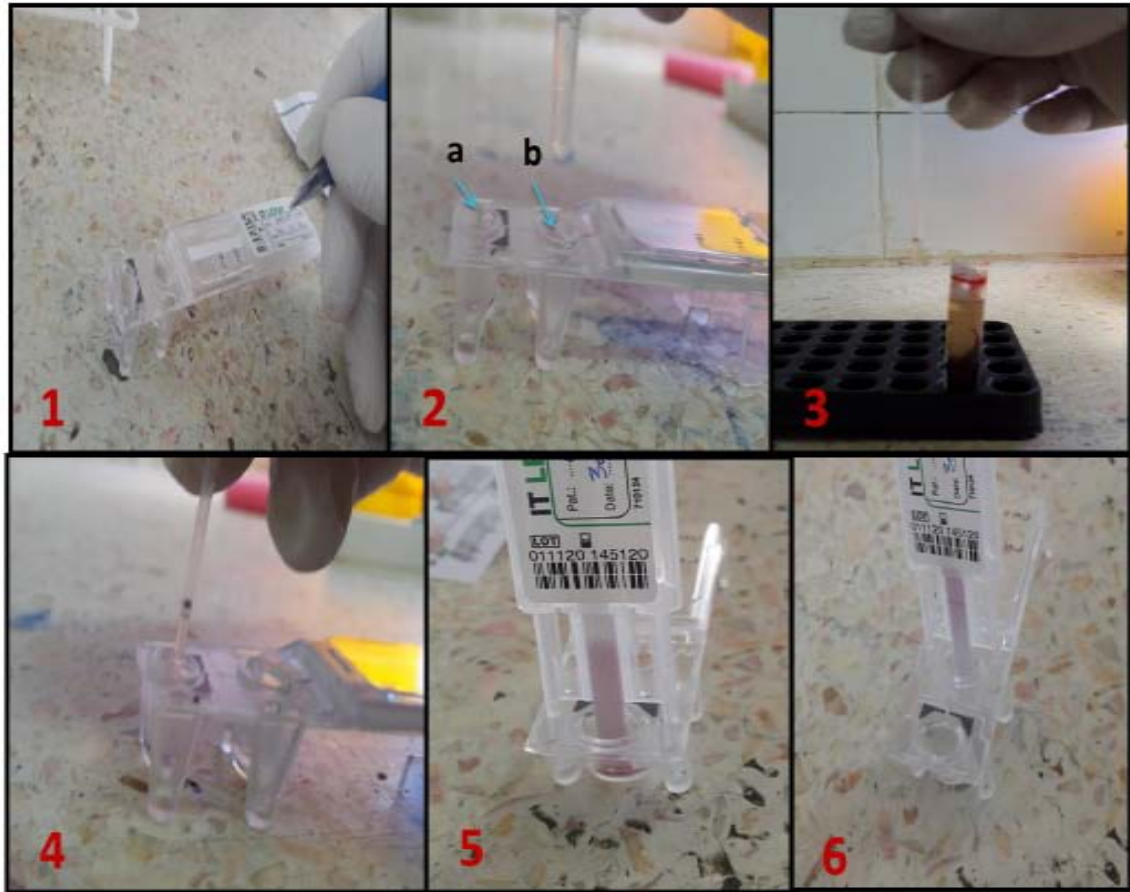


Figure 6 :Les étapes de la sérologie leishmanienne par le test IT LEISH.



Figure 7 : Les résultats de la sérologie leishmanienne (-) et (+) par le test IT LEISH

2.4 Immunempreinte ou Western-Blot :

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

- **Principe :**

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

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

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

✚ Les différentes étapes de cette technique sont :

- Electrophorèse des protéines antigéniques des formes promastigotes de *Leishmania* en gel d'acrylamide, et on laisse migrer pendant 1 heure 30min.

- Transfert électrique du profil protéique obtenu sur un support solide, la membrane de nitrocellulose.

✚ Au laboratoire :

-Mise en contact de la membrane avec les sérums à tester, dilués au 1/10ème ainsi que les sérums témoins positif et négatif.

- Incuber 30 min sur un agitateur à bascule à température ambiante.

- Elimination des anticorps non spécifiques par lavage avec du tampon TBS TritonX100 et marquage du complexe Ag-Ac avec des anticorps anti globuline marqués à la phosphatase alcaline.

- Incuber 1 heure 30min sous agitation.

- Lavage en tampon phosphate concentré.

- Révélation avec un substrat spécifique de l'enzyme pendant 5 à 10 mn sur agitateur, à l'obscurité puis arrêt de la réaction par un rinçage à l'eau.

✚ La lecture :

Consiste en une comparaison entre la bandelette test et les bandelettes témoins et un marqueur de taille.

Tout l'intérêt de cette technique réside dans la mise en évidence des anticorps spécifiques d'antigène de *Leishmania*.

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

Les antigènes recherchés sont ceux pour lesquels il n'existe pas de réactions croisées connues, dont les plus importants sont ceux correspondant aux poids moléculaires suivant :

14-16 KDa, 30-46 KDa et la 90 KDa qui se révèlent immunogènes et spécifiques, notamment ceux de 16 et 14 KDa dont leur présence seule suffit pour poser le diagnostic

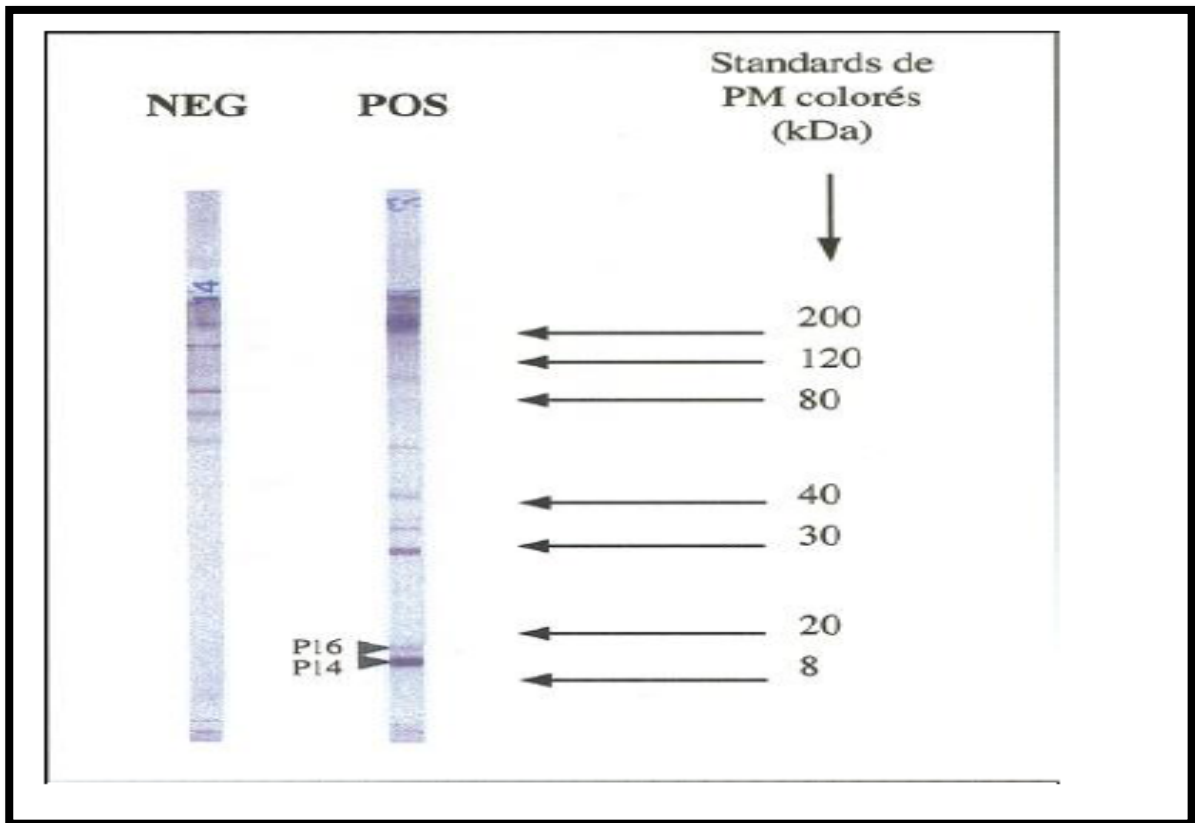


Figure 8 : Résultats du diagnostic de leishmaniose par le western blot.

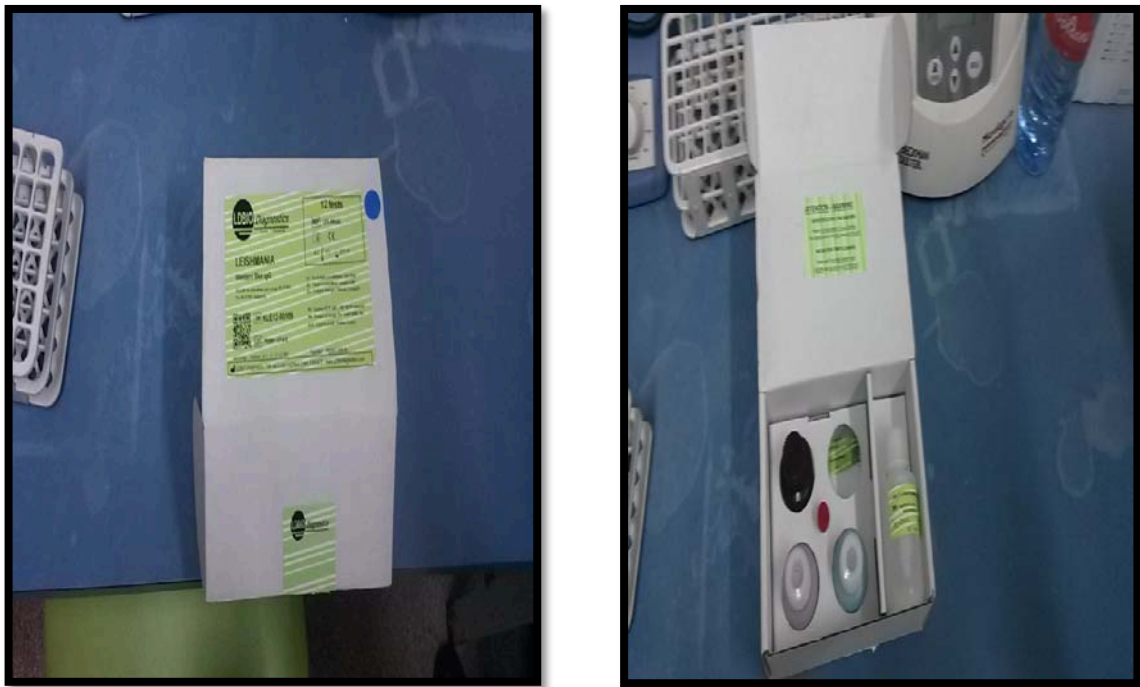


Figure 9 : KIT de la sérologie western blot (WB) .

A decorative rectangular frame with ornate, symmetrical scrollwork at each corner. The word "RESULTATS" is centered within the frame in a bold, italicized, serif font.

RESULTATS

I. Profil de la population d'étude :

1. Répartition de la population selon les données démographiques :

1.1 Age :

- Le nourrisson et le petit enfant sont les plus touchés par la maladie.
- En effet la tranche d'âge entre 6 mois et 2 ans constitue 61.7% du total des cas, celle entre 2-4 ans en représente 23.45%.
- L'âge moyen de nos patients est de 2,5 ans avec des extrêmes de 6 mois à 15 ans

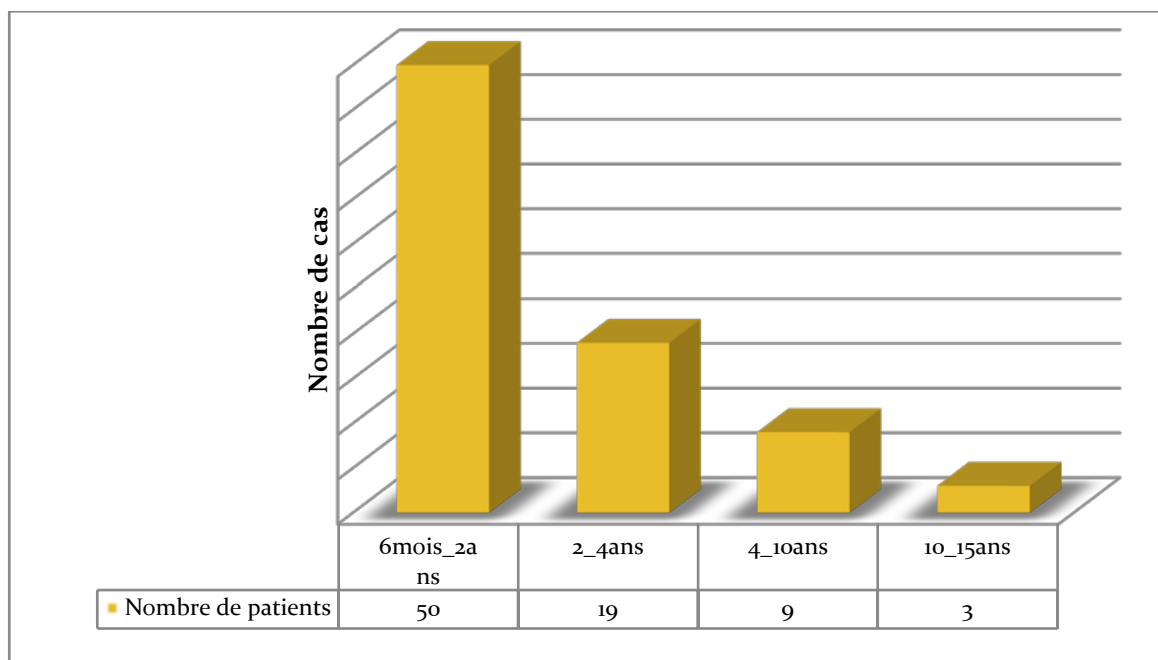


Figure 10 : Répartition des patients selon l'âge.

1.2 Sexe :

- Parmi les 81 cas de leishmaniose viscérale infantile étudiés, on a enregistré 34 filles et 47 garçons.
- Le sex-ratio est de 1,38 et on note alors une nette prédominance masculine.

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

1.3 Origine géographique :

- la majorité de nos patients provenaient de la région de Marrakech –Safi avec un taux de 48,46% du total des patients (Selon le nouveau découpage administratif marocain).
- 35,43% des cas provenaient de la région de Draa Tafilalt : Zagora (20.98%) et Ouarzazat (14,81%) ; alors que 9,05% étaient de la région de Béni Mellal Khénifra, et 7,06% de la région de Souss massa.

Tableau I : Répartition des malades selon leurs provenances

Région	Province /Préfecture	Nombre de cas	Pourcentage des cas	
Marrakech Safi	Marrakech	15	18,51%	48,46%
	Safi	4	4.93%	
	Essaouira	5	6.17%	
	Youssoufia	4	4,93%	
	Chichawa	4	4,93%	
	El Kelaa	7	8,64%	
Draa Tafilalt	Zagora	17	20.98%	35,43%
	Ouarzazat	12	14,81%	
Beni Mellal Khénifra	Béni Mellal	3	3.70%	9,05%
	Azilal	2	2.46%	
	Demnat	2	2.46%	
Souss Massa	Agadir	6	8.46%	7.06%

2. Symptomatologie clinique :

- **Motif de consultation**

Des signes généraux de la maladie ont été rapportés chez la plupart des patients, en particulier la fièvre chez 97,5% des cas. Elle représentait le motif de consultation le plus fréquent suivie de la pâleur (95,06 %des cas) et la distension abdominale (83,95%)

- Examen clinique à l'admission :

La triade classique (fièvre, pâleur et splénomégalie) est retrouvée chez 92,98% des cas.

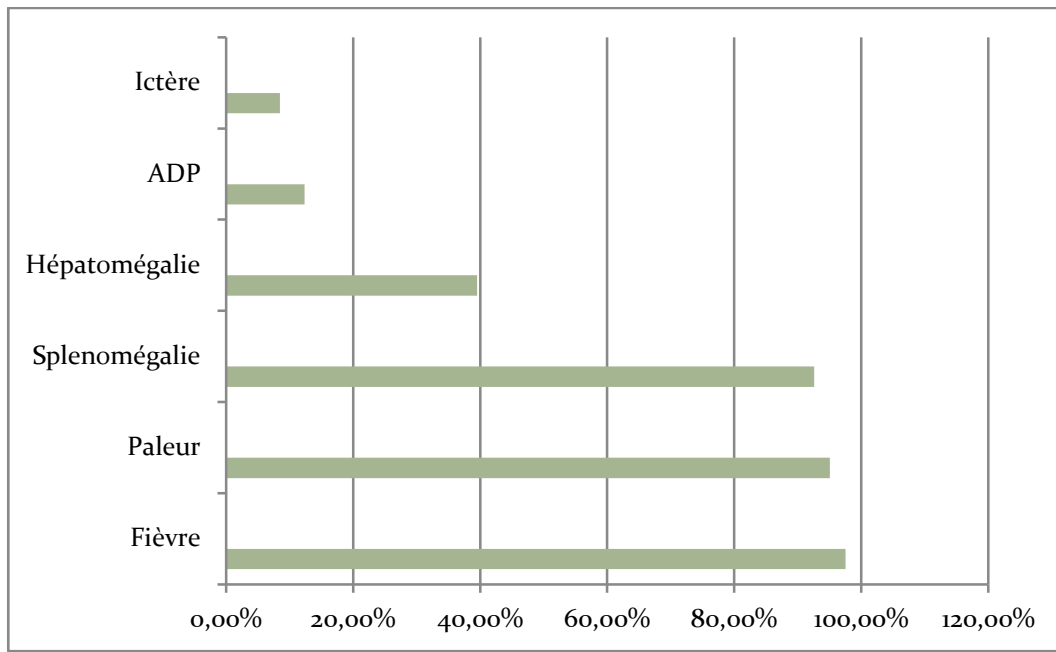


Figure 11 : Signes cliniques retrouvés chez nos patients.

II. Méthodologie diagnostic :

1. Bilan de présomption :

1.1 Hémogramme:

On constate que l'anémie était retrouvée chez tous les enfants, suivie par ordre de fréquence par la thrombopénie 95, 78 % et la leucopénie 55.85%.

Tableau II : les anomalies de l'hémogramme chez nos patients.

NFS	Nombre de cas	Pourcentage
Anémie	81	100%
Thrombopénie	77	95,78%
Leucopénie	45	55,85%

- Une pancytopénie a été retrouvée chez 60 patients soit 74,07% des cas .
- Une bicytopenie a été constatée chez 19 patients soit 23,45% des cas
- Une anémie associée à une thrombopénie chez 16 cas
- Une anémie et une leucopénie chez 3 cas.
- 2 cas ont présenté seulement une anémie soit 2.46 %.

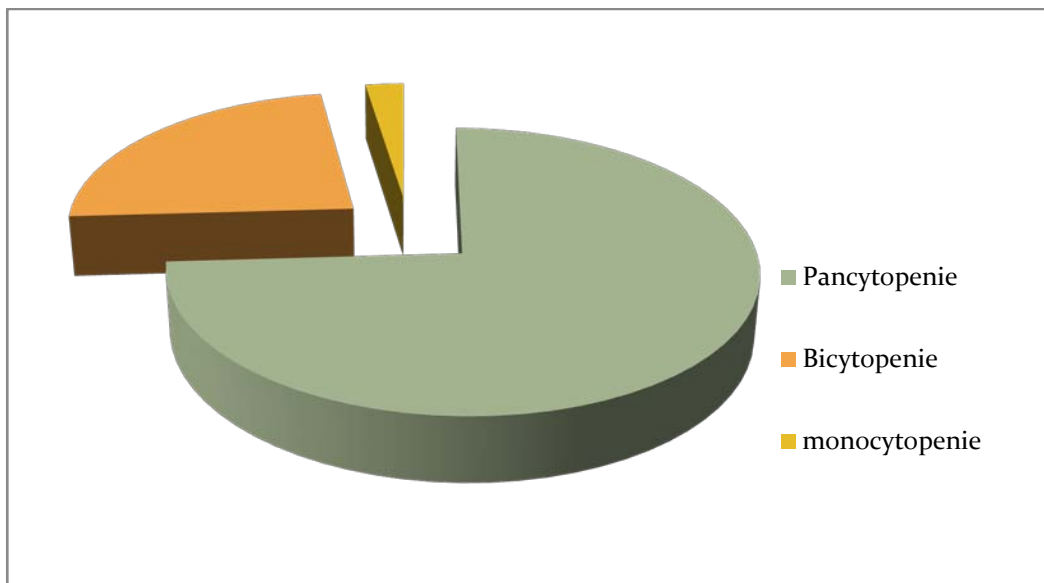


Figure 12 : Anomalies de l'hémogramme.

1.1-1 Anémie :

- L'anémie est présente chez tous nos malades, elle est normochrome normocytaire dans 57,32% des cas, hypochrome microcytaire dans 42,68% des cas, avec un taux variable :
 - ✓ 24 enfants ont présenté une anémie profonde avec un taux d'Hémoglobine inférieur à 5 g/dl.
 - ✓ 50 patients ont eu un taux d'hémoglobine compris entre 5 et 8g/dl.
 - ✓ 7 malades ont eu un taux d'Hémoglobine supérieur à 8 g/dl mais toujours inférieur à la valeur normale.

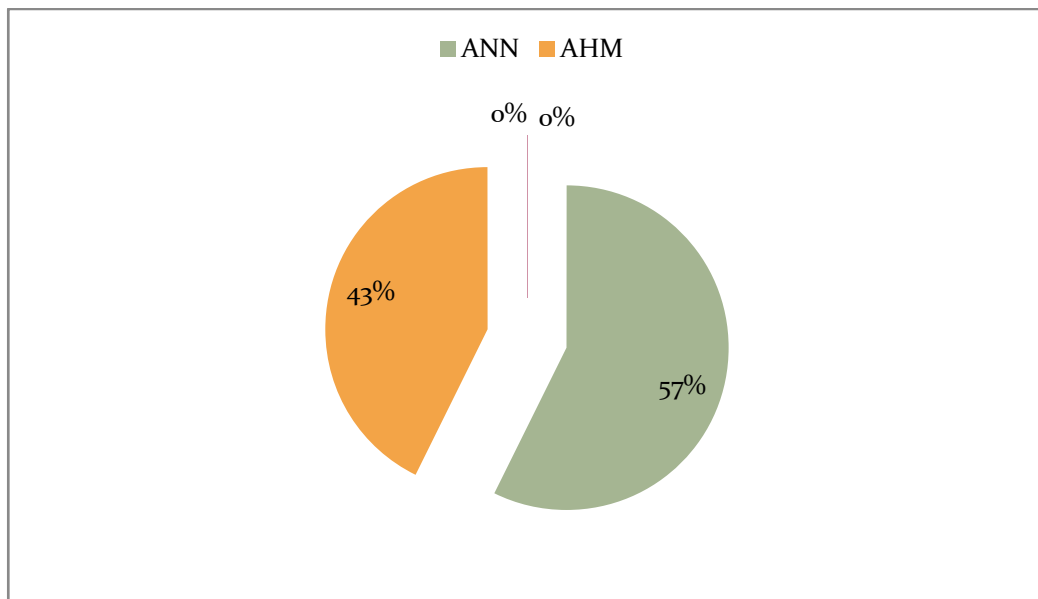


Figure 13 : Anémie chez nos malades.

1.1-2 thrombopénie :

- 96,29% des cas ont présenté une thrombopénie avec un taux variable :
 - 32 cas de thrombopénie sévère avec un taux de plaquettes inférieur à 50000 Eléments/mm³, soit 40,32% des cas.
 - 49 cas de thrombopénie avec un taux de plaquettes compris entre 50000 et 150000/mm³, soit 59,68 %des cas .

Tableau III: Répartition des cas selon le taux de plaquettes

Taux de plaquettes	Nombre de cas
Inferieur à 50000	32
Entre 50000 et150000	49

1.1-3 la leucopénie :

Dans notre série :

- Un taux de Globules blancs bas est retrouvé chez 62,45% des cas.
- Une Leucopénie modérée avec un taux de GB compris entre 1500 et 4000/mm³ est notée chez 44 cas.
- Une Leucopénie sévère avec des GB inférieurs à 1500 /mm³ est retrouvée chez 6 malades.
- La neutropénie était notée chez 71 patients soit 87,65% des cas. (Certains de ces malades avaient une neutropénie avec un taux de globules blancs normal) :
- La lymphopénie était trouvée chez 9 malades soit 11,11% des cas .

Tableau IV : Taux de GB chez nos malades

Taux de GB	Nombre de cas
1500 < T <4000	44
1500 < T	6

1.2 les marqueurs de l'inflammation :

1.2-1 VS

- La VS a été pratiquée chez 75.48%de nos malades, avec 39.45% des cas où la valeur a dépassé 100mm à la première heure.

Le graphique suivant illustre les variations de la VS et sa fréquence chez les malades de notre série.

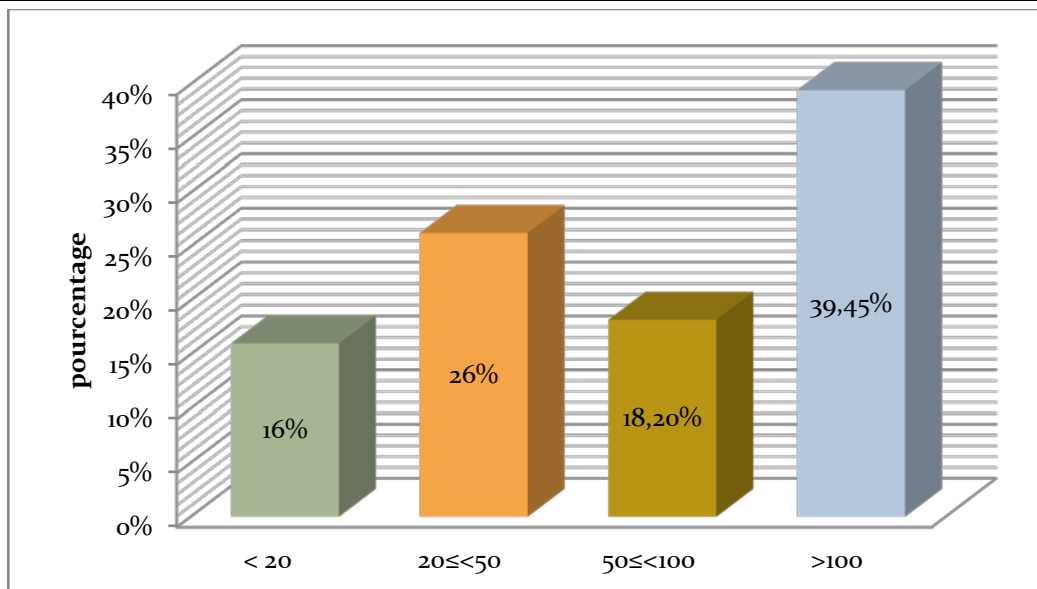


Figure 14 : Distribution des taux de la VS

1.2-2 CRP :

Dans les 75 cas où la CRP a été pratiquée, 85,96 % des résultats étaient positifs

Tableau V : Les résultats de la CRP observés dans nos dossiers.

CRP	Total des cas	Pourcentage (%)
Positive	66	88%
Négative	9	12%
Total	75	100

2. Diagnostic de certitude :

2.1 Résultats de la recherche directe du parasite :

- La lecture au microscope se fait à l'immersion x 1 000.
- Les formes amastigotes paraissent sous forme de petits corps arrondis ou ovalaires, présentant un cytoplasme clair, un noyau de couleur rouge pourpre et un kinétoplaste

punctiforme ou bacilliforme, pourpre plus foncé. Les corps peuvent être regroupés en amas ou dispersés dans le stroma.

- L'aspect typique du parasite intramacrophagique est rarement retrouvé en pratique.

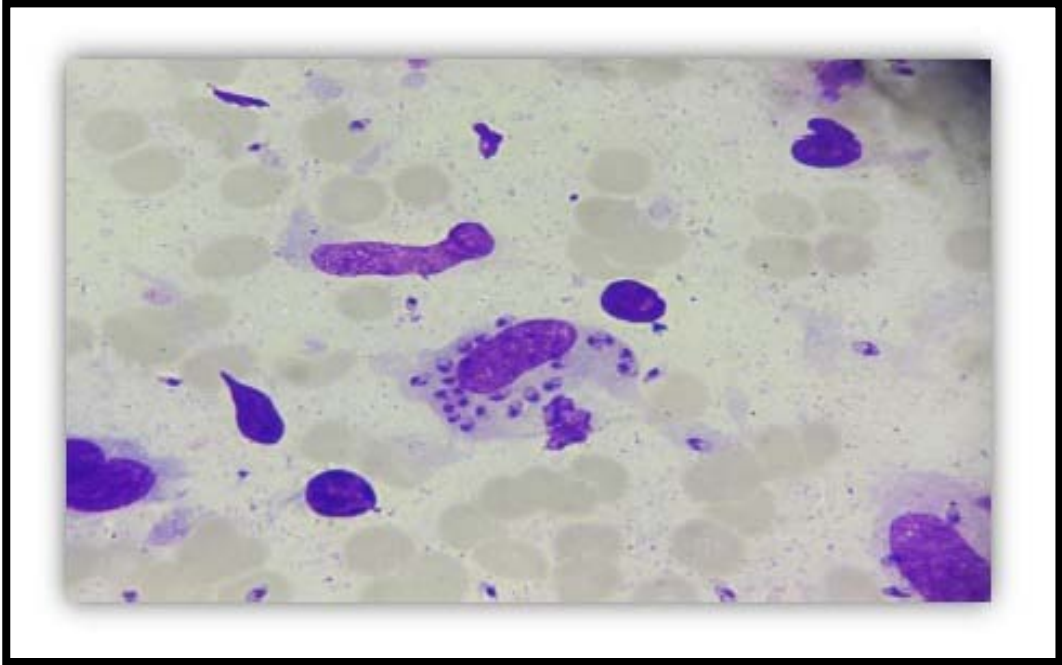


Figure 15 : Formes amastigotes extracellulaires et intramacrophagiques de *Leishmania infantum*

- La recherche parasitologique était pratiquée chez tous les patients de notre série.
- L'analyse microscopique des frottis médullaires a révélé des corps de leishmanies chez 62 cas, soit chez 76,54% des patients.
- L'examen était négatif chez 19 malades soit 23,45% des cas (tableauVI)

Tableau VI : Résultats la recherche parasitologique au niveau du sang médullaire chez nos patients.

Année	Nombre de cas	Frottis médullaire positif	Frottis médullaire négatif
2010	10	7	3
2011	5	5	0
2012	12	10	2
2013	15	14	1
2014	15	13	2
2015	9	6	3
2016	15	7	8

2.2 Résultats de la recherche indirecte du parasite :

Par faute de moyen, la sérologie ne se demandait que lorsque le myélogramme ne révélait pas de corps de leishmanies.

A partir de l'année 2015 on a essayé de faire bénéficier la majorité des malades chez qui on suspecte une LV du couple : Etude du frottis sanguin médullaire et sérologie, pour confirmer le diagnostic de LV et mener une étude comparative entres les différentes techniques sérologiques disponibles.

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

Le tableau en dessous illustre les résultats des sérologies réalisées chez nos patients :

Tableau VII : Résultats des sérologies réalisées chez nos patients.

Année	Sérologie ELISA		TDR IT -Leish		IFI		WB	
	<i>Nég</i>	<i>Pos</i>	<i>Nég</i>	<i>Pos</i>	<i>Nég</i>	<i>Pos</i>	<i>Nég</i>	<i>Pos</i>
2010		1				2		1
2011								
2012				1				1
2013		1				1		
2014		1				1		1
2015		2				1		1
2016	7	9	6	10				

2.3 Comparaison des performances des techniques :

Chez quelques enfants avec examen direct positif une comparaison des performances des techniques sérologiques a été faite comme le résume les tableaux (8,9) si dessous

Tableau VIII : Comparaison entre la technique d'ELISA et le test de diagnostic rapide chez des malades avec examen direct positif

Technique	Positive	Négative
ELISA	7	0
TDR	6	1

Tableau IX: Comparaison entre la technique d'ELISA et le test de diagnostic rapide chez un malade avec examen direct positif

Technique	Examen direct	ELISA	TDR
Résultat	+	+	-

III. Modalités thérapeutiques:

1. Traitement spécifique :

Nos malades ont été mis sous traitement à base de N-Méthylglucamine : GLUCANTIME® à raison d'une injection en intramusculaire profonde à la dose d'une moyenne de 60mg/Kg/J (20 mg SbV+/Kg /j) . La durée de traitement varie entre 21 et 28 jours.

Les Macrolides ont été utilisés chez 9 enfants, vu la non amélioration ou l'intolérance au N-Méthylglucamine, leur efficacité sur la leishmaniose cutanée et la non disponibilité d'autres traitements.

2. La surveillance:

Tous les malades ont été surveillés de façon rigoureuse, pour évaluer l'amélioration clinique et la tolérance au traitement.

3. L'Evolution :

La guérison était obtenue après la première cure de N-méthyl Glucamine chez 78,94% des patients, avec une apyrexie obtenue dans une durée moyenne de 8 jours et une régression des perturbations biologiques dans 1 à 2,5 mois.

Nous avons déploré 9 décès dans notre série.

A decorative rectangular frame with ornate, symmetrical scrollwork at each corner. The word "DISSCUSION" is centered within the frame in a bold, italicized, serif font.

DISSCUSION

I. Généralités : Annexe2

II. EPIDEMIOLOGIE :

1. La Fréquence de la Leishmaniose viscérale :

1.1. Dans le monde :

Les leishmanioses sont des maladies parasitaires à transmission vectorielle observées sur tous les continents, à l'exception de l'Amérique du Nord et de l'Australie.

D'après les données de l'Organisation mondiale de la santé, 350 millions de personnes, soit 6 % de la population mondiale, sont exposées à ce risque infectieux dans un total de 98 pays.

Il est estimé que près de 500 000 nouveaux cas de leishmanioses viscérales (LV) sont observés par an dans le monde dont 90% des cas sont recensés en Inde, Népal, Bangladesh, Soudan, Sud soudan, Brésil et Ethiopie [1].

L'espèce leishmanienne anthroponotique *Leishmania donovani* est localisée à la Chine, l'Inde et l'Afrique de l'Est, alors que l'espèce zoonotique *L. infantum* (à réservoir canin) s'étend de la Chine au Brésil. L'Inde est certainement le plus important foyer de LV dans le monde. Depuis le début du XXème siècle, la maladie s'y révélée sous forme d'épidémies meurtrières, apparaissant dans l'Etat d'Assam selon des cycles réguliers d'environ 15 ans. [2]

La leishmaniose viscérale se partage entre les deux mondes, elle est due au complexe *Leishmania* qui est composé de :

Dans l'ancien monde : *L. donovani* : en Asie et Afrique de l'Est responsable de la LV anthroponotique (LVA) avec l'homme comme seul réservoir. *L. infantum* : sur le pourtour du bassin méditerranéen responsable de la LV zoonotique (LVZ) ; ayant comme réservoir le chien.

Dans le nouveau monde : L.chagasi : en Amérique latine [1]

Selon les régions, ces parasitoses se rencontrent sous forme endémique (habituellement chronique), sporadique (frappe les étrangers en région endémique), ou épidémique (meurtrière souvent aigue ou subaiguë). L'allure épidémique est en relation étroite avec l'espèce du parasite, son aire de distribution et la structure du foyer en cause.

Les grands foyers historiques de Leishmaniose viscérale sont localisés d'est en ouest, en chine, Inde, Asie centrale, Afrique de l'Est, bassin méditerranéen et Brésil.

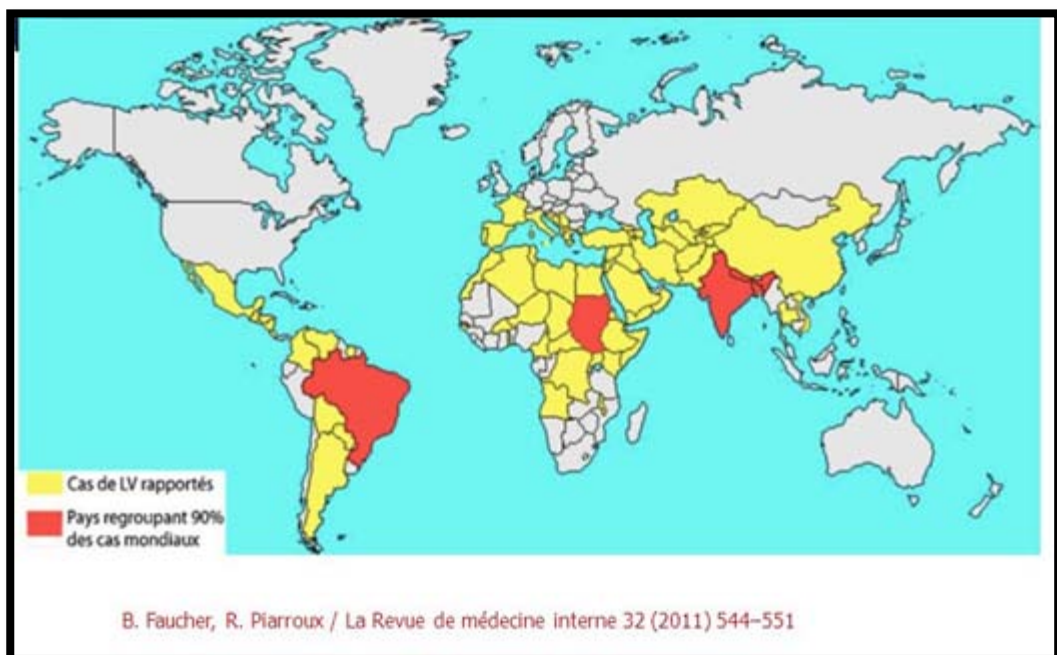


Figure 16 : Leishmaniose viscérale : Principaux foyers d'endémie

1.2. Dans le bassin méditerranéen :

La LV méditerranéenne est due à *L. Infantum*. Son cycle biologique est zoonotique avec un réservoir animal essentiellement canin [3].

L'incidence annuelle est estimée à 1200 à 2000 cas/an [1].

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

La LV est fréquente dans le Nord des trois pays du Maghreb (Maroc, Algérie, Tunisie) où elle atteint dans 95 % des cas des enfants de moins de cinq ans.

Sur la rive nord de la Méditerranée (Portugal, Espagne, France, Italie) et depuis le début des années 1980, la LV atteint l'adulte deux fois sur trois, souvent infecté par le VIH, transplanté d'organe ou recevant un traitement immunomodulateur [4].

La LV humaine évolue à bas bruit dans la majorité des pays du pourtour méditerranéen. En France par exemple, le centre national de référence pour les leishmanioses a rapporté 366 cas dont 268 étaient autochtones, sur une période de 14ans allant de 1999 à 2012 [5].

L'Italie, l'Espagne et l'Albanie rapportent plus de 100 cas par an [6].

La LV est en recrudescence en Tunisie également depuis le début des années 90 avec une incidence annuelle moyenne autour de 100 à 150 cas [7].

En Algérie,Entre 1995 et 2003, 1 654 cas ont été déclarés à l'Institutnational de santé publique algérien [8].

1.3. Au Maroc :

La LV est une maladie évoluant sous forme sporadique avec une distribution très éparpillée, endémique dans les zones subhumides au front nord du pays et s'étalant sur les régions de Tétouan, Chefchaouen, Ouezzane, Al Hoceima, Nador, Taounate, Taza, Fès et Meknès, mais elle touche fréquemment les régions centrales du pays(Agadir, Taфраout...) [3].

La LV au Maroc est vraisemblablement due à *L.infantum*, le réservoir de parasites est le chien et le vecteur le plus fortement soupçonné est *Phlebotomus longicuspis* [4]

Remlinger a rapporté la première observation de Kala-azar en 1913 et l'a publié en 1921, puis d'autres observations ont été rapportées à Meknès, Ouazzane, Rif et Erfoud.

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

En 1974, CADI SOUSSI, LAHRECH et BOURDILLON ont étudié la répartition géographique des deux formes cliniques de la leishmaniose. En 1991, AGOUMI et LAHRECH ont fait une analyse de la situation épidémiologique au Maroc sur un travail de 216 cas entre 1957 et 1989 et ils ont attiré l'attention sur le caractère extensif de la parasitose du Nord au Sud Marocain et l'atteinte inhabituelle de l'adulte et de l'enfant en bas âge [5,6].

L'année 1956 correspond aux dernières publications de cas isolés. Avant 1957, plusieurs auteurs dont BLANC et GAUD ont remarqué l'extrême rareté du Kala-azar au Maroc [7]

L'incidence annuelle a été de 30 cas jusqu'aux années 70. Actuellement elle atteint plus d'une centaine de cas par an [8].

Depuis le 31 Mars 1995, les leishmanioses sont devenues des maladies à déclaration obligatoire. Ce qui a permis une estimation plus réelle de leur incidence (on estime une incidence de 100 cas de leishmaniose viscérale par an) et une mise en place du profil épidémiologique de la maladie au Maroc [5].

Le graphique ci dessous illustre la répartition du nombre de cas de leishmaniose viscérale enregistrés au Maroc, en fonction des années (de 2004 à 2013) [3,9].

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

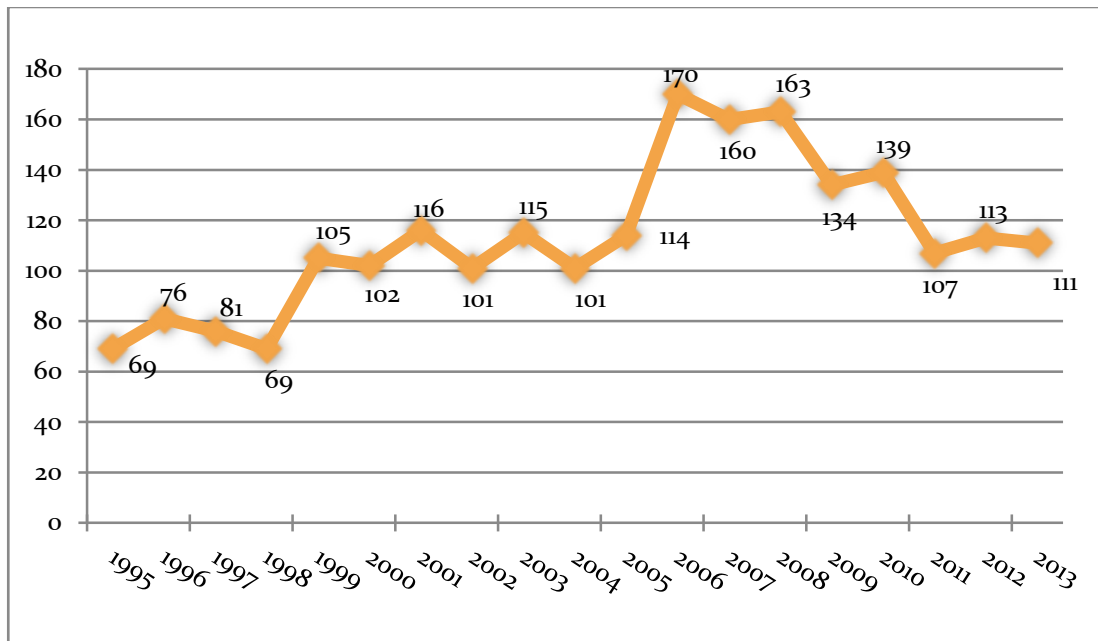


Figure 17 : Répartition annuelle des cas de Leishmaniose viscérale au Maroc de 1995 à 2013

A partir de 1999, une nette recrudescence est notée avec une centaine de cas par an. La fréquence moyenne de la LV ces dix dernières années est stationnaire estimée à 100 jusqu'à 150 cas par an, avec un maximum de cas recensés en 2006 (170 cas).

La leishmaniose viscérale au Maroc a connu une évolution de l'endémicité dans le temps, l'augmentation de l'incidence s'expliquerait, d'une part par l'amélioration de la déclaration et de la prise en charge des malades et d'autre part par la recrudescence effective du nombre de cas, favorisée par le développement agricole et l'exploitation de nouvelles ressources hydrauliques (barrages, lacs collinaires, puits artésiens...) à l'origine de modifications écologiques créant des microclimats humides favorables au développement des phlébotomes et donc aux cycles des leishmanioses. Ces modifications écologiques seraient aussi à l'origine de l'extension géographique de la parasitose [9].

Notre étude a colligé 81 cas sur une période de 6 ans allant de Janvier 2010 à septembre 2016, dans le service de parasitologie de l'HMA de Marrakech.

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

Le tableau suivant illustre le nombre de cas recensés dans des études faites aux différentes régions du Maroc concernant la Leishmaniose viscérale infantile.

Tableau X : Nombre de cas de LVI colligés dans des études marocaines

Auteurs	Lieu	Période d'étude	Nombre de cas
Zougaghi [9]	Hôpital enfant Rabat	1997_2001	93
Idrissi [21]	CHU Hassan II Fès	1998_2004	209
Blamhitou [22]	CHP Tétouan	2010_2012	42
Aboudourib [72]	CHU Marrakech	2009-2014	62
Notre Série	HMA de Marrakech	2010_2016	81

2. Age :

La LV reste l'apanage de l'enfant et en particulier le tout petit âgé de 1 à 2ans.

Dans notre série, La moyenne d'âge de nos patients était de 2,5ans, avec des extrêmes de 6 mois à 15ans. La tranche d'âge la plus touchée était celle de moins de 2ans (61.7%).

Ces résultats sont presque identiques à ceux rapportés par Minodrier [11], Zait [10] et Tamimy [12].

3. Sexe :

Dans notre série, Les 81 patients se répartissent en 47 garçons (58,02%) et 34 filles (41,97%). On constate qu'il y a une prédominance masculine avec un sex-ratio de 1.28

Ceci concorde avec les résultats d'Idrissi [13], Zougaghi [14] et Tamimy [12].

Cette prédominance masculine peut être expliquée par le fait que les garçons portent souvent des habits très peu couvrant et qu'ils aient une activité extérieure intense, les exposants davantage à la piqûre du phlébotome vecteur

Par contre, on note une légère prédominance féminine chez Minodier [11], et Aissi [15].

4. l'origine géographique :

La maladie survient fréquemment au décours de la saison chaude, avant la tombée des pluies. Les foyers de la leishmaniose viscérale infantile se concentrent dans les milieux bioclimatiques arides et semi-arides.

L'analyse de l'origine géographique des enfants atteints confirme qu'il existe au Maroc une répartition du Kala Azar suivant 3 axes :

- Un axe principale représenté par les foyers de l'extrême nord du pays qui prolonge celui de l'Algérie, comportant les principales villes de Nador, Alhoceima, Tétouan et Ouezzane .
- L'autre parallèle au premier et qui s'infléchit pour se terminer à Marrakech.
- Le 3^{ème} axe, moins important, situé au pied du haut Atlas, comprenant les foyers d'Ighrem et de Rachidia [14].

Dans notre étude réalisée, 48,46% des cas étaient originaires de la région de Marrakech-Safi.

Le climat de la région se distingue par une variabilité apparente de la température et de l'humidité ainsi que par une pluviométrie relativement faible sur toute l'année. Il reste soumis aux influences de l'Océan Atlantique et aux altitudes très élevées du Haut Atlas. Le caractère aride et semi aride domine dans toute la région, il est favorable au développement de la LVI.

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

L'hygrométrie est faible, la température élevée et les écarts journaliers et saisonniers sont importants [16].

74,95% de nos malades sont d'un milieu rural, ce qui concorde avec les résultats des autres séries : Zougaghi (85,5%) [14],Aissi (87,1%) et Ballamhitou(78,57%) ,Aboudourib[71].

Le milieu rural réunit des conditions favorables à la transmission du parasite ;les chiens y sont nombreux et les phlébotomes y trouvent en abondance des animaux et des humains, sources de repas de sang pour les femelles ,des matières organiques nécessaires au développement des larves et des lieux de ponte protégés du vent [17].

III. symptomatologie clinique :

✚ La fièvre :

Constitue le principal élément clinique initial de la maladie.

Dans notre série, la fièvre est présente chez 97,5% de nos malades.

Nos résultats concordent avec ceux de Idrissi [13] ,un pourcentage moins important est retrouvé dans les séries de Zougaghi (92,4%) [14], Zait (77,4%) [10] Aissi (79,9%) [15] et Aboudourib [71].

✚ La pâleur :

Est, tout particulièrement, évidente sur la peau claire dont la teinte cireuse attire l'œil.

Dans notre étude, ce signe est retrouvé chez 76 patients (95,05%).

Les données des autres études sont variables : 50% est notée dans la série Idrissi [13] ,74% dans l'étude de Tamimy [12], 85,71% dans la série de Balamhitou[18],

A noter que l'importance de ce signe clinique est subjective et variable selon l'estimation de l'examineur.

✚ Triade :

La triade : pâleur, splénomégalie et fièvre, est retrouvée chez 97,5% de nos patients

Sa découverte est très évocatrice du diagnostic de LVI [13].

Nos résultats concordent avec ceux de Zougaghi [14] IDRISSE[13] et Aboudourib[71].

Tableau XI : Les signes cliniques de la LVI et leurs pourcentages selon les études

Auteurs	Nombre de Cas	Fièvre	Pâleur	SPM	HPM	ADP
Totan [28](Turky)	40	100%	75%	100%	85%	25%
Lito [29](Albani)	50	100%	100%	100%	100%	8%
Minodier [12](France)	59	90%	64%	100%	63%	36%
Zait [10](Alger)	71	77,4%	43,6%	83%	57,7%	9,8%
Aissi [11]Tunisie	240	79,9%	-	97,9%	47,3%	-
Idrissi [21]Maroc_Fès	209	94,5%	50%	97,7%	47,4%	9%
Moufarreh [27] Maroc_Chefchaoun	47	97,88%	95,94%	100%	-	2,12%
ABOUDOURIB [72] Maroc Marrakech	62	93,54%	93,54%	96,77%	43,54%	6,45%
Notre étude Maroc Marrakech	81	97,5%	95,05%	92,50%	39,50%	5,23%

IV. Démarche diagnostique :

Le tableau biologique de la LV méditerranéenne de l'enfant associe une atteinte des lignées cellulaires sanguines avec une bicytopenie ou une pancytopenie, un syndrome inflammatoire et une dysprotéinémie.

1. Bilan de présomption :

1.1. L'anémie :

Est un signe majeur de la leishmaniose viscérale. Elle est le plus souvent normochrome normocytaire arégénérative avec une anisocytose et une poïkylocytose. L'hémoglobine peut s'effondrer à moins de 4g/dl en cas d'évolution chronique.

Elle résulte de deux mécanismes différents :

- le premier est central, dû à une dysérythropoïèse par irritation de la moelle osseuse au contact des antigènes du parasite [19].
- le second mécanisme, est périphérique; il est dû, d'une part, à l'hypersplénisme et, d'autre part, à un mécanisme auto-immun faisant intervenir le complément activé par la formation du complexe antigène anticorps. De ce fait, l'allongement de la durée du parasitisme contribue à aggraver progressivement l'anémie [20].

Dans notre série, l'anémie était retrouvée chez tous les malades. Ce qui concorde avec les résultats de Zoughari (92,4%) [14], Zait (77,4%) [10] et Aissi (79,9%) [15].

1.2. La thrombopénie : [32]

Définie par un taux de plaquettes inférieur à 150 000 éléments /mm³

Le taux des plaquettes est aussi diminué au cours de la LVI. Elle reste longtemps modérée. Enfin de l'évolution de la maladie, elle devient majeure et s'associe parfois à une altération dans la synthèse des facteurs de coagulation par le foie, ce qui provoque des hémorragies pouvant être graves.

Elle est due essentiellement à une séquestration splénique. Certains auteurs soulignent l'existence d'anticorps antiplaquettaires au cours de la leishmaniose viscérale et excluent l'origine centrale.

Dans notre série, une thrombopénie est notée chez 95,78% des cas., dont 39,50% avaient un taux de plaquettes inférieur à 50 000 éléments/mm³. Ceci témoigne du stade évolué de la maladie chez nos malades.

1.3. La leucopénie :

Est liée à une neutropénie. Elle reste un élément biologique non spécifique mais très évocateur de la leishmaniose viscérale dans une zone endémique surtout quand elle est associée à une splénomégalie.

L'hypersplénisme est encore une fois incriminé dans la destruction périphérique de ces cellules et expose le malade à de nombreuses complications infectieuses pouvant aggraver le pronostic et compliquer la prise en charge thérapeutique [14].

Dans notre étude, la leucopénie est observée chez 55,85% des cas, et ceci rejoint les résultats de la majorité des séries.

Dans notre étude, l'hémogramme a été pratiqué de façon systématique pour tous les malades. On constate que l'anémie a été retrouvée chez tous les enfants (100%), suivie par ordre de fréquence par la thrombopénie 95,78% puis par la leucopénie 55,85%.

Des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres séries comme le montre le tableau suivant :

Tableau XII: Anomalies de l'hémogramme dans la LVI selon les études

Auteur	Nombre de cas	Anémie	Thrombopénie	Leucopénie
Idrissi [13]	209	100%	76,33%	63%
Zoughari [14]	93	97,8%	90,3%	68,1%
Belhamitou [18]	42	100%	92,85%	57,17%
Zait [10]	71	56,3%	33,8%	28,1%
Minodrier [11]	59	100%	100%	100%
Aboudourib [71]	64	100%	96,77%	69,35%
Sihna [21]	264	100%	79%	59%
Notre série	81	100%	95,87%	55,85%

Une pancytopénie a été trouvée chez 74,07% de nos malades.

Une bicytopenie a été mentionnée dans 23,45% des cas.

Ceci concorde avec les résultats publiés par Belhamitou [18]. Dans l'étude de Minodier [11], tous les patients ont présenté une pancytopenie (100%).

1.4. La Vitesse de Sédimentation et Protéine C réactive : [12]

Les réactions de l'hôte au parasitisme sont d'abord celles de tout sujet face à une agression avec un syndrome inflammatoire et une augmentation du TNF α témoignant et expliquant en partie la fièvre.

Plus spécifiquement, il existe au cours de la leishmaniose viscérale une immunodépression cellulaire et une dysprotidémie importante qui se traduisent par des modifications biologiques.

La vitesse de sédimentation est élevée, supérieure à 100mm à la première heure. Elle reflète le syndrome inflammatoire et l'hypergammaglobulinémie.

La protéine C réactive et l'orosomucoïde sont augmentées.

Dans notre série, seuls 16% des cas avaient une VS normale.

Une VS accélérée supérieure à 50 mm la première heure est notée 57,65% des cas. L'ensemble de ces résultats confirme l'intérêt de la mesure de la VS qui reste un bon élément d'orientation dans le diagnostic de la LVI, et dont l'accélération a été retrouvée dans toutes les séries publiées [20,21].

La CRP est positive chez 88% des patients chez qui le bilan a été réalisé.

1.5. Protidémie et électrophorèse des protéines :

La protidémie globale atteint 80 à 100 g/l.

Cette élévation relève d'une hypergammaglobulinémie polyclonale, portant principalement sur les IgG et les IgM prouvée à l'électrophorèse des protides qui montre également un effondrement de l'albuminémie.

Par faute de moyen ce bilan n'a pas été demandé chez nos malades.

L'analyse des résultats du bilan de présomption, nous a mené à conclure, qu'on peut avoir plusieurs atypies biologiques telles :

Le taux de GB et de PLQ normal , retrouvé respectivement chez 37,55% et 3,7% de nos malades .

CRP négative chez 12% des cas.

VS non accélérée rencontrée chez 42% des cas .

IL parait donc judicieux d'évoquer de telles situations biologiques qui non seulement n'avancent pas le clinicien dans sa démarche diagnostique, mais plus grave encore, peuvent l'induire en erreur et constituent ainsi des pièges diagnostics.

2. Diagnostic de certitude :

2.1 La recherche dans le sang médullaire :

L'examen direct de la moelle osseuse représente, du fait de sa grande sensibilité et de la précocité du résultat, le moyen de référence et de première intention pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale [20].

Néanmoins, cet examen peut être négatif en raison d'une mauvaise manipulation du frottis (ponction blanche, coloration défectueuse) ou d'une erreur de l'opérateur. Ce dernier doit être expérimenté pour ne pas passer à côté des petites formes amastigotes situées à l'intérieur ou autour des cellules histiomonocytaires de la moelle osseuse.

La recherche de corps de leishmanies peut s'effectuer au niveau du : foie, rate (mais risquée), ganglions lymphatiques, muqueuse digestive ou le liquide broncho-alvéolaire (LBA) [22].

Bien que la spécificité de l'examen microscopique soit élevée, sa sensibilité varie selon les tissus prélevés : elle est de 93% à 99% pour la rate, 53% à 86% pour la moelle osseuse et de 53% à 65% pour le suc ganglionnaire [22].

En effet, la ponction splénique est considérée comme la plus performante mais elle est moins pratiquée en raison du danger qu'elle présente en cas de rupture et de trouble de l'hémostase [14]. La ponction-biopsie hépatique est possible, mais comporte les mêmes risques que la ponction splénique.

Dans notre étude, le myélogramme est réalisé chez tous les malades. Il a permis de confirmer le diagnostic chez 76,54% des cas.

Nos résultats concordent avec ceux de Zougaghi [14] , Idrissi [13] , ZAIT [10] , Aboudourib [71] alors qu'à l'étude de MINOUDIER [11] 100 % des malades avaient un myélogramme positif .

2.2 Leucocyto-concentration (LCC):

Son principe consiste à concentrer les parasites sanguins sur la plus petite surface possible d'une lame porte-objet en éliminant les globules rouges et les plaquettes.

Cette technique est décrite par la plupart des auteurs comme étant un moyen de diagnostic préconisé essentiellement pour les patients immunodéprimés [6, 19, 20]. Mais J. Chemli et al, ont remis cette notion en question à travers leur étude qui a intéressé 84 enfants immunocompétents chez lesquels est pratiquée, à côté du médullogramme, une leucocytoconcentration du sang périphérique qui a permis d'objectiver la présence de corps de Leishmanie dans 56 % des cas [20].

2.3 Culture :

Les prélèvements sanguins ou médullaires peuvent être ensemencés en culture, avec des sensibilités proches pour les deux types de prélèvement même chez les sujets immunocompétents ; cette sensibilité est variable entre 60% et 100% selon les études.

La culture permet, à côté du diagnostic de certitude de la parasitose, l'isolement de la souche de Leishmania en vue de son identification.

Les milieux proposés pour la culture des leishmanias sont nombreux, et pourtant le milieu de Novy Mc Neal et Nicolle (NNN) reste, 100 années après sa mise au point ,le plus utilisé en pratique courante.

La culture est lente et le délai de pousse des leishmanias est d'autant plus retardé que la charge parasitaire est faible, d'où la nécessité de garder les cultures en incubation quatre semaines, avec la réalisation de cinq repiquages à 1 semaine d'intervalle avant de conclure à une négativité [20].

La sensibilité des cultures de MO des sujets atteints de LV était de 70,8 % .Il est retenu de nos jours que l'isolement des leishmanies, en culture chez les sujets atteints de LV, est possible à partir du sangpériphérique et ce non seulement chez les immunodéprimés, mais également chez les immunocompétents[23]..

En effet, la parasitémie est suffisamment élevée dans le sang de patients atteints de LV, tel que l'ont prouvé les dosages quantitatifs d'ADN [15]. La charge parasitaire sanguine reste cependant inférieure à celle dans la MO faisant que certaines cultures ne sepositivent que tardivement [23]. Des faux négatifs sont aussi possibles lorsque la quantité du sang prélevé est faible [23].

Les cultures des corps de leishmanies sont principalement motivées en pratique courante par la facilité et l'innocuité des prélèvements de sang comparativement aux traumatisantes ponctions médullaires [23].

Malgré les bonnes performances des cultures, 70,8 % de positivité au cours de la LV, l'examen direct du frottis médullaires reste significativement plus sensible, 93,4 % ($p < 0,001$) .

Dans tous les cas, l'examen direct des frottis médullaires pour la LV, reste la technique de première intention pour le diagnostic des leishmanioses.

La mise en culture permet toutefois de rattraper certains examens directs négatifs, particulièrement quand les prélèvements sont pauvres en parasites ou sont lus par des microscopistes peu expérimentés.

Tableau XIII: Sensibilité de l'examen direct et de la culture [23].

Examen	Culture	Examen direct
Sensibilité	70,8%	93,4%

2.4 La recherche d'antigénurie :

Elle a récemment été évaluée pour *Leishmania infantum* et *Leishmania donovani*, chez l'immunodéprimé en cas de sida. Les premières études montraient des résultats encourageants avec une sensibilité supérieure à 85 % et une spécificité à 96 %.

La valeur prédictive négative paraît donc insuffisante pour que l'on puisse se contenter de ce test sur le terrain. Cette technique détecte parfois aussi le portage asymptomatique [34].

2.5 La biologie moléculaire :

Elle a récemment été évaluée pour *Leishmania infantum* et *Leishmania donovani*, chez l'immunodéprimé en cas de sida. Les premières études montraient des résultats encourageants avec une sensibilité supérieure à 85 % et une spécificité à 96 %.

La valeur prédictive négative paraît donc insuffisante pour que l'on puisse se contenter de ce test sur le terrain. Cette technique détecte parfois aussi le portage asymptomatique [34].

2.6 La biologie moléculaire :

Le diagnostic moléculaire est basé sur la détection et l'analyse des acides nucléiques du parasite dans le sang ou la PMO même si le prélèvement est plus pauvre. Il complète les approches parasitologiques et sérologiques dans le cadre du diagnostic initial.

Elle permet un diagnostic précoce avant que le tableau clinique ne soit complet, elle a montré son efficacité dans la mise en évidence du portage asymptomatique du parasite chez le sujet infecté par le VIH. et elle permet aussi de distinguer les souches sensibles des souches résistantes au traitement, ce qui contribue à une meilleure prise en charge thérapeutique et un meilleur suivi des patients [2][40][38][39] .

Plusieurs techniques sont utilisées et différentes séquences génomiques peuvent être recherchées. Les PCR-ELISA et RT-PCR semblent les plus couramment employées. Les résultats atteignent souvent 100 % de leishmanioses diagnostiquées contre seulement 60 à 80 % pour la sérologie ou l'examen direct et la culture.

L'amplification et la détection de l'ADN parasitaire par PCR, méthode sensible, spécifique et rapide, elle présente l'avantage d'éviter les contaminations mais elle nécessite un matériel coûteux et une formation spécialisée des personnels [38].

3. Le diagnostic parasitologique indirect:

Chez les patients immunocompétents, la LV engendre une réponse immunitaire humorale suffisamment forte pour justifier son exploration. En effet, la recherche d'anticorps spécifiques circulants reste une technique de diagnostic non invasive ayant un grand intérêt pratique, car sa positivité constitue une forte présomption diagnostic.

Les techniques disponibles sont nombreuses, elles utilisent des préparations antigéniques contenant soit des parasites entiers, obtenues à partir des promastigotes de culture, soit des extraits de parasites

La Sensibilité des techniques sérologiques diminue chez l'immunodéprimé, avec un risque de réaction croisée avec certaines parasitoses (Trypanosomiasés, toxoplasmose...)

3.1 ELISA:

Cette technique immunoenzymatique utilise des antigènes solubles bruts: Ag membranaire et Ag cytoplasmique (Ag AS) et sa sensibilité, spécificité varie en fonction de l'antigène utilisé : Ag ES (métabolique), Ag purifié, Ag recombinant.

Plusieurs variantes : [26]

➤ Ld-ESM ELISA :

- Sensibilité et Spécificité : 100%
- VPP: 99,99% et VPN : 95,45%

➤ rGBP ELISA:

- Gène B *L.major* (homologue du gène B de *L. donovani* Ld- rGBP)

➤ rORFF ELISA:

- Gène de *L.infantum* .

➤ rGp63 :

- Gène de *L.major*

➤ rK39 ELISA:

- Gène kinésine spécifique du complexe Donovan.
- Sensibilité élevée et excellente VPP.

➤ rK26 & rK9 :

- Gène kinésine de *L. chagasi*

➤ rKE16 :

- *L. donovani* en Inde
- 100% sensibilité et spécificité

C'est un test de diagnostic rapide et sensible pour la LV, on utilisant l'antigène soluble spécifique des leishmanies appartenant au complexe *Leishmania donovani*, le rK39. Elle présente une sensibilité et une spécificité de 99 % pour les patients immunocompétents avec une LV. Chez les patients VIH positif, le rK39-ELISA a montré une sensibilité plus élevée (82 %) que l'IFI (54 %).

Dans cette technique, il y a peu ou pas de réactions croisées avec d'autres maladies [25][20].

Ce sont des réactions rapides et faciles, mais elles sont plus coûteuses, et nécessitent un matériel de lecture adapté, ce qui limite leur utilisation de façon courante.

3.2 . L'immunofluorescence indirecte :

Elle est la technique de référence. Elle consiste à la mise en évidence d'une réaction antigène-anticorps sur une lame mettant en contact les dilutions de sérum avec des promastigotes de culture, et ceci après l'addition d'une substance fluorescente et la contre-coloration au bleu d'Evans . Cette technique a une sensibilité de 91% avec une spécificité de 99%. [28]

Mancianti et Meciani [29] ont conclu que l'IFI était bien corrélée au diagnostic de certitude de la LVI mais qu'elle pouvait être négative aux stades précoces de la maladie en raison d'une faible quantité d'anticorps circulants [29] .

3.3 Test de Diagnostic rapide (TDR) : [27]

Les TDR anticorps ont une importance majeure dans les zones d'endémie des pays en voie de développement dont l'environnement biologique, sur le terrain, est pauvre même si les grands centres disposent de tous les moyens modernes de diagnostic.

Les TDR leishmaniose-anticorps sont des tests immunochromatographiques sous forme de cassette ou de bandelette sensibilisée avec un antigène recombinant, soit le rKE16, soit le rK39.

Deux références bibliographiques principales, la méta-analyse conduite par F. Chappuis et al et l'évaluation conduite sous l'égide de l'OMS [26] font le point sur l'intérêt de ces réactifs. L'enseignement principal tiré de ces deux publications est que le choix du réactif doit tenir compte des souches circulantes dans la région considérée, un mauvais choix pouvant entraîner un sous-diagnostic considérable.

Les TDR sont suffisamment spécifiques pour confirmer le diagnostic de LV lorsque la définition du cas suspect (2 semaines ou plus de fièvre et splénomégalie) est respectée dans le sous-continent indien. En Afrique de l'Est et au Brésil en revanche, la sensibilité se situe au mieux entre 40 et 90 %. En France l'utilisation d'un test rapide en première intention sur une suspicion de leishmaniose viscérale à *L. infantum* permet d'avoir rapidement une approche diagnostique qui pourra être confirmée secondairement par les méthodes classiques et la mise en évidence du parasite et de son ADN.

3.4 . WESTERN-BLOT :

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

Tout l'intérêt de cette technique réside dans la mise en évidence des anticorps spécifiques d'antigène de *Leishmania*.

Les antigènes recherchés sont ceux pour lesquels il n'existe pas de réactions croisées connues, dont les plus importants sont ceux correspondant aux poids moléculaires suivant : 14-

16 KDa, 30–46 KDa et la 90 KDa qui se révèlent immunogènes et spécifiques, notamment ceux de 16 et 14 KDa dont leur présence seule suffit pour poser le diagnostic. [30]

Le western blot ou immunoempreinte est actuellement une des techniques sérologiques les plus sensibles (sensibilité 100% , spécificité 99%). Réalisée dans les laboratoires spécialisés, c'est un test de confirmation qui permet notamment de différencier des profils de sujets malades et de porteurs asymptomatiques [20].

La technique de choix reste l'immunoempreinte ou le « western blot » du fait de sa grande sensibilité et spécificité. Mais vu son coût élevé, elle représente un test de confirmation réservé à des laboratoires spécialisés [20].

Tableau XIII: Sensibilité, spécificité, VPP et VPN des quatre tests sérologiques de la LV [20].

	Sensibilité	spécificité	VPP	VPN
ELISA	99%	99%	–	–
IFI	91%	99%	94%	98%
TDR	97%	98%	89%	94%
WB	100%	99%	95%	100%

3.5 Techniques d'agglutination :

L'agglutination directe (DAT) :

Elle consiste à mettre en présence des dilutions successives de sérum avec des formes promastigotes de *Leishmania* trypsinées et colorées au bleu d'Evans ou au bleu de Coomassie.

La présence d'anticorps se traduit par un tapis d'agglutination. Le titre seuil se situe autour de 1/1600 ou de 1/3200, des titres élevés persistent au décours de la maladie.

Le seuil élevé fait perdre à la technique sa valeur. Des améliorations proposées par El Harith et coll, en 1996, comme le traitement de l'antigène lui même par le β - mercapto-éthanol ou l'adjonction d'urée au milieu réactionnel, seraient susceptibles de répondre, en partie, aux critiques habituelles sur le défaut de spécificité [31] .

Agglutination passive (AP) ou test au latex :

Le sérum du patient est mis en contact avec des particules inertes (latex) sur lesquelles ont été fixés des antigènes leishmaniens solubles. La positivité de la réaction se manifeste par l'agglutination de ces particules (voile), la négativité par le dépôt, en « bouton », des particules dans le fond de la cupule.

Ce test aurait une sensibilité comparable et parfois même supérieure à l'IFI avec le gros inconvénient de n'être que qualitatif [32] .

L'hémagglutination indirecte est peu utilisée car elle est peu sensible, et un résultat positif nécessite une confirmation par une autre technique.

Dans la série de Zougaghi [14] intéressant 93 enfants, 43 % des cas avaient bénéficié d'une HAI : 17 réactions se sont avérées négatives alors que la recherche de corps de leishmania était positive.

La négativité de l'HAI peut avoir plusieurs raisons :

- ❖ manque de sensibilité.
- ❖ État immunitaire du patient (dénutrition, immunodépression)
- ❖ Stade précoce de la maladie, avec une réponse humorale insuffisante et donc un taux d'anticorps indétectable par la réaction[14].

3.6 Eléctrosynérèse (ES):

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

La sensibilité de l'ES est de 96,8% et elle est supérieure à celle de l'immunofluorescence, sa spécificité est de 100% [20] . L'Eléctrosynérèse est plus sensible en début de la maladie qu'à la fin. La concentration d'anticorps précipitant diminue avec le traitement spécifique, ce qui la rend aussi adaptée au suivi thérapeutique [30].

Des techniques sérologiques par bandelette ont été évaluées pour les contextes sanitaires difficiles. La sensibilité est de plus de 90 % chez l'immunocompétent. Néanmoins, en cas de co-infectionVIH/LV, les sensibilités des différents kits disponibles n'atteignent que 20 %[34] .

3.7 Test d'hypersensibilité retardée :

Il est provoqué par l'injection intradermique des promastigotes de culture (réaction de Monténégro), lavés et mis en suspension dans une solution saline contenant 0,5% de phénol. L'espèce de leishmanie utilisée n'a pas d'importance (il n'y a pas de spécificité d'espèce).

La « leishmanine » contient un million de parasites par ml. La dose individuelle comporte 0,1 ml (100.000 parasites). Une injection de 0,1 ml de solution phénolée sans parasites est faites à proximité, comme témoin d'une éventuelle sensibilité du patient au phénol.

Après 48 à 72 heures, une réaction positive donne un nodule induré entouré d'érythème. Les degrés sont exprimés de 1 à 4, d'après le diamètre (de 8 mm) [37] .

Dans le cas de la LV, il est négatif lors de la phase aiguë, mais il se positive, généralement, après plusieurs mois de la guérison. Son intérêt est épidémiologique [36] [25]

4. Evaluation des performances des méthodes adoptées dans l'étude :

Selon différentes études :

- L'examen direct est le gold standard, le moyen de référence et de première intention pour le diagnostic de la leishmaniose viscérale mais Cet examen peut être négatif en raison d'une mauvaise manipulation du frottis (ponction blanche, coloration défectueuse) ou d'une erreur de l'opérateur. ce qui nécessite un complément par d'autres méthodes sérologiques à fin de confirmer le diagnostic. [20]
- la technique immunofluorescence indirecte est la plus utilisée, en raison de sa grande sensibilité et spécificité. Des faux négatifs ont été observés chez les nourrissons de moins de 4 mois et chez les immunodéprimés des faux positifs ce voir en raison de réactions croisées avec le paludisme et l'infection à trypanosoma. [72]
- La méthode ELISA est de plus en plus employée, car elle est très sensible et permet de distinguer parmi les anticorps spécifiques, ceux qui sont des IgG et des IgM (dont la présence affirme le caractère récent en cours de l'infection. Dans cette technique, il y a peu ou pas de réactions croisées avec d'autres maladies .Ce sont des réactions rapides et faciles, mais elles sont plus coûteuses, et nécessitent un matériel de lecture adapté, ce qui limite leur utilisation de façon courante. [72]
- Le TDR est moins spécifique que les IFI et l'Elisa mais il est peu coûteux et ne nécessite pas de matériel sophistiqué. Il est de plus en plus utilisé sur le terrain, utilisant des bandelettes sensibilisées par une protéine antigénique recombinante, Il permet d'avoir rapidement une approche diagnostique qui doit être confirmée secondairement par les méthodes classiques et la mise en évidence du parasite et de son ADN. [21]
- L'immunoempreinte, ou Western-Blot, très sensible et très spécifique, permettant de différencier les sujets malades des porteurs asymptomatiques, proposé comme test de confirmation d'un résultat positif ou équivoque obtenu par les tests classiques de dépistage mais vu son coût élevé, elle représente un test de confirmation réservé à des laboratoires spécialisés. [21]

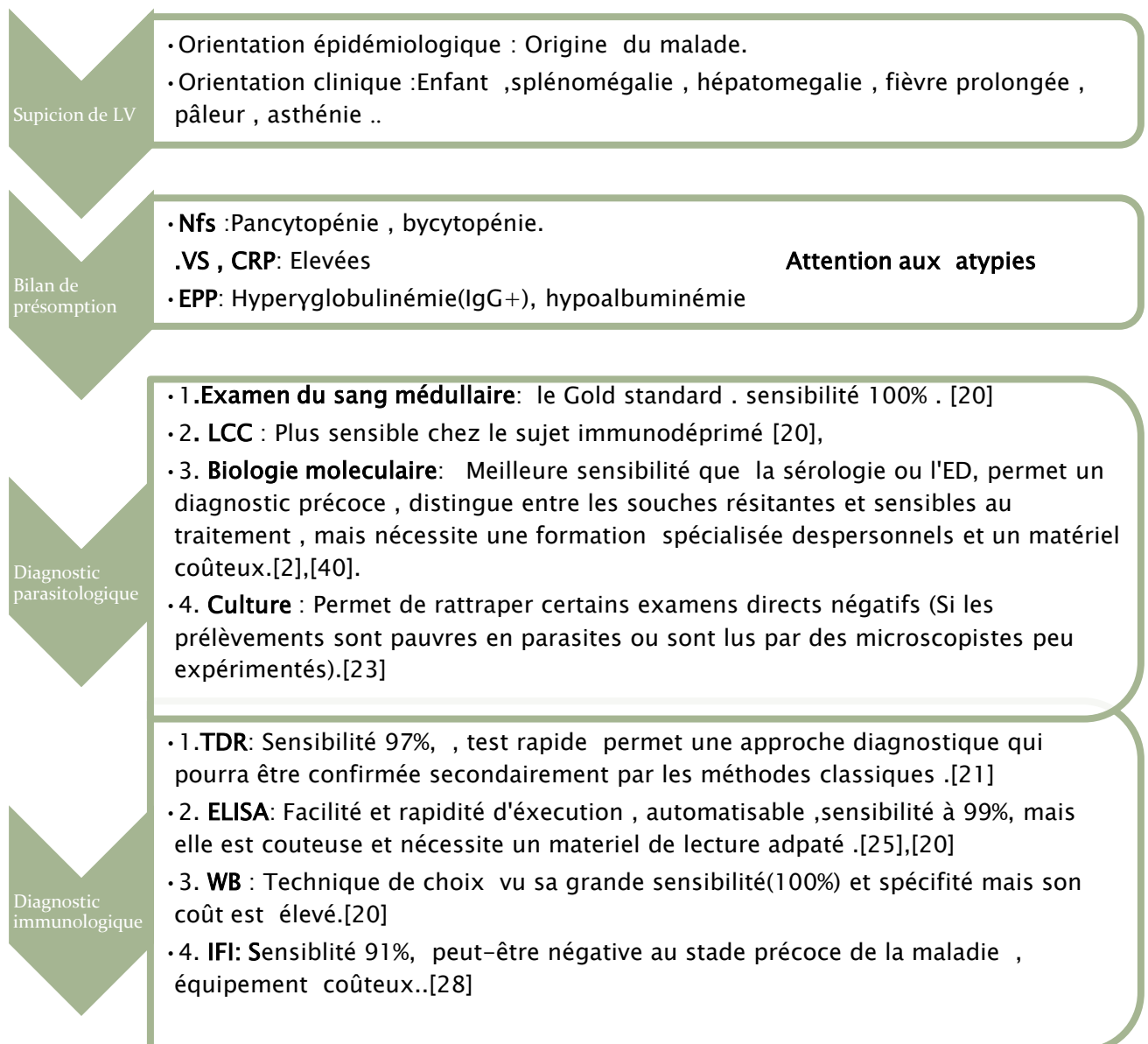
Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

Dans notre série : Malgré les limites rencontrées au cours de notre travail, représentées par la non réalisation de tous les moyens de diagnostic, vu leur cout élevé, on a pu avoir une idée générale sur les performances des techniques utilisés au sein de notre laboratoire :

- le myélogramme est réalisé chez tous les malades. Il a permis de confirmer le diagnostic chez 76,54% des cas
- les 19 cas avec examen direct négatif, étaient rattrapés et confirmés par la sérologie.
- La technique d'ELISA a permis de confirmer le diagnostic de LV chez tous les malades chez qui elle a été réalisée et aucun contrôle par cette technique chez les malades qui avaient un examen direct positif ne s'est révélé négatif.
- Contrairement au TDR, dont le contrôle chez un malade qui avait un sang médullaire parasité, est revenu négatif avec une ELISA positive.
- Nos résultats ont permis de confirmer aussi, que la technique d'ELISA a une meilleure sensibilité que le TDR.
- 5 cas ont bénéficié d'un test IFI qui a confirmé le diagnostic chez tous ces malades.
- Le WB a été réalisé chez 4 malades comme test de confirmation.

5. CAT: Diagnostic biologique de la LV

A l'issue de notre étude nous proposons cette conduite à tenir devant toute suspicion de leishmaniose viscérale :



V.Modalité thérapeutique et évolutive :

1. Le traitement spécifique :

La thérapeutique de la leishmaniose est dominée, depuis le début du siècle, par les dérivés stibiés qui demeurent encore de nos jours les médicaments de première intention. Cependant l'apparition de souches de leishmania résistantes à l'antimoine pentavalent ainsi que l'apparition des effets secondaires toxiques et l'accroissement des cas de LV /SIDA au cours des dernières décennies, ont conduit à rechercher d'autres alternatives thérapeutiques [42,25].

Les options de traitement de la Leishmaniose viscérale sont les sels pentavalents d'antimoine, l'amphotéricine B et ses dérivés lipidiques, la miltefosine, l'aminosidine (paromomycine) et la pentamidine [41].

Dans notre série tout les malades ont été mis sous traitement à base de N-Méthylglucamine : Glucantime à raison d'une injection en intramusculaire profonde à la dose d'une moyenne de 60mg/Kg/J (20 mg SbV+/Kg /j), pour une durée de traitement qui varie entre 21 et 28 jours.

Les Macrolides ont été utilisés chez 9 enfants, vu la non amélioration ou l'intolérance au N _Méthylglucamine, leur efficacité sur la leishmaniose cutanée et la non disponibilité d'autres traitements

2. Evolution :

La LV est une maladie chronique à évolution lente qui peut durer plusieurs mois, voire plusieurs années.

- Sans traitement, l'évolution est marquée par la majoration progressive des symptômes cliniques et des signes biologiques : l'amaigrissement, l'anémie et la leucopénie s'aggravent, la splénomégalie devient énorme. Un état de cachexie

impressionnante s'installe avec détérioration de l'état général et susceptibilité accrue aux infections. Le décès survient le plus souvent lors d'une infection intercurrente (principalement respiratoire) ou lors d'une insuffisance hépatocellulaire importante avec syndrome hémorragique [44].

- Sous traitement anti-leishmanien précoce et bien mené, la guérison est obtenue en quelques jours et le décès survient exceptionnellement ; cela est en rapport avec le mauvais état général au départ, les complications du traitement (stibio-intolérance et/ou stibio-toxicité) ou de la maladie (hémorragie/infection).

La guérison est marquée par l'obtention de l'apyrexie dès les premiers jours du traitement. La régression de l'anémie et de la splénomégalie est plus lente et peut prendre des mois. Une hépato-splénomégalie peut persister jusqu'à six mois après la fin du traitement sans qu'elle ne soit pathologique. Les signes biologiques s'améliorent progressivement [43,13, 44] .

Suivi post thérapeutique par la PCR : C'est une technique rapide permettant d'avoir le résultat dans les heures qui suivent le prélèvement, sans risque de contamination, avec une sensibilité proche de 100 % [26] même pour les charges parasitaires les plus faibles. Elle est particulièrement utile pour le suivi évolutif des malades traités et pour l'étude des sujets porteurs asymptomatiques du parasite [20].

2.1 .Evolution favorable :

Le taux d'évolution favorable dans les séries étudiées varie de 75% et 97,12% (tableau 14).

Ce qui concorde avec nos résultats (88,88%).

Tableau XV: Evolution de la LV selon les études .

Séries	Notre série	BALHAMIDOU[18]	IDRISSI [13]	THIMOU[44]	MOUFFREH[45]	TAMIMY[12]
Evolution favorable	88,88%	88%	97,12%	75%	93,6%	95,7%

2.2 Mortalité :

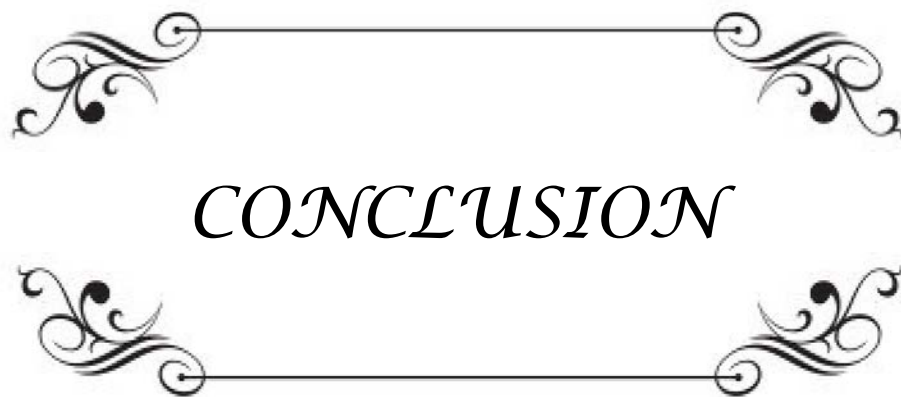
Le taux de mortalité lié à la leishmaniose viscéral infantile a connu une évolution croissante au fil du temps. Il peut trouver son explication dans trois principales étiologies à savoir les infections intercurrentes, les hémorragies sévères et le syndrome d'activation macrophagique [45].

Toutefois le taux de mortalité dans notre série reste un peu élevé par rapport aux autres études :

IDRISSI[13] 5,6% ,BALHAMIDOU[18] 3% ,TAMIMY[12] 4,1% ,ZAIT[10] 5,6%).

Cela peut être expliqué par :

- ✓ La difficulté d'accès aux soins, surtout dans les régions rurales et enclavées.
- ✓ Les conditions socioéconomiques des patients.
- ✓ Consultation à un stade avancé de la maladie



CONCLUSION

Les leishmanioses sont des maladies à transmission vectorielle (MTV) et représentent un problème de santé publique dans le monde y compris le Maroc.

La déclaration de cette affection est obligatoire dans le but d'obtenir une cartographie de la répartition de l'endémie, de surveiller de façon documentée les foyers habituels et d'alerter en cas de foyer émergent.

Une splénomégalie et une fièvre irrégulière et prolongée dans un contexte de séjour dans une zone endémique, constituent les principaux éléments devant orienter vers une leishmaniose viscérale.

L'outil de diagnostic par excellence est représenté par l'examen direct des différents frottis du sang médullaire pour mettre en évidence le parasite : *Leishmania infantum*

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

Cet examen lorsqu'il est associé à des techniques sérologiques (ELISA, TDR, IFI, WB) permet la confirmation du diagnostic dans 100% des cas comme l'a montré notre étude.

Notre travail a heurté la contrainte de couverture médicale des patients ce qui explique la non réalisation de toutes les techniques sérologiques disponibles. Toutefois, on a pu donner une description générale des leishmanioses diagnostiquées au sein de notre laboratoire ainsi que leurs caractéristiques.

Notre étude est un argument supplémentaire d'une part ; de l'apport irréfutable du laboratoire de parasitologie dans le diagnostic et la surveillance de la LV et d'autre part du bénéfice de la collaboration entre cliniciens et biologistes pour une bonne prise en charge des malades.



RESUMES

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

Au Maroc, la leishmaniose viscérale infantile est une parasitose due à un protozoaire flagellé : *Leishmania infantum*. Elle est transmise par la piqûre d'un insecte hématophage appelé Phlébotome et touche essentiellement les enfants en bas âge issus de milieux défavorisés.

L'objectif de ce travail, était de discuter l'apport des moyens du diagnostic biologique avec mise au point sur les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, paracliniques, thérapeutiques et évolutives des cas de leishmaniose viscérale infantile. Il s'agissait d'une étude rétrospective, effectuée au service de Parasitologie Mycologie de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech et le service de Pédiatrie au Centre hospitalier universitaire de Marrakech, sur une période de 6 ans, allant de Janvier 2010 au septembre 2016, et qui avait colligé 81 cas.

L'âge moyen de nos patients était de 2,5ans(6 mois à 15ans). Le sex ratio H /F était de 1,29. 74,95% des cas étaient d'origine rurale. La triade fièvre, pâleur, splénomégalie était retrouvée chez 97,5% des cas.

L'hémogramme a révélé une anémie dans tous les cas, une leucopénie et une thrombopénie dans respectivement 55,85% et 95,78% des cas. Le bilan inflammatoire a objectivé une CRP positive chez 88% des cas et une VS accélérée chez 57,65% des cas.

Le bilan de présomption a révélé certaines atypies biologiques (Absence de thrombopénie et de leuco-neutropénie chez respectivement....CRP normale chez ...et VS non accélérée chez..) qui peuvent induire en erreur et constituer donc des pièges diagnostics.

Le diagnostic a été retenu après mise en évidence des leishmanies dans le sang médullaire chez 76,54% % des patients. Les techniques sérologiques par ELISA, IFI et Western-blot ont permis de récupérer et confirmer le diagnostic chez les 23,46% des cas restants.

Une évaluation des performances des techniques de diagnostic direct et indirect adoptées dans l'étude a été réalisée. Elle a confirmé la supériorité de l'examen direct qui demeure le moyen diagnostic de référence mais qui doit être complété par des méthodes

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

sérologiques pour une meilleure approche diagnostique. IT-LEISH qui est un TDR nouvellement mis sur le marché ne doit pas être utilisé tout seul et doit être interprété avec prudence. La PCR en temps réel constitue le meilleur moyen de diagnostic et de suivi de la leishmaniose viscérale.

La prise en charge thérapeutique s'est basée initialement, chez tous les malades, sur N-Méthyl Glucamine (GLUCANTIME®), administré par voie intramusculaire avec une surveillance clinique et biologique.

La guérison après la première cure était notée chez des 88,88% des cas . Nous avons déploré 9 décès.

La présente étude souligne le rôle indéniable du laboratoire de parasitologie dans le diagnostic de la leishmaniose viscérale et l'importance de la collaboration entre cliniciens et biologistes pour une bonne prise en charge de cette maladie parasitaire.

Abstract

In Morocco, infantile visceral leishmaniasis is a parasite due to a flagellated protozoan: *Leishmania infantum*. It is transmitted by the bite of a haematophagous insect called *Phlebotomus* and mainly affects young children from disadvantaged backgrounds.

The objective of this work was to discuss the contribution of the means of biological diagnosis with the development of the epidemiological, clinical, paraclinical, therapeutic and evolutionary characteristics of cases of visceral infantile leishmaniasis. This was a retrospective study carried out at the Department of Parasitology Mycology of the Avicenne Military Hospital in Marrakech and the Pediatric Department at the Marrakech University Hospital Center over a period of 6 years from January 2010 to September 2016 , And which had collected 81 cases.

The mean age of our patients was 2.5 years (6 months to 15 years). The sex ratio M / F was 1.29. 74.95% of the cases were of rural origin. The triad fever, paleness, splenomegaly was found in 97.5% of cases

The hemogram revealed anemia in all cases, leukopenia and thrombocytopenia in 55.85% and 95.78%, respectively. Inflammatory evidence showed positive CRP in 88% of cases and accelerated SV in 57.65% of cases.

The presumptive assessment revealed certain biological atypias (Absence of thrombocytopenia and leuko-neutropenia in respectivelyCRP normal in ... and non-accelerated VS in ..) which can be misleading and thus constitute diagnostic traps.

The diagnosis was retained after evidence of leishmaniasis in the medullary blood in 76.54% of patients. The serological techniques using ELISA, IFI and Western blot recovered and confirmed the diagnosis in 23.46% of the remaining cases

An evaluation of the performance of the direct and indirect technicaldiagnostic adopted in the study was carried out. It confirmed the superiority of the direct examination which remains the diagnostic reference method but which must be supplemented by serological methods for a better diagnostic approach. IT-LEISH which is a rapid diagnostic test newly marketed should not be used on its own and should be interpreted with caution. Real-time PCR is the best way to diagnose and monitor visceral leishmaniasis

Therapeutic management was based initially, in all patients, on N-Methyl Glucamine (GLUCANTIME®), administered intramuscularly with clinical and biological monitoring.

The cure after the first cure was noted in 88.88% of the cases. We deplored 9 deaths.

This study highlights the undeniable role of the laboratory of parasitology in the diagnosis of visceral leishmaniasis and the importance of the collaboration between clinicians and biologists for a good management of this parasitic disease.

ملخص

في المغرب داء الليشمانيات الحشوي الطفلي هو مرض طفلي تتسبب فيه طفيليات ذات اسواط من جنس الليشمانيا. وينتقل المرض عن طريق لدغة حشرة تمتص الدم تسمى ذبابة الرمل . يصيب هذا المرض خاصة الاطفال صغار السن من الفئات المعوزة.

وكان الهدف من هذا العمل مناقشة مساهمة وسائل التشخيص المختبري مع التركيز على الخصائص الوبائية والسريرية والعلاجية والتطورية لحالات داء الليشمانيات الحشوي. وكانت هذه دراسة استعادية أجريت في مصلحة الأطفال بالمستشفى الجامعي محمد السادس بمراكش و مصلحة الطفيليات والفطريات بالمستشفى العسكري ابن سينا بمراكش في الفترة الممتدة بين 2010 و 2016 تم تسجيل 81 حالة مرضية ، و بلغ معدل العمر سنتان و نصف مع 15 سنة كعمر اقصى و 6 أشهر كعمر ادنى . بلغ معدل الجنس 1,29 . أغلب الحالات كانت من العالم القروي بمعدل 74,95%.

التلائية "حمى-شحوب-تضخم الطحال" تمثلت عند 97,5% من الحالات. أظهر تعداد الدم فقر الدم في كل الحالات، نقص الكريات البيض والصفائح في 55.85% و 95.78% على التوالي. وأظهرت اختبارات التهابات: بروتين سي التفاعلي إيجابي في 88% من الحالات وتسارعت VS في 57.65% من الحالات.

تم التشخيص بعد تحديد الليشمانيا في الدم النخاعي في 76.54% من المرضى. سمح الأمصال باستعادة وتأكيد التشخيص في 23.46% من الحالات الباقية.

وأجري تقييم أداء تقنيات التشخيص المباشرة وغير المباشرة المستخدمة في الدراسة الذيأكد تفوق الفحص المباشر الذي لا يزال المرجع التشخيصي الأفضل ولكن يجب أن تستكمل الطرق المصلية للنهج تشخيص أفضل.

LEISH-IT لا ينبغي أن تستخدم وحدها، ويجب أن تفسر بحذر. في الوقت الحقيقي البيولوجيا الجزيئية-PCRTR) هو أفضل وسيلة لتشخيص ورصد داء الليشمانيات الحشوي.

اعتمدت الخطة العلاجية أساسا على دواء الغليكانتيم المحقون في العضلات، مع مراقبة سريرية و بيولوجية. بلغ معدل الشفاء بعد الجرعة الأولى 88,88%. و نأسف 9 حالات وفاةالذين تم تسجيلهمهذه الدراسة تسلط الضوء على دور لا يمكن إنكاره لمختبر علم الطفيليات في تشخيص داء الليشمانيات الحشوي وأهمية التعاون بين الأطباء وعلماء الأحياء لإدارة جيدة لهذا المرض الطفيلي.



ANNEXES

ANNEXE 1 : Fiche d'exploitation .

Fiche d'Exploitation

**Leishmaniose viscérale, aux services de parasitologie de l'HMA et de Pédiatrie
CHU Med VI ,Marrakech**

Identité :

- Nom et Prénom : IP:
 - Age :
 - Sexe : M F
 - Origine géographique : Ouarzazat Zagoura Demnat Marrakech
 - Autre à Préciser :
 - Milieu : Urbain Rural
 - Niveau socioéconomique : Bas Moyen Haut
 - Num de Téléphone :
 - Adresse :
-

Motif de consultation :

Fièvre Prolongée Pâleur Distension abdominale
 Autre Préciser :

Clinique :

• *Signes Fonctionnels :*

Fièvre : oui Non
 Régulière Anarchique
 Distension Abdominale : Oui Non
 Pâleur : Oui Non

• *Signes Physiques :*

Etat général :

Température : Fébrile Apyrétique
 Poids :.Kg Normal Surpoids - 2DS -3DS
 Taille :cm Normal -2DS -3DS
 Signes de dénutrition : Oui Non
 Splénomégalie : Oui Non

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

Hépatomégalie : Oui Non

Adénopathies : Oui Non

Signes d'insuffisance hépatocellulaire :

Biologie :

- NFS,pq :

Hb :.....g /dl, Normal Anémie

<4 4<<7 >7

Si anémie :CCMH :..... TCMH :..... /

Normochrome Hypochrome

VGM :.....

Microcytaire Macrocytaire Normocytaire

Réticulocytes :..... Régénérative A régénérative

Plaquettes :.....

Normaux Thrombopénie

<50000 50000<<150000 >150000

GB :.....

Normaux Leucopénie Modérée Leucopénie Sévère

PNN :.....

Normaux Neutropénie modérée Neutropénie sévère

Lymphocytes :.....

Normaux Lymphopénie modérée Lymphopénie Sévère

CRP :..... Positive Négative

VS :..... Normale Accélérée

Protidémie :..... Normale Hypoprotidémie Hyperprotidémie

Electrophorèse des protéines : Non faite Faite

Si faite :.....

Médullogramme :

Présence de corps de leishmanies à l'examen direct

A la culture

Présence de leishmanies au Sang Périphérique :

Leucoconcentration Culture

Sérologies : Faite Non faite

Positive Négative Si P, Taux :.....

IFI ELISA TDR WB

Traitement :

Traitement spécifique : Date du début :.....

Glucantime :

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

Dose : 20mg/Kg <20mg /Kg
Durée : 21 j >21j <21j

Evolution :

Favorable : Oui Non

Déferescence :j

SPM : Régression progressive Stationnaire Augmentation

.....

Atteinte Hématologique :

Amélioration Stationnaire Augmentation

Grave : Oui Non

Si oui : D'emblée Au cours de l'évolution

A J.....

Suivi :

SPM :.....

Atteinte hématologique :.....

Annexe 2 : Généralités :

● HISTORIQUE :

- En 1900, Sir William LEISHMAN eut découvert l'agent de la leishmaniose dans des frottis de la rate d'un soldat mort de fièvre à Dum-Dum en Inde [46,47,48]. Les résultats de cette découverte n'ont été publiés qu'en 1903.
- La même année, Charles Donovan identifia le même parasite dans une biopsie de rate. Ce parasite fut nommé leishmania Donovanii.
- En 1904, Rogers [49] décrit dans une culture in vitro de sang citraté des formes flagellées, probablement des promastigotes.
- En 1909, Nicolle décrit L.infantum en Afrique du nord et en 1913, Chagas identifia la maladie, tandis que Migone retrouva le parasite, appelé L.chagasi, en Amérique du sud. Toutefois, il s'avère qu'actuellement L.chagasi appartient au même type parasitaire que L.infantum et L. Donovanii [50,51,52]
- La L.chagasi est en fait L.infantum du bassin méditerranéen qui a été probablement importée par les colons espagnols de l'Amérique du sud au XV^{ème} siècle par le biais des chiens ou des rats.
- La transmission par le phlébotome a été découverte en Inde en 1924 par les frères Sargent pour L.donovani et au Maghreb en 1926 par Parrot et Donatien pour L.infantum. Ces deux derniers ont démontré les huit années suivantes le rôle des chiens dans le cycle de L.infantum [46,56,54].
- Au Maroc, Remlinger rapportera la première observation de leishmaniose infantile en 1913 et la publia en 1921. D'autres observations ont été rapportées : à Meknès par Kippel et Monier-Vinard en 1922, à Ouazzane par Fabien Luengo en 1929 et à Kalâat Sraghna par Blanc en 1933 [54,55,56].

- Gaud (1935) et Blanc (1940) ont remarqué l'extrême rareté de la leishmaniose viscérale au Maroc et se demandaient s'il s'agissait d'une rareté ou d'une méconnaissance de la maladie.
 - A partir de 1957, plusieurs travaux ont été réalisés. En effet, Cadi Soussi, M. et al. (1974) ont étudié la répartition géographique de la leishmaniose viscérale et cutanée au Maroc.
 - Agoumi A. et al. ont proposé de leur part une mise au point sur le profil épidémiologique de la leishmaniose viscérale humaine au Maroc pendant la période 1975–1989.
 - A partir de Mars 1995, les leishmanioses sont devenues des maladies à déclaration obligatoire ce qui a permis une meilleure connaissance de leur profil.
-
- **PARASITOLOGIE :**

Classification taxonomique :

- Embranchement : Sarcomastigophora
- sous embranchement : Mastigophora
- Classe : Zoomastigophora
- Ordre : Kinetoplastida
- Famille : Trypanosomatidae
- Genre: Leishmania

Cette classification repose sur des critères morphologiques. Cependant les sous divisions du genre leishmania en espèces ou en sous espèces nécessitent un typage moléculaire ou biochimique.

En effet, l'électrophorèse des iso-enzymes constitue aujourd'hui la méthode la plus courante pour l'identification des souches de leishmania et l'élaboration des classifications

phénétique et phylogénétique, déterminant ainsi des zymodèmes de chaque espèce. [55,56,57,58].

La leishmaniose viscérale est due au complexe leishmania donovani.

Celui -ci est composé de : [48,55]

- leishmania donovani donovani
- leishmanie donovani infantum
- leishmania donovani chagasi
- leishmania donovani archibaldi

Agent pathogène :

Le parasite est un protozoaire flagellé sanguicole, qui présente au cours de son cycle deux stades évolutifs distincts. [56,109,61]

- **Le stade promastigote** : sont des parasites extracellulaires, mobiles vivants dans le tube digestif de diptères hématophages piqueurs, connus sous le terme générique de phlébotome. Ils présentent un corps plus ou moins fuselé de 5 à 20µm de longueur et 1 à 4µm de largeur, prolongé par un flagelle qui peut atteindre jusqu'à 20µm de longueur et qui émerge de leur pôle antérieur. Dans ces formes parasitaires le kinétoplaste, une partie spécialisée du compartiment mitochondrial qui contient l'ADN de cet organite, est située entre le noyau et la base du flagelle[57].

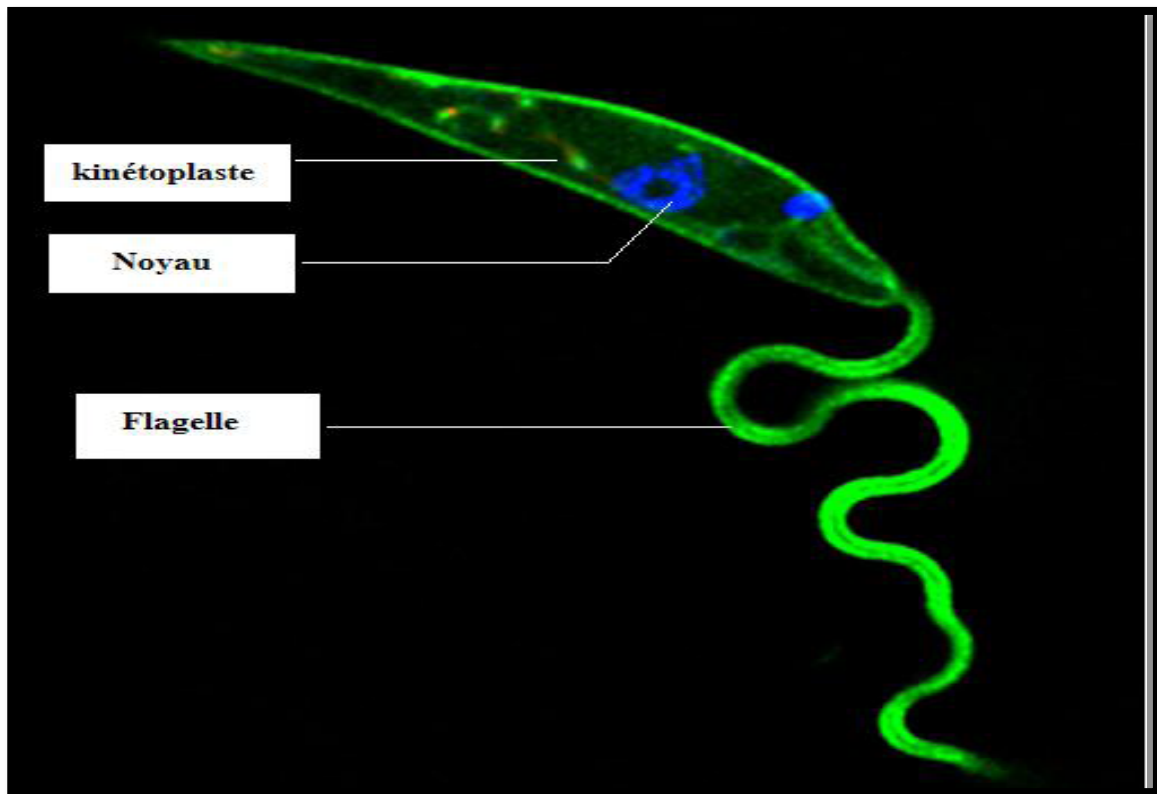


Figure 18: forme promastigote

- **La forme amastigote:** le parasite est un petit corpuscule arrondi ou ovalaire de 2 à 6 μm de diamètre, le noyau occupe le tiers du cytoplasme et le kinétoplaste est situé tout près du noyau, le flagelle est réduit à sa portion cytoplasmique. Le parasite est immobile et intracellulaire dans les cellules du système des phagocytes mononuclés. [57,61]

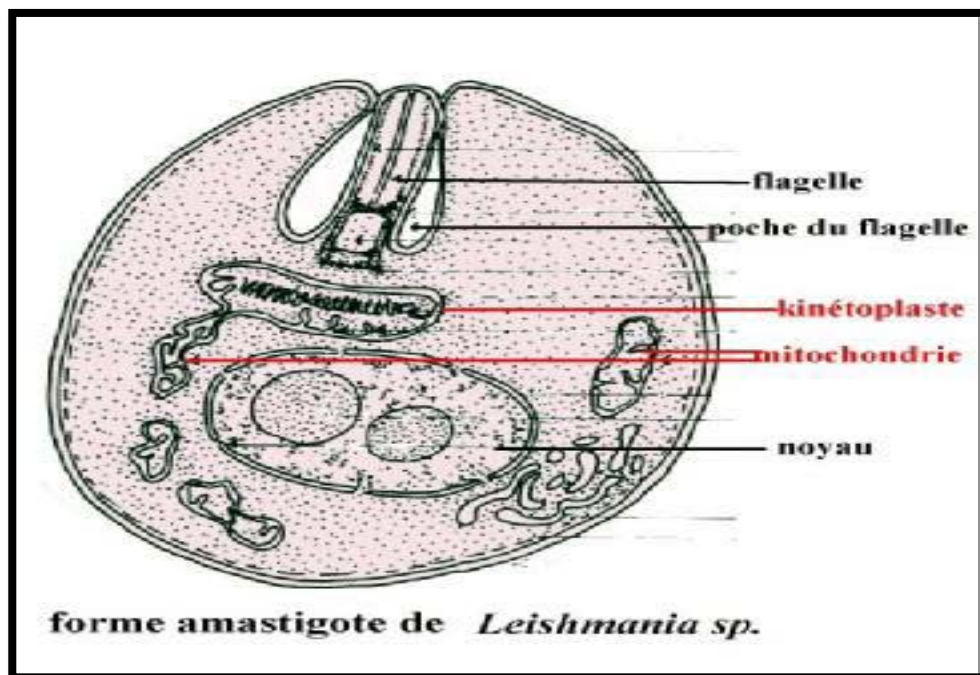


Figure 19: Ultra-structure d'une forme amastigote

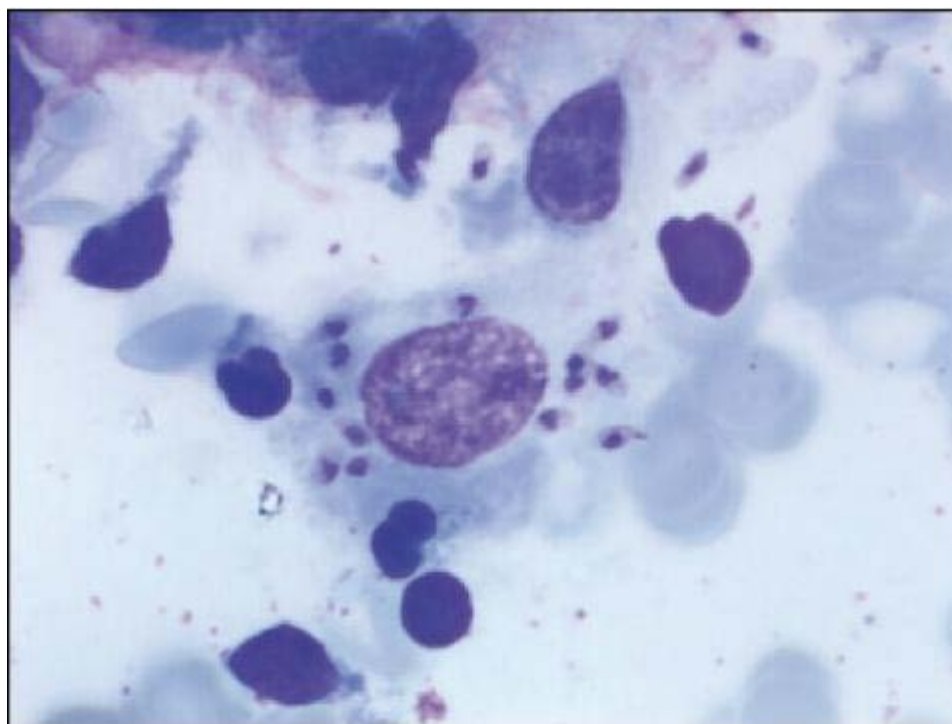


Figure 20: Forme amastigote

Vecteur :

L'insecte vecteur est un petit diptère velu, bossu, de 2 à 3 mm de taille, seule la femelle est hématophage. La piqûre est douloureuse. Son rayon de vol est court et ne dépasse pas 50 à 100m sauf en cas de vent.

Les larves se développent dans le sol ou dans les anfractuosités des murs et de pierres sèches où une humidité de 70% leur est favorable.

Leurs genres sont différents en fonction du continent. En Europe et dans le pourtour méditerranéen, il s'agit du genre phlebotomus et en Amérique du Sud des genres Lutzomyia et Psychodopygus. Chez cet hôte, les parasites sous forme amastigote présents dans le repas sanguin vont se transformer dans le tube digestif en promastigotes. Ils vont se multiplier pour aboutir au 9ème jour à une présence massive de promastigotes dans le pharynx de l'insecte, bloquant l'intestin. Il y a régurgitation du repas sanguin emportant les parasites. Un écrasement du phlébotome aboutit au même résultat en libérant des formes promastigotes infectantes, capables d'infester les macrophages. Ces formes disposent de lipophosphoglycane et une glycoprotéine à activité protéinase, indispensables au parasitisme.[62-63-64]

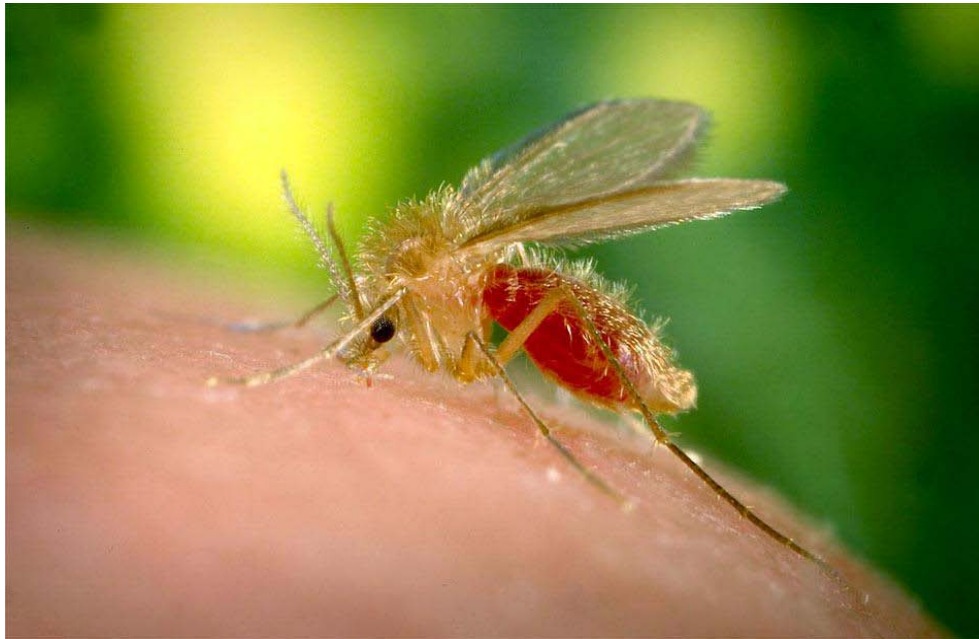


Figure 21 : Phlébotome

Réservoir du parasite [53]:

Selon les espèces et les régions, on distingue 3 types de foyers :

- foyer primaire : le réservoir est constitué par la faune sauvage (rongeurs, renard) c'est une zoonose ; les cas humains apparaissent de façon sporadique avec localement des poussées épidémiques.
- foyer secondaire :
Il s'agit d'une zoonose. Le réservoir se compose d'animaux domestiques et la maladie évolue sous forme endémique (LV méditerranéenne)
- foyer tertiaire : l'homme est à la fois le réservoir et le vecteur; il s'agit d'une anthroponose, la maladie est endémo-épidémique (kala azar indien due à *L. donovani*).

Transmission:

La piqûre infestante du phlébotome représente le mode habituel de contamination.

D'autres modes de contamination plus rares ont été décrits. Il s'agit de la transmission par les transfusions sanguines ou les greffes d'organes ou encore par l'utilisation commune de seringues et aiguilles non stérilisées par les toxicomanes.

Des cas exceptionnels de transmission transplacentaire ont été rapportés également.

[66,67,68,69,70]

Cycle évolutif du parasite [63–64] :

C'est un cycle hétéroxène présentant deux hôtes, un hôte invertébré(phlébotome) et un hôte vertébré (homme, chien, renard...).

C'est au cours du repas sanguin pris sur un animal ou un sujet infecté que lephlébotome absorbe les leishmanies sous la forme amastigote, parasiteintracellulaire du système réticulo-histiocytaire du sang et de la peau des vertébrés.

La rupture des cellules hautes intervient au cours de l'ingestion et les amastigotes sont libérées.

Chez les insectes, le repas sanguin est rapidement entouré par la membranepéritrophique secrétée par les cellules intestinales abdominales.

En effet, au cours des 24–48h qui suivent le repas sanguin, les leishmanies se multiplient une ou deux fois dans l'intestin du phlébotome sous la formeamastigote. Il semblerait qu'il existe dans le sang de l'hôte vertébré un facteur inhibant leur transformation en forme promastigote qui ne pourrait intervenir qu'après destruction de ce facteur par les enzymes protéolytiques secrétées par l'insecte. Ainsi, ce n'est qu'après ce temps de latence que les formes promastigotes apparaissent et se multiplient. Au bout de 3 à 4 jours, elles s'échappent de la membrane péritrophique qui est déchirée et gagnent leur lieu de multiplication qui varie en fonction de l'espèce de leishmanie.

Les phlébotomes infectés ont des difficultés à prendre leurs repas sanguin, ce qui peut être un facteur de multiplication des piqûres et donc l'augmentation du risque de transmission.(Figure 9)

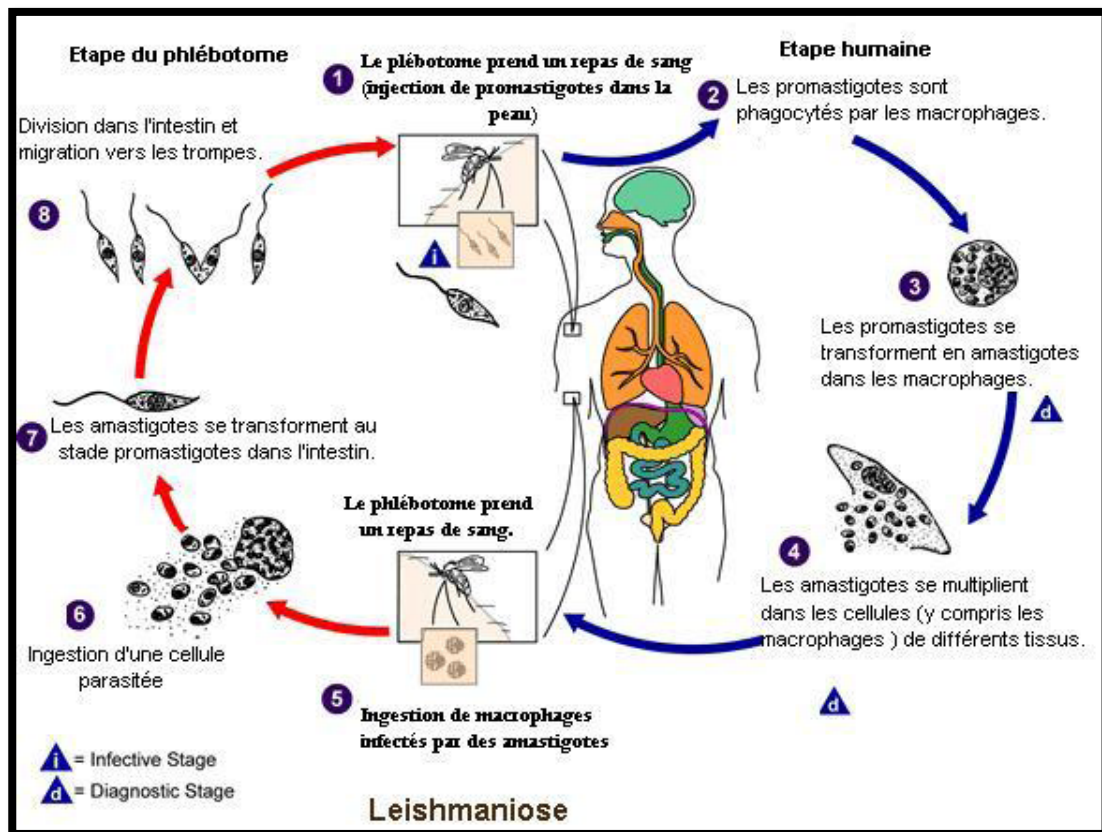


Figure 22 : Cycle de vie du parasite

- IMMUNITE ET INVASION PARASITAIRE : [56,64]

Non spécifique :

Le phlébotome télmophage, par régurgitation libère le promastigote métacyclique au site de la piqûre.

Une réaction inflammatoire déclenche et entraîne l'activation des protéines du complément par la voie classique et la fixation du C3 sur la membrane de la leishmania et son clivage en C3b. Le C3b se fixe soit sur le LPG, soit sur la gp63 et induit la destruction de la

membrane par formation du complexe lytique C5b6789. Le parasite riposte par la protéolyse du C3b en C3bi par la protéine gp63 et une protéine kinase les inactive par phosphorylation. Le LPG bloque l'accès au complexe lytique.

Les parasites qui ont échappé à la lyse par le complément sont soumis à l'action des macrophages qui portent à leur surface des récepteurs pour les fractions C3b et C3bi ainsi que des facteurs pour le fragment FC des immunoglobines. Les parasites opsonisés sont ainsi phagocytés. Ils se multiplient dans la vacuole parasitophore, pH et température leur sont favorables. Les macrophages envahis induisent la production de facteurs chimiotactiques et de cytokines (TNF γ , IL). Le métabolisme oxydatif produit des dérivés de l'oxygène et du monoxyde d'azote, toxiques pour les parasites.

Là encore, les leishmanies peuvent contrer cette action en bloquant les voies de signalisation dépendant de la protéine kinase C et en inhibant la production des dérivés toxiques par le LPG et la gp63.

Spécifique :

Les macrophages présentent les antigènes apprêtés associés aux molécules du CMH de classe I aux lymphocytes TCD8 (cytotoxiques) et associés aux molécules du CMH de classe II, aux lymphocytes T CD4+ helpers, qui sécrètent de l'INF (interféron). Mais pour une réponse amplifiée, l'expansion des lymphocytes T CD4+ est nécessaire.

L'épiderme contient des cellules de Langerhans et des cellules dendritiques. Celles-ci migrent dans le derme où se trouvent des fragments de parasites et les parasites qui ont échappé à la destruction, et les phagocytent.

Elles se dirigent alors vers le ganglion lymphatique drainant le site de l'infection et présentent les peptides des antigènes sous forme de complexes stables associés aux molécules

du CMH de classe II. Des modèles expérimentaux ont permis de déterminer l'expansion des lymphocytes T antiparasites de type Th1 dans la zone T du ganglion. Ces cellules apparaissent ensuite dans la circulation sanguine, la rate et le foie.

- Ces lymphocytes sécrètent de l'INF γ .
- Les cellules NK sont également activées sous l'action de la cytokine IL- 12 sécrétée par les cellules dendritiques. Ces cellules activées sécrètent de l'INF γ .
- -Une molécule de la famille des TNF- α est exprimée à la surface des lymphocytes Th1, et son récepteur à la surface des macrophages, augmenté par l'interféron. Cette molécule induit la mort par apoptose.

Résultats de cette activation :

- Destruction des macrophages infectés et relargage des amastigotes dans le milieu extracellulaire.
- Cette activation entraîne l'induction de la synthèse de l'enzyme iNOS (NO synthase) qui catalyse la synthèse du monoxyde d'azote (NO) toxique pour les leishmanies.

ANNEXE 3 : Traitement des leishmanioses

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

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

ANNEXES 4 :Prévention :[65]

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

La prophylaxie individuelle :

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

La prophylaxie collective :

La lutte anti-vectorielle diminue le risque de contamination mais n'a pas amené de succès durables à l'échelle des populations. Elle comporte la lutte contre les vecteurs par des insecticides à activité rémanente à l'intérieur et autour des habitations (sans oublier la niche du chien, les murs de pierre, ainsi que les poulaillers et clapiers où se reproduisent les phlébotomes...).

Elle doit tenir compte des différences de comportement des vecteurs liées aux différences d'espèces. L'utilisation massive de DDT (diméthylchloro.....) ou d'autres molécules a montré une efficacité certaine.

L'aspersion péridomiciliaire de répulsifs, si le vecteur est domestique, a montré une efficacité partielle, au moins dans la leishmaniose cutanée, mais il est difficile à appliquer sur de longues périodes.

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

La vaccination :

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

ANNEXE 5 : Programme de lutte contre les leishmanioses [71]

1.Objectifs du Programme :

- ✓ Objectifs Généraux :
 - Prendre en charge de manière précoce les cas de leishmaniose viscérale
 - Circonscrire et contrôler la maladie dans les foyers de leishmanioses cutanées.
- ✓ Objectifs spécifiques :
 - Organiser les activités de surveillance et de dépistage clinique et parasitologique selon le type de leishmaniose.
 - Prendre en charge en milieu hospitalier et assurer le suivi de tous les cas de leishmaniose viscérale.
 - Traiter en ambulatoire par des soins locaux et / ou par un traitement au Glucantime les atteintes cutanées .
 - Entreprendre des actions de lutte préventive contre le vecteur et le réservoir.
 - Assurer le recyclage et la formation des microscopistes ;
 - Organiser des journées d'information et de sensibilisation au profit du personnel de santé et de la population exposée au risque.

2.Population cible :

Population rurale exposée

3.Stratégie et activités développées par le programme :

- Le dépistage et le traitement des cas de leishmaniose ;
- La lutte contre le réservoir par des actions chimiques et physiques ;
- La lutte contre le vecteur par des actions chimiques ou physiques ;
- Le renforcement de la collaboration intersectorielle avec les départements ministériels de l'Intérieur et de l'Agriculture ;
- L'éducation sanitaire des populations des zones à risque pour les sensibiliser au problème des leishmanioses et les inciter à participer à la lutte contre la maladie.

4.Principaux indicateurs :

- Taux d'incidence par type de leishmaniose.
- Taux de réalisation des différentes activités.

5.Les principales activités à développer en 2014

- Renforcement de l'action intersectorielle de lutte contre les leishmanioses (action 213)
- Evaluation de la stratégie
- Elaboration d'un plan intersectoriel.

Apport du laboratoire au diagnostic de la leishmaniose viscérale : Experience du service de Parasitologie de l' Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech .

- Prise en charge de qualité des cas de leishmaniose (action 214)
- Formation, information et recyclage du personnel notamment les microscopistes et les techniciens d'hygiène,
- Dotation des provinces en médicaments, matériel et réactifs nécessaires.

6.Partenaires

- Le ministère de l'Intérieure
- Le ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime.
- L'O.M.S.



BIBLIOGRAPHIE

1. **ANOFEL**
Leishmanioses.
Association Françaises des Enseignants de parasitologie et mycologie, 2014.
2. **P. Aubry.**
Leishmanioses
Diplôme de médecine tropicale des pays de l'océan indien, 2015, P 01-08.
3. **El Alami S.**
85 années de leishmaniose au Maroc.
Thèse de Medecine n°25/09.Faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat.
4. **Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies.**
Etat d'Avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires 1997 :47-53.
5. **Agoumi A., Rouichi A., Lahrech T.**
Mise au point sur le profil épidémiologique de la leishmaniose viscérale humaine au Maroc (1957-1989).
Maroc Med 1991,13; 5-10
6. **Aroui S.**
Profil épidémiologique de la leishmaniose viscérale dans la région du Gharb-Chrarda-Beni hssen.
Thèse de médecine n°76 /2006 Faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat..
7. **Meyruey M., Mallecourt J, et Chaoui R.M.**
Les leishmanioses au Maroc.
Bulletin de la société de pathologie exotique1974 ; 67:617-623.
8. **Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies.**
Etat d'Avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires 2000 : 47-57.
9. **El Baroudi H.**
Ecoépidémiologie de la leishmaniose viscérale au Maroc .
Thèse de Médecine n°26/14.Faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat1-08.
10. **Zait H., Ferhani Y., Achir I., Hamrioui B.**
Étude de 71 cas de leishmanios viscérale diagnostiqués au CHU Mustapha d'Alger entre 1998 et 2009.
Méd et Mal Infect 2012;42:119-125.

11. Minodier P., Garnier J.M.

La Leishmaniose Viscérale Infantile En Provence.
Arch pediatr 2000 ;7,3:572-577.

12. Tamimy H.

La leishmaniose viscérale infantile (à propos de 73 cas).
Thèse de médecine .n°89/11.Faculté de médecine et de pharmacie de Fès.

13. Lakhdar Idrissi M., EL Ouardi M., Atmani S., Elarqam L.,Bouharrou A., Hida M.

La leishmaniose viscérale infantile : à propos de 209 cas.
Journal de pédiatrie et de puériculture 2007, 20 ;136-141

14. Zougaghi L., Moutaj R., Chabaa L., Agoumi A.

Leishmaniose viscérale infantile : profil épidémiologique, clinique et biologique. À propos de 93 cas.
Arch pediatr 2009 ;16:1513-1518.

15. W. Aissi , K. Ben Hellel ,Z. Habboul -

Profils épidémiologique, clinique et biologique de la leishmaniose viscérale infantile à l'hôpital de Kairouan (Tunisie) : à propos de 240 cas.
Bull. Soc. Pathol. Exot 2015 ;108,4 :265-271.

16. Boussa S.

Epidémiologie des leishmanioses dans la région de Marrakech, Maroc : effet de l'urbanisation sur la répartition spatio-temporelle des Phlébotomes et caractérisation moléculaire de leurs populations.
Thèse Présentée pour obtenir le grade de Docteur de l'université Louis Pasteur Strasbourg I 2008.

17. Aoun K., Jeddi F., Amri F., Ghrab J., Bouratbine A.

Actualités épidémiologiques de la leishmaniose viscérale en Tunisie.
EMC. Med Mal Infect 2009 ; 39 (10) 775-779.7

18. Balhamitou A.

La leishmaniose viscérale infantile à l'hôpital provincial de tétouan (à propos de 42 cas).
Thèse de Médecine n°46/13.Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat.

19. Sinha .P.K et coll.

Visceral Leishmaniasis (Kala-Azar) the Bihar (India) perspective.
Journal Of Infection. 2005, 10: 1-5.

20. Amrani M , Lahloua H, Alami M, Filali A, El Youssfi G, Ismaili L, Chaouki S, Atmani S, Hida M .

Aspects biologiques de la leishmaniose viscérale infantile: À propos de 31 cas diagnostiqués sur 10 mois au laboratoire d'hématologie du CHU Hassan II de Fès (Maroc).
Rev Frdes labo 2011 ;429 :55-60

21. Marty P.

Leishmaniose viscérale : épidémiologie, diagnostic et traitement.
La Lettre de l'Infectiologue 2010

22. Arezki I .

Diagnostic de laboratoire des leishmanioses rencontrées en Algérie.
Revue francophone des laboratoires , novembre 2007

23. E. Chouih a,1, F. Amri b,2, N. Bouslimi a,1, E. Siala a,c,3, K. Selmi a, N. Zallagua c,4, R. Ben Abdallah a,c,5, A. Bouratbine a,c,6, K. Aoun .

Les cultures sur milieu NNN dans le diagnostic biologique des leishmanioses.
Laboratoire de parasitologie clinique, institut Pasteur, 1002 Tunis, Tunisie mars 2008.

24. Buffet. Leishmanioses cutanées ;

Revue de médecine
suisse ; 98-395-A-15 ; 2008.

25. Dedet. J.P.

Les leishmanioses
Ed, Ellips Paris 1999.

26. Singh S1.

New developments in diagnosis of leishmaniasis
Indian J Med . Res. 2006 Mar;123(3):311-30.

27. Sandrine Houzéea,* , Luc Parisb,

Apport des tests de diagnostic rapide en parasitologie : intérêt et limites,
REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES – JUILLET/AOÛT 2015.

28. M Wery

*Livre protozoologie,
Editeur de Boeck, vo 1279 ,P 127*

29. Mancianti F1, Meciani N .

*Specific serodiagnosis of canine leishmaniasis by indirect immunofluorescence, indirect hemagglutination, and counterimmunoelectrophoresis
Am J Vet Res. 1988 Aug;49(8):1409–11.*

30. D. Benyahia.

*Mise au point de la leucocytoconcentration et son application dans le diagnostic de la leishmaniose canine et la leishmaniose viscérale humaine
Mémoire de fin d'étude de résidanat en parasitologie mycologie médicale, 2008–2009*

31. L. Rezalleh.

*Evaluation in vitro de l'activité antileishmanienne de Pistaciaatlantica de deux régions de sud algérien Laghouat et Ain oussara,
Mémoire de fin d'étude de résidanat en parasitologie mycologie médicale, 2008–2009.*

32. P. Bouree , F. Botterel , P. Resende .

*Sérologies parasitaires en pratique courante :intérêt et limites ;
Revue Française desLaboratoires,octobre2004,N° 366 ; P 51–57–59.*

33. Gidwani K, Rai M ,Chakravarty J et all .

*Evaluation of leishmanin skin test in Indian visceral leishmaniasis.
Am J Trop Med Hyg. 2009;4:566–7.*

34. B. Faucher, R. Piarroux ,

*Actualités sur les leishmanioses viscérales,
Volume 32, Issue 9,September 2011, Pages 544–551, P 547.*

35. T. H. Duong, D. Richard–Lenoble.

*Diagnostic des parasitoses à parasites sanguicoles,
Volume 2008, Issue 399, February 2008, Pages 29–39.*

36. C. Rapp, R. Roui.

*Les leishmanioses.AKOS
Encyclopédie pratique de médecine ; 4–1310,2001 ; p5.*

37. I.Djezzar–Mihoubi.

Etude des leishmanioses diagnostiquées au centre hospitalo universitaire ben baddis de constantine
Thèse en vue de l'obtention du diplôme : doctorat d'état es-microbiologie, 2006

38. Y.Jabourri.

Profil épidémiologique, thérapeutique et évolutif de la leishmaniose cutanée (à propos de 52 cas), 2013.

39. E. Rosenthal, P. Marty.

Actualités sur la leishmaniose viscérale méditerranéenne,
Volume 30, Supplement 2, June 2009, Pages S24–S28.

40. . Association française des enseignants de parasitologie et mycologie médicales.

Livre Abrégés de parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales,
2ème édition. P 83–90

41. Nathalie C, Marianne Ct, Pauline G.

La leishmaniose viscérale : épidémiologie, diagnostic, traitement et prophylaxie. *Journal de pharmacie clinique* 2010 ;29 :121–148.

42. Ministère de santé .

Direction de la Planification et des Ressources Financières Division de la Planification et des études Service des Etudes et de l'Information Sanitaire.
Santé en chiffre :2013 édition

43. Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies.

Etat d'Avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires 2000 : 47–57.

44. Moufarreh M.

Profil Clinique et thérapeutique de la leishmaniose viscérale infantile à chefchaoun (à propos de 47 cas).
Thèse de Médecine. Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat.

45. Nery Costa H, Werneck L., Costa L et al.

Is Severe visceral leishmaniasis a systemic inflammatory response syndrome? – A case control study.
Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2010 ,43(4):386–392

46. Rhajaoui M.

Les leishmanioses humaines au Maroc : une Diversité nosogéographique.
Pathologie Biologie 2011, 59, 226–229.

47. Lagardere B . Chevalier B., CHERIET R.

Le Kala- Azar .

Ann. Pédiatr. 1992, 39, N° 3, 159-164

48. Djeddar -Mihoubi

Etude des leishmanioses diagnostiquées au CHU Ben Baddis.

Thèse des sciences de la nature et de la vie.N° de Série : 06/ SN/ 2006 .Faculté des sciences de Constantine,.

49. .El ouardi M.

Le profil épidémiologique de la leishmaniose viscérale dans le service pédiatrie de l'hôpital Ibn Khatib de Fès entre 1998/2000 .

Thèse de médecine n°273/ 2002. Faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat.

50. Dedet J-P. Leishmaniose viscérale.

La revue du praticien 1996, 10,35- 38.

51. Agoumi A., Rouichi A., Lahrech T.

Mise au point sur le profil épidémiologique de la leishmaniose viscérale humaine au Maroc (1957-1989).

Maroc Médicale. 1991 ; 13 :1,5,10.

52. .P. Dedet

Les Leishmanioses.

Encycl. Méd. Chir. Maladies infectieuses, 8094 A10, 4, 2001,8.

53. P Dedet :

Leishmaniose viscérale.

La revue du praticien 1996 ;10 : 35-38

54. Agoumi A., Tligui H., Aarab H. et al.

Leishmanioses .Precis De Parasitologie Médicale.

collection Medika 2003 ;50-62.

55. Guillaume Viviane.

Leishmanies.

Parasitologie Sanguine, Biologie Médicale Pratique 2009 :35-43

56. Dedet J-P.

Leishmanies, leishmaniose biologies clinique et thérapeutique.

EMC. Maladies infectieuses ,8-506-A-10 ,2009

57. Cabas D ., Danis M. , Guiguen C. , Richard-Lenoble Det al.
Leishmanioses.
Parasitologie et mycoses des régions tempérées et tropicales ; 2007 : 78-86.
58. Faucher B., Piarroux R
Actualités sur la leishmaniose viscérale.
La Revue De médecine interne 2011 ; 32 : 544-551.
59. .Dedet J-P.
Leishmanies, leishmanioses biologie clinique et thérapeutique.
EMC. Maladies Infectieuses 8-506-A-10, 2001 ,11P
60. ADNAOUI.M, MAANOUNI.A, KERKEB.O, BERBICH.A:
Etude de la leishmaniose viscérale de l'adulte. (a propos de 3 observations).
Maroc médicale 1986 ;9 :430- 436.
61. KATLAMA.C,REGNIER .B, BEN SALAH.N
Toxicité du Glucantime.
Ann med Interne, 1985 ;136 :321-322.
62. DEDET J-P :
Les leishmanioses.
Collection médecine tropicale 1999. 76. 227- 236.
63. Amrani M , Lahloua H, Alami M et al.
Aspects biologiques de la leishmaniose viscérale infantile. À propos de 31 cas diagnostiqués sur 10 mois au laboratoire d'hématologie du CHU Hassan II de Fès
Revue francophone des laboratoires 2011 ;429 : 55,59
64. Legardere B., Chevallie B., Cheriet R.
kala-azar.
EMC Pédiatrie, 4-350-b-1995,5p
65. MOUMNI HADJER.
Epidémiologie et diagnostic du laboratoire des leishmanioses au CHU de Tlemcen.
Thèse de médecine N :158 .2013 .Faculté de médecine de Tlemcen 2015.
66. Minodier P., Blanc P., Noel G., Garnier JM.
Modalités de transmission de la leishmaniose à l'enfant.
Méd Mal Infect 2005 ;35 : 114-116.

67. Rapp C., Roué R.

Les Leishmanioses.EMC. AKOS

Encyclopédie Pratique de Médecine 2001, 4-1310 :5.

68. Cruz I., Morales A., Noguier I., Roudriguez A., Alvar J.

Leishmania in discarded, syringes from intravenous drug users. Lancet 2002;359:1124-5

69. Kubar J., Quaranta JF., Marty JP.

*Transmission of *L.infantum* by blood donors.*

Nat Med 1997;3; 368

70. KATLAMA.C,REGNIER .B, BEN SALAH.N, PICHARD.E, VACHON.F.

Toxicité du Glucantime.

Ann med Interne1985; 136: 321-322

71. Aboudourib .M .

La leishmaniose viscérale infantile.

Thèse de médecine.N : 152.2016. Faculté de médecine et de pharmacie Marrakech.

72.LEBAD.M

Leishmaniose viscérale chez l'enfant.

Thèse de médecine.N:122.2014 Faculté de médecine et de pharmacie Telemecen

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف والأحوال

بإذلاً وسعي في استنقاذها من الهلاك والمرض والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.

وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، بإذلاً رعايتي للطبية للقريب والبعيد، للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أتاير على طلب العلم، أسخره لنفع الإنسان .. لا لأذاه.

وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنني، وأكون أخاً لكل زميل

في المهنة الطبية متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سرّي وعلانيتي ،

نقية مما يشينها تجاه الله ورَسُولِهِ وَالْمُؤْمِنِينَ.

والله على ما أقول شهيد

مساهمة المختبر في
تشخيص داء الليشمانيات الحشوي : تجربة مصلحة الطفيليات والفطريات
بالمستشفى العسكري ابن سينا بمراكش

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 23/11/2016

من طرف

السيدة الغيدي مريم

المزودة في 26/7/1990 بأكادير

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

-الليشمانيا الطفلية- الطفل-التشخيص - علم الأحياء-طرق-داء الليشمانيات الحشوي
مراكش - المغرب

اللجنة

الرئيس

السيد م. شكور

أستاذ في أمراض الدم

المشرف

السيد ر. متاج

أستاذ في علم الطفيليات و علم الفطريات

السيد ع بوخيرة

أستاذ مبرز في علم الأحياء

القضاة

السيدة ع. بورهوات

أستاذة مبرزة في طب الأطفال

السيد ح. قصيف

أستاذ مبرز في الطب الباطني