

MINISTÈRE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE,  
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

République du Mali  
Un peuple - Un but - Une foi



Année universitaire 2007-2008

Thèse N° \_\_\_\_\_ / M

**TITRE :**

*Etude de l'incidence de l'exposition au parasite et les aspects épidémiocliniques de la leishmaniose cutanée en zone endémique de Barouéli (Kéména et Sougoula) Région de Ségou (MALI)*

*Thèse présentée et soutenue publiquement le...../..../.2008 devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako  
par Monsieur Souleymane Sékou Diarra  
pour l'obtention du grade de docteur en Médecine  
(DIPLOME D'ETAT).*

***Jury:***

*Président : Professeur Agrégé Amagana DOLO*

*Membre: Docteur Ousmane FAYE*

*Docteur Mamadou DIAKITE*

*Co-Directeur : Docteur Seydou DOUMBIA*

*Directeur : Professeur Somita KEITA*

# DEDICACES ET REMERCIEMENTS

## DÉDICACES

### À L'ÉTERNEL MON DIEU

**Pour ce souffle de vie que tu m'as donné et pour m'avoir permis de réaliser mon rêve je te dis merci.**

Ce travail est la consécration de plusieurs années d'étude au cours desquelles désillusion, découragement et succès ont été tour à tour au rendez-vous. Au fil des années, cette impatience s'est émoussée mais la soif de connaissance est demeurée intacte.

### À MES GRANDS PARENTS

In Memorium

### À MON PÈRE SÉKOU DIARRA

Ce travail est également le tien et que par lui tu sois fier de moi. Que le miséricordieux te prête longue vie

### À MA MÈRE KONSE COULIBALY

Tu as été pour nous une mère exemplaire et à aucun moment nous n'avons manqué d'amour, d'affection encore moins d'attention. Tes nuits étaient des moments de réflexion et tes journées celles de tracasseries. Puisse ce travail t'honore et que le miséricordieux te prête longue vie afin que tu bénéficies des fruits de mes travaux.

### **À MES FRÈRES, SCEURS ET BELLES SCEURS**

Pour vos encouragements et votre amour. Je vous porte tous dans mon cœur et soyez certains que je serai toujours à votre disposition.

### **À MES COUSINS ET COUSINES**

Merci pour vos prières et vos encouragements.

### **À MES NEVEUX ET NIECES**

Vos sourires à chacun des mes venues et vos pleurs à chaque départ m'ont toujours motivé. Je vous adore.

### **À MES ONCLES ET TANTES**

Merci pour vos prières et vos encouragements.

### **À MONSIEUR LAMINE DIARRA ET À SA FEMME MARIAM COULIBALY À BANCONI**

Votre hospitalité et votre soutien moral m'ont été d'un grand appui. Recevez ici l'expression de toute ma gratitude et de mon affection.

### **À MON GRAND FRÈRE OUMAR DIARRA**

Vous n'avez ménagé aucun effort pour me soutenir durant ces dernières années d'étude. C'est l'occasion pour moi de vous manifester ma profonde reconnaissance pour votre engagement et votre disponibilité.

**AUX DOCTEURS ADAMA F DIARRA, MAMA MOUNKORO, KOUMOU MAKAN  
DEMBELE, BENOIT TRAORE, FATIM SOUMAORE ET AUX INTERNES  
MARIAM B DIARRA, ABDOULAYE KEITA**

Ce travail est également le fruit du travail d'équipe que nous avons effectué depuis le Lycée. Merci pour le soutien et l'amitié. Brillante carrière.

À tous ceux qui ont fait de moi l'Homme que je suis en participant de près où de loin à mon éducation et à ma formation,

**Profonde gratitude.**

## **REMERCIEMENTS**

### **Au Docteur Seydou DOUMBIA,**

Ce travail est le fruit de l'effort conjugué de toute une équipe de recherche à laquelle vous avez su inculquer l'esprit scientifique, puisse ce travail exprimer ma profonde reconnaissance et man admiration.

### **Au Docteur Massambou SACKO**

Pour votre disponibilité, je vous dis MERCI.

### **Au personnel du MRTC/DEAP**

Pour vos encouragements, et vos conseils. Profonde gratitude.

### **À l'équipe clinique du CNAM**

Pour vos sacrifices, et vos conseils. Profonde gratitude.

### **Aux collaborateurs Américains du NIH**

Merci pour tout le soutien et la franche collaboration.

**À l'équipe d'entomologie du Leishmanias Lab : Ibrim M Sissoko dit Jenski, Cheich Coulibaly, Bourama Traoré, Dr Sibiry Samaké, Prof. Constance Souko**

Pour la franche collaboration.

**Aux docteurs Nafomo Sogoba MAMADOU COULIBALY, Boubacar GUINDO,  
Mamadou B Touré dit Pélé, Danaya KONE et au Géographe Dansiné Diarra**

Merci pour vos suggestions dans la réalisation de ce travail

**Au personnel de unités de recherche GIS et Leishmanias Lab.**

Merci pour votre disponibilité dans la réalisation de ce travail, il est spécialement dédié à vous.

**Aux internes ASSATA DOLO, Cheick A KOUNTA, K. TALL, Daouda DIALLO,  
SIDBE et M'Boué DIALLO**

Pour la convivialité et la fraternité. Brillante carrière.

**À toute ma promotion,**

Tendres pensées.

**À tous les travailleurs du Centre de Santé Communautaire de  
Banconi, particulièrement aux infirmières pour la franche collaboration**

**À tous les Enseignants de la FMPOS,**

Pour toute la disponibilité et l'instruction dont j'ai bénéficié. Merci.

**Aux populations de KEMENA et de SOUGOULA**

Pour l'hospitalité et la franche collaboration. Je vous souhaite plein succès et beaucoup de santé. A tous ceux qui nous ont quitté pour répondre à l'appel du tout puissant, je leur souhaite l'éternité dans le paradis.

# **Hommages aux membres du jury**

## ➤ **A notre maître et président de jury**

Professeur Amagana Dolo.

Maître de conférences agrégé en parasitologie.

Chef de l'unité d'immunologie du MRTC.

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de présider ce jury. Votre grande expérience en parasitologie et votre rigueur dans la recherche est incontournable pour l'amélioration qualitative de ce travail. Veuillez accepter cher maître l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

## ➤ **A notre maître et juge**

Docteur Ousmane FAYE MD

➤ Spécialiste en dermatologie

➤ Chargé de recherche au Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM)

Cher maître, le temps que nous avons eu à passer ensemble nous ont permis d'apprécier vos qualités humaines et votre amour pour le travail bien fait. Vos suggestions ont été très importantes pour l'amélioration qualitative de ce travail, prière de recevoir ici cher maître, l'expression de notre sincère reconnaissance.

## ➤ **A notre maître et juge**

Docteur Mahamadou DIAKITE Pharm D, PhD en immunologie.

Chercheur au MRTC.

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Vos grandes qualités pédagogique et scientifique et votre humeur constamment joviale font de vous un maître admirable.

➤ **A notre maître et Co-directeur de thèse :**

Docteur Seydou DOUMBIA MD, Ph.D en épidémiologie et spécialiste en santé publique. Co-Principal Investigateur (épidémiologie) du projet « leishmaniose » au Mali

Chef d'unité épidémiologie/G.I.S/R.S/MRTC/FMPOS

Honorable maître, vous nous avez accueillis à bras ouvert en nous confiant ce travail. Vous n'avez ménagé ni votre temps, ni votre énergie pour nous guider dans la réalisation du présent travail. Nous avons toujours appréciés votre rigueur scientifique, vos qualités humaines et votre grande patience. Les formations scientifiques auxquelles nous avons participé dans votre unité, nous les avons acquises à jamais. Si ce travail est une réussite, nous le devons à votre compétence et à votre savoir-faire.

Veuillez recevoir ici le témoignage de toute notre reconnaissance et de notre désir de continuer avec vous.

**A notre maître et directeur de thèse**

**Professeur Somita KEITA**

- Professeur titulaire chargé de cours de dermato-léprologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto - Stomatologie (FMPOS)
- Chevalier du mérite de la santé
- Chef de l'unité de dermato-vénéréologie au CNAM.

Cher Maître,

Nous sommes très honorés d'avoir été choisi pour effectuer ce travail. Vous nous aviez confié ce travail et l'aviez dirigé avec bienveillance pendant toute sa réalisation. Vous êtes resté toujours disponible et c'est le moment de vous rendre un hommage mérité. Recevez ici toute notre gratitude

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

- BCG**= Baccille Calmette Guering
- CAM**= Cellular Adhesion Molecule
- CNAM**= Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie
- CRF**= Case Report Form
- CR 1, 2...4**= Complement Receptor 1, 2...4
- ELISA**= Enzyme-linked immunosorbent assay
- Fig**= Figure
- FMPOS**= Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie
- H**= Heure
- ICAM 1**=InterCellular Adhesion Molecule-1
- IFI**= Immuno Florescence Indirecte
- IL-1, IL-4**= Interleukine-1, Interleukine-2
- Km**= Kilomètre
- LC**= Leishmaniose Cutanée
- LCD**= Leishmaniose Cutanée Diffuse
- LCM**= Leishmaniose Cutané-Muqueuse
- LPG**= Lipopolyglucane
- L.major***= *Leishmania major*
- L. tropica***= *Leishmania tropica*
- L1, L2...L4**= 1<sup>er</sup>, 2<sup>ème</sup>... 4<sup>ème</sup> stade Larvaire
- m/s**= mètre par seconde
- MBP**= Proteine de bas poids moléculaire
- MGG**= May Grund wald Giemsa
- ml**= millilitre
- mm**= millimètre
- MRTC**= Malaria Research and Training Center
- MØ**= Macrophage
- MO**= Monoxyde d'Azote
- OMS**= Organisation Mondial de la Santé



**ONG**= Organisation Non Gouvernementale

**P. diboscqui**= Phlébotomus dibus

**PAF**= Ponction à l'Aiguille Fine

**PCR**= Polymérase Chaîne Réaction **Phar.**= Pharmacie

**PR-MB**= Paromomycine chlorure de Méthyl Benzetonium

**S. dibus**= Sergentomya dibus

**TCL/ LST** = Test Cutané à la Leishmanine/ Leishmanine Skin Test **TDR**= Tropical Disease Research

**TNF**= Tumor Necrosis Factor

**µm**= Micromètre

**VIH**= Virus d'Immunodéficience Humaine

## **LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableaux</b>	<b>Pages</b>
<b>Tableau I</b> : Complexes de leishmania existant en Afrique-----	6
<b>Tableau II</b> : Rapport des cas cliniques de leishmaniose cutanée en République du Mali par région et district, 1957-----	26
<b>Tableau III</b> : Réaction positive au test cutané à la leishmanine par région au Mali, 1967-----	27
<b>Tableau IV</b> : Distribution de l'âge, du sexe et de l'ethnie de la population par village-----	50
<b>Tableau V</b> : Répartition de la population la selon la principale profession et par village-----	52
<b>Tableau VI</b> : Répartition de la population selon l'âge, le sexe et l'ethnie par village-----	53
<b>Tableau VII</b> : Réaction cutanée positive par tranche d'âge-----	56
<b>Tableau VIII</b> : Réaction cutanée positive par sexe et par village-----	56
<b>Tableau IX</b> : Résultat du test selon l'ethnie par village-----	58
<b>Tableau X</b> : Répartition des lésions détectées selon la topographie-----	58
<b>Tableau XI</b> : Mesures des diamètres d'induration du TCL1-----	59
<b>Tableau XII</b> : Répartition des lésions par type, par mois et par village-	60
<b>Tableau XIII</b> : Répartition des lésions par tranche d'âge et par village-	61
<b>Tableau XIV</b> : L'incidence de la positivité au TCL par tranche d'âge par village-----	64
<b>Tableau XVI</b> : L'incidence de la positivité au TCL par ethnie et par village-----	64
<b>Tableau XV</b> : L'incidence de la positivité au TCL par sexe et par village-----	64
<b>Tableau XVII</b> : Mesures des diamètres d'induration en TCL2-----	65

<b><u>LISTE DES FIGURES</u></b>	<b>Pages</b>
<b>Figure 1:</b> Cycle biologique et gonotrophique des phlébotomes-----	8
<b>Figure 2:</b> Carte mondiale des zones hautement endémiques pour les leishmanioses cutanées, viscérale et cutanéomuqueuse-----	11
<b>Figure 3 :</b> Formes promastigotes du parasite-----	13
<b>Figure 4 :</b> Formes Amastigotes du parasite -----	13
<b>Figure 5 :</b> Diagramme schématique du cycle de vie de <i>Leishmania</i> ----	14
<b>Figure 6:</b> Molécules impliquées dans l'interaction <i>Leishmania</i> –MØ---	17
<b>Figure7:</b> Différents type de leishmaniose cutanée-----	20
<b>Figure8 :</b> Localisation de la commune de Barouéli (et des villages d'étude) sur la carte du Mali-----	29
<b>Figure 9 :</b> flacon de leishmanine-----	38
<b>Figure 10 :</b> prise d'une dose de leishmanine pour injection-----	39
<b>Figure 11:</b> Technique de lecture-----	39
Figure 12: Schéma d'exécution des activités de terrain (TCL) -----	45
Figure 13: schéma d'organisation de la phase de suivi pour détection des cas actifs de leishmaniose cutanée-----	46
Figure 14: poste d'identification: attroupement des participants----	47
Figure 15: poste de consentement: animation d'une séance-----	47
Figure 16: poste de vérification des CRFs-----	47
<b>Figure 16:</b> Pyramide des âges de la population-----	49
<b>Figure 17 :</b> Répartition des résultats du TCL1 selon la résidence-----	55
<b>Figure 18 :</b> Répartition des résultats positifs selon la résidence-----	56
<b>Figure 19 :</b> Répartition des cas TCL1+ par sexe dans les deux villages-----	58
<b>Figure 20 :</b> diamètre d'induration par tranche d'âge -----	60
<b>Figure 21:</b> Taux d'incidence annuelle de la positivité au TCL par village-----	63



# Sommaire

	<b>Pages</b>
<b>1-Introduction</b>	1
<b>2- Objectifs</b>	4
<b>3- Généralités</b>	5
3.1 Historique de la leishmaniose	5
3.2 Agent pathogène	5
3.3 Vecteur	6
3.3.2 Cycle biologique et gonotrophique des phlébotomes	7
3.3.3 Effet de la salive du vecteur	8
3.4 Réservoirs de parasite	9
3.5 Cycle biologique des leishmanioses	9
3.6 Manifestations cliniques de la leishmaniose cutanée	13
3.7 Diagnostic	14
3.7.1 Diagnostic d'orientation ou clinique	14
3.7.2 Diagnostic biologique/laboratoire	14
3.7.2.1 Diagnostic direct	14
3.7.2.2 Diagnostic indirect	15
3.8 Méthodes thérapeutiques	16
3.8.1 Moyens	16
3.8.2 Indications	17
3.9 Immunité humaine face à la Leishmaniose	17
3.10 Prophylaxie contre la leishmaniose cutanée	21
3.10.1 Prophylaxie générale	21
3.10.2 Prophylaxie individuelle, elle repose sur	21
3.11 Répartition géographique de la maladie	22
3.11.1 Dans le monde	22
3.11.2 Au Mali	24
<b>4. MEHODOLOGIE</b>	27
4.1 Lieu d'étude	27

4.1.1 Historique des sites d'étude	29
4.1.2 Activité économique des sites d'étude	30
4.1.3 Infrastructures sanitaires des sites d'étude	30
4.1.4 Problèmes des sites d'étude	30
4.1.5 Relief	31
4.1.6 Climat	31
4.1.7 Végétation	
4.1.8 La faune	32
4.1.9 Gîtes larvaires de phlébotome	32
4.1.10 Réservoir de la maladie	33
4.2 Type et période d'étude	33
4.3 Population étude	34
4.3.1. Critères d'inclusion	34
4.3.2. Critères de non inclusion	34
4.4 Définitions des cas	35
4.5 Procédures de collecte des données	36
4.5.1 Détermination de la prévalence de l'exposition au parasite de la leishmaniose cutanée (TCL) en avril- mai 2006	36
4.5.2 Suivi clinique (dépistage clinique actif) août- décembre 2006	38
4.6 Organisation et schéma d'exécution des activités de terrain	39
4.6.1 Premier test cutané à la leishmanine (étude de la prévalence)	39
4.6.2 Dépistage clinique de la Leishmaniose Cutanée	41
4.7 considérations éthiques	45
4.8 Analyse des données	45
5- Résultats	46
5.1 Caractéristiques sociodémographiques de la population des 2 villages	46
5	51

.2 Phase du test cutané à la leishmanine (premier test: TCL1)

5.2.1 Caractéristiques socio démographiques de la population d'étude 51

5.2.2 Résultats du Test Cutané à la Leishmanine (Prévalence de l'exposition au parasite de la leishmaniose)	53
5.3 Phase de suivie Clinique	59
5.4 Phase de ré-administration de la leishmanine	61
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	65
<b>7. Conclusion et recommandations</b>	<b>70</b>
8. BIBLIOGRAPHIE	72
ANNEXES	77

## **1-Introduction**



Les leishmanioses sont des anthroponoses causées par des protozoaires flagellés appelés leishmanies. Elles sont transmises par la piqûre infectante de la femelle hématophage d'un insecte diptère dénommé phlébotome ou mouche des sables [1]. Trois formes sont décrites:

-la leishmaniose multi viscérale ou kala-azar : c'est la forme la plus grave de la maladie, avec une mortalité de près de 100% en l'absence de traitement [2]. Environ 90% des 500.000 cas de cette forme recensés chaque année dans le monde se rencontrent principalement dans cinq pays : Bangladesh, Brésil, Inde, Népal et Soudan [1].

-la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM) ou espundia provoque des lésions pouvant conduire à une destruction progressive des muqueuses du nez, de la bouche et de la gorge. La majorité des cas de LCM rapportés proviennent de la Bolivie, du Brésil, et du Pérou[1],[3].

-la leishmaniose cutanée (LC) ou Bouton d'Orient se manifeste par des ulcérations cutanées uniques ou multiples sur les parties découvertes du corps (le visage, les bras ou les jambes) qui en guérissant laissent des cicatrices indélébiles très inesthétiques. Environ 90% des cas de LC rapportés dans le monde surviennent en Afghanistan, Arabie saoudite, Brésil, Iran, Pérou et Syrie[1],[3]. La leishmaniose cutanée est généralement localisée mais peut être aussi diffuse (LCD). La forme diffuse ne guérit jamais spontanément et il existe une tendance aux rechutes après traitement. Elle est souvent associée à un déficit immunitaire, notamment l'infection par le VIH [3] .

Les leishmanioses font partie des maladies négligées dans monde et constituent un problème de santé publique. C'est pourquoi, elles font partie des six (6) maladies prioritaires du programme *Tropical Diseases Research* (TDR) de l'organisation mondiale de la santé (OMS) [4],[5].

Selon l'OMS le nombre de cas de leishmaniose dans le monde est estimé à 12 millions avec une incidence annuelle d'environ 1.500.000 à 2.000.000 pour la leishmaniose cutanée et 500.000 pour la leishmaniose viscérale. Ainsi les formes cutanées sont les plus courantes et représentent 50 à 75% des cas. Les

leishmanioses sont présentes dans les cinq continents mais surtout dans les zones tropicales et subtropicales (environ 88 pays, dont 72 en voie de développement). Les zones d'endémie sont : l'Europe du sud, de nombreux pays de l'Afrique, du Moyen-Orient, d'Asie, d'Amérique centrale et d'Amérique du sud [3] ;[4].

En Afrique la prévalence des leishmanioses est souvent sous estimée à cause de la méconnaissance de la maladie par les agents de santé, l'insuffisance de centre de diagnostique et ou le manque d'information de la population.

Au Mali, les premières études sur la maladie remontent aux années cinquantes, à l'époque le ministère de la santé et des affaires sociales avait ordonné de rapporter tous les cas de leishmaniose cliniquement diagnostiqués à l'intérieur du pays. L'analyse en 1958 des rapports dudit ministère a montré deux grands foyers d'endémie, le cercle de Nioro (région de Kayes) et le cercle de Ségou (région de Ségou) [6]. Dix ans plus tard, plusieurs études basées sur l'application du test cutané à la leishmanine (TCL) ont été faites pour mieux comprendre l'épidémiologie de la maladie. Ces études de surveillance ont montré l'existence de la leishmaniose cutanée dans plusieurs autres localités du Mali en 1974 [5], [6], [7], [8], [9], [10] [11] [12].

Depuis, peu d'études ont été rapportées dans la littérature sur ce sujet. Les données récentes sont surtout cliniques et proviennent du seul Centre National d'Appui à la lutte contre la Maladie (CNAM). Selon ces données cliniques, la prévalence de la maladie serait plus élevée dans les régions du Mali à climat soudano-sahélien à savoir Kayes; Ségou et Koulikoro ; et faible dans les régions désertiques comme Gao, Tombouctou et Kidal. [13]

La forme cutanée est la seule décrite au Mali et seul *Leishmania major* a été retrouvé [8][14],[15].

L'objectif à long terme est de préparer ce site pour un future essais vaccinal basé sur la glande salivaire du *phlébotome*. Le présent travail a but d'étudier l'incidence

de l'exposition au parasite à l'aide du Test Cutané à la Leishmanine (niveau d'immunité dans la population) et de faire un suivi clinique actif chez des sujets en zone endémique de Barouéli.

## **2.1- Objectif général:**

Étudier l'incidence de la leishmaniose cutanée et les facteurs de risque d'exposition au parasite dans la zone endémique de Barouéli.

**2.2- Objectifs spécifiques:**

- 1- Décrire les caractéristiques sociodémographiques de la population des villages d'étude;
- 2- Déterminer la prévalence de d'exposition au parasite dans la population ( par TCL);
- 3- Décrire les lésions de leishmaniose cutanée observées chez les patients;
- 4- Déterminer l'incidence annuelle de l'exposition au parasite dans la population (positivité au TCL 2).

**3- Généralités**

### 3.1 Historique de la leishmaniose

Le parasite *Leishmania* fut découvert par Sir William Leishman en 1900 dans des frottis de la rate d'un soldat mort de fièvre à Dum-Dum en Inde [17]. Alors qu'il publiait ses résultats en 1903, Charles Donovan identifia le même parasite dans une biopsie de rate. Le parasite fut nommé *Leishmania donovani* en leur honneur et la forme amastigote du parasite est communément appelée corps de Leishman-Donovan [17]. En 1900 BOROWSKY a décrit aussi l'agent de la leishmaniose cutanée de l'ancien monde.

La transmission de la leishmaniose à l'homme n'a été bien documentée qu'en 1921 à l'institut pasteur d'Alger avec l'infection expérimentale de l'homme par les phlébotomes infectés. En 1924 l'évolution du parasite dans le tube digestif du *phlébotomus argenti* gorgé sur un malade atteint de leishmaniose viscérale a été décrite par KNOWLESS et al [17].

### 3.2 Agent pathogène

Bien qu'il n'y ait qu'un genre appelé *Leishmania*, on différencie deux sous-genres, *Leishmania* et *Viannia*, selon que le parasite se développe dans la partie centrale ou postérieure de l'intestin du vecteur [18]. Le genre *Leishmania* est composé de plusieurs espèces. Elles sont toutes de morphologie similaire et causent une panoplie de manifestations cliniques allant d'affections cutanées qui se résorbent d'elles-mêmes à des infections viscérales fatales en passant par des exacerbations inflammatoires causant de graves défigurations. On regroupe habituellement les espèces de *Leishmania* en complexes selon la similarité biochimique de leurs iso-enzymes.

Ceux existants en Afrique sont présentés dans le tableau I.

**Tableau I** : Complexes de *Leishmania* existant en Afrique (modifier de Roberts, Janovy, Slappendel et Ferrer, 2000).

Complexes	Espèces	Formes de maladies
<i>L. major</i>	<i>L. major</i>	Cutanée
<i>L. tropica</i>	<i>L. killicki</i>	
<i>L. aethiopica</i>	<i>L. aethiopica</i>	
<i>L. donovani</i>	<i>L. archibaldi</i>	Visérale
<i>L. infantum</i>	<i>L. infantum</i>	

### 3.3 Vecteur

#### 3.3.1 Taxonomie

Les vecteurs de la leishmaniose appartiennent à l'ordre des Diptères, de la famille des Psychodidae et de la sous-famille des Phlebotominae. IL y a environ 800 espèces de phlébotomes réparties dans le monde, 40 espèces assurent la transmission de la leishmaniose et des arboviroses [17]. Dix neuf espèces appartenant aux deux genres (impliqués dans la transmission chez l'homme) ont été confirmées comme vecteurs des différentes espèces de *Leishmania*. Le genre *Phlébotomus* spp prédomine dans l'Ancien Monde et *Lutzomyia* spp dans le Nouveau Monde. Quatre sous genres existent mais ne transmettent pas la maladie chez l'homme. Il s'agit de *Sergentomyia* spp, *Werileya* spp, *Hertigia* spp et *Brumptomyia* spp [17],[20].

Les phlébotomes décrits au Mali sont de 3 sous genres :

- Le sous genre Phlébotomus comprenant 3 espèces qui sont *P. duboscqui*, *P. Rodhaini* et *P. sergenti*;
- Le sous genre Sergentomyia comprend *P. gigas*, *P. affinis vorax*, *P. wansonii*, *P. clydei*, *P. antennatus*, *P. dubius*, *P. schwetzi*, *P. buxtoni* *P. diapaggai*, *S.christophers*, *S. dibus* et toutes les espèces du complexe africanus ;
- Le sous genre Speleaomyia comprend un seul espèce, *P. darlingi* [20].

### **3.3.2 Cycle biologique et gonotrophique des phlébotomes**

Les phlébotomes sont des insectes hématophages. Ils se nourrissent sur des mammifères ou des oiseaux, parfois même sur des reptiles (Fig 1). Leur activité est généralement crépusculaire ou nocturne. Mauvais voiliers, leur portée de vol est faible (1,5 km). Ils ne sortent de leur gîte de repos que les jours sans vent. Ils se déplacent alors avec un vol sautillant, saccadé, proche du sol. Leur faible dispersion explique le fait que les maladies transmises par ces insectes sévissent sous forme de foyers souvent très délimités. Seule la femelle a un régime hématophage, le sang étant nécessaire pour assurer ses cycles gonotrophiques. En dehors de ses repas sanguins, la femelle peut survivre avec un régime floricole. Les mâles sont exclusivement floricoles.

L'accouplement intervient sans vol nuptial à proximité du gîte de repos. Trois à 10 jours après le repas sanguin, la femelle pond, un à un, 15 à 100 œufs dans un endroit calme, abrité du vent, humide et sombre. Les gîtes larvaires ainsi caractérisés peuvent être extrêmement variables : terriers de micromammifères, nids d'oiseaux, creux d'arbres, anfractuosités du sol ou de murs.

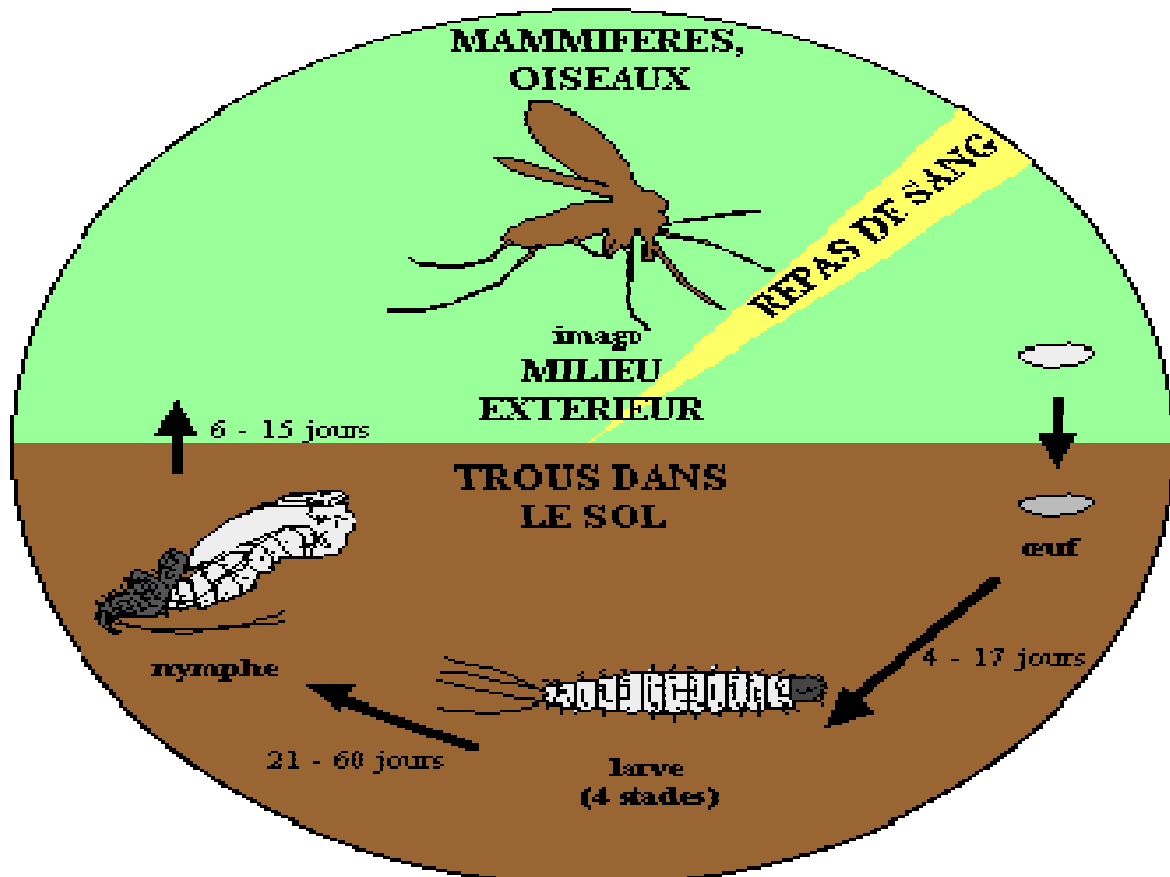
Les gîtes de repos des imagos ont les mêmes caractéristiques que les gîtes larvaires. Ce sont des endroits calmes et abrités, proches des gîtes de ponte et des hôtes vertébrés. Ainsi les gîtes de repos et les gîtes larvaires sont souvent confondus.

Les œufs sont ovoïdes et mesurent 300 à 400 µm de longueur. Ils éclosent au bout de 4 à 17 jours, libérant une larve de 1<sup>er</sup> stade (L1).

La phase larvaire comporte 4 stades et dure 21 à 60 jours, selon l'espèce, la température et la quantité de nourriture disponible. Les larves sont terricoles et sédentaires, se nourrissent de débris organiques divers (saprophagie et phytophagie).

Le stade nymphal dure 6 à 15 jours. La nymphe est fixée sur son support par l'exuvie de la L4. Elle ne se nourrit pas. L'adulte émerge de l'exuvie nymphale [16].

La figure 1 ci-dessous présente le cycle biologique et gonotrophique des phlébotomes.



**Figure 1:** Cycle biologique et gonotrophique des phlébotomes (**source:** Laboratoire de Parasitologie Faculté de Pharmacie de Lille).

### 3.3.3 Effet de la salive du vecteur :

Lors d'un repas sanguin, la mouche des sables injecte de la salive au site de piqûre, qu'elle soit infectée ou non par *Leishmania*. Plusieurs études ont démontré que des homogénats de glandes salivaires avaient un pouvoir immunomodulateur lorsqu'ils sont injectés de façon concomitante avec *Leishmania* et contribuaient à l'augmentation de la taille de la lésion et/ou de la charge parasitaire. Cette



exacerbation de la pathologie était associée à une augmentation de l'IL-4 [21],[22] et une inhibition de plusieurs fonctions du macrophage (MØ) telles la présentation d'antigène, la production de monoxyde d'azote (NO) et la prolifération de lymphocytes T spécifiques aux parasites [23], [22].

Par contre, la réponse de l'hôte était très différente lorsqu'on procédait à l'infection directe par une piqûre de la mouche infectée plutôt qu'à la co-inoculation de parasites et d'homogénats de glandes salivaires. En effet, on observait une faible expression de l'IL-4 et aucun changement dans l'évolution de la pathogenèse [24]. Malgré tout, une autre étude a démontré une exacerbation de l'infection par *L. major* lorsque injecté au site où *Lutzomyia Longipalpis* avait piqué une heure plus tôt [25]. Ces divergences montrent qu'il reste beaucoup à faire dans la pathogenèse de la maladie.

### **3.4 Réservoirs de parasite:**

On peut qualifier les leishmanioses d'anthroponoses ou de zoonoses selon que l'humain soit l'hôte direct ou l'hôte accidentel. En effet, certains vecteurs sont attirés par l'humain alors que la majorité a plutôt tendance à infecter d'autres mammifères. Ceux-ci varient selon l'habitat. Les réservoirs présents dans le Nouveau Monde sont entre autres les paresseux, les lapins, les primates et les chauves-souris. Dans l'Ancien Monde, en Afrique et particulièrement en Afrique de l'ouest ce sont surtout les petits rongeurs et les chiens [26].

### **3.5 Cycle biologique des leishmanioses:**

Le parasite *Leishmania* a un cycle de vie qui nécessite deux hôtes, le phlébotome et un mammifère (figure).

#### ***Leishmania* chez l'hôte mammifère :**

Lorsqu'une mouche des sables femelle infectée prend un repas sanguin chez un hôte mammifère, elle salive au site de piqûre et régurgite par la même occasion le parasite sous sa forme promastigote: le parasite est alors allongé et très mobile

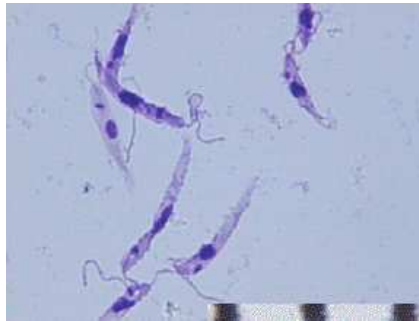
grâce à un flagelle situé en position antérieure. Cette forme infecte ensuite un phagocyte principalement les macrophages (MØ) du système histiomonocytaire et se transforme en forme amastigote. Il devient ovoïde ou sphérique, de 2.5 à 5 µm de diamètre avec un très court flagelle et n'est plus mobile. Il s'en suit une multiplication du parasite par fission binaire dans le phagolysosome du phagocyte qui est finalement lysé. Les parasites ainsi libérés sont phagocytés par des cellules avoisinantes et le processus continue. Le cycle est complété lorsqu'un *phlébotome* prend à nouveau un repas sanguin au site d'infection et aspire des phagocytes contenant *Leishmania*

### ***Leishmania* chez le Phlébotome**

De retour dans le tube digestif de l'arthropode, après un repas sanguin, les parasites se différencient à nouveau en promastigotes après 12 à 18 heures. Ils sont d'abord au stade pro cyclique où ils se divisent activement mais ne sont pas infectieux. Des promastigotes plus allongés et mobiles, appelés nectomonades, commencent à apparaître après 4 jours et s'attachent aux microvillosités des cellules épithéliales de l'intestin médian par leur flagelle. A partir du 7ème jour, les parasites migrent vers la partie antérieure de l'intestin médian jusqu'à la valve du stomodaeum qui sépare l'intestin médian de l'avant du système digestif. Les nectomonades se transforment alors en haptomonades (plus petits et plus arrondis) puis en promastigotes méta cycliques (qui ne se divisent plus; ils sont plus minces avec un long flagelle et hautement mobiles). C'est cette forme qui est infectieuse pour les mammifères. La valve du stomodaeum se dégrade et permet la migration des métras cycliques vers l'œsophage, le pharynx et le proboscis. On pense que ce sont ces parasites qui sont transmis aux mammifères lors du repas sanguin [30].

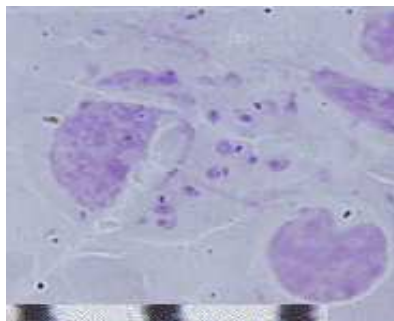
**Les promastigotes :** ils sont allongés, flagellés, longues de 8-24 x 4-5 µm et très mobiles. Le kinétoplaste est situé à la base du flagelle. Le flagelle mesure de 10 à 15 µm.

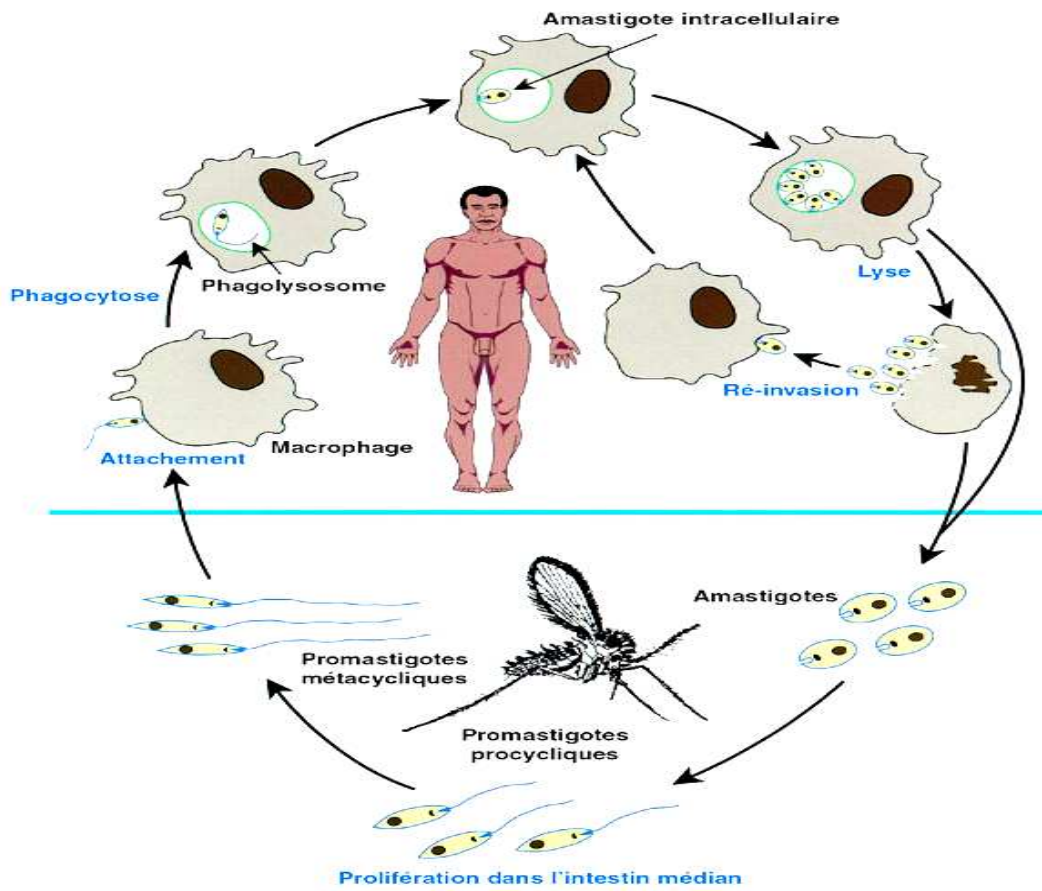
La Figure 2 ci-dessous montre des formes promastigotes (Thérèse Duriez et al en 2002).



**Les amastigotes** (étymologiquement = sans flagelle): ils sont Ovoïdes et mesurent 2 à 3  $\mu\text{m}$  de diamètre. Ils comprennent 1 noyau + 1 kinétoplaste avec ou non la racine courte d'un flagelle ou rhizoplaste

La Figure 3 ci-dessous montre des formes Amastigotes (Thérèse Duriez et al en 2002).





**Figure 4 : Diagramme schématisé du cycle de vie de *Leishmania*. ( Handan, 2001)**

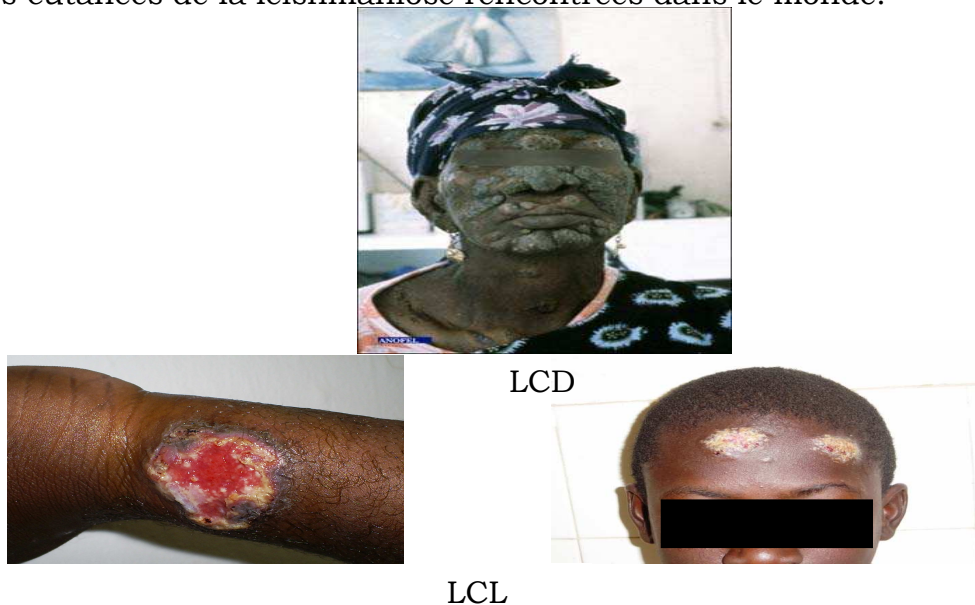
**3.6 Manifestations cliniques de la leishmaniose cutanée :** on distingue trois phases.

- **La phase d'incubation** : elle dure un à trois mois.

- **La phase d'état** : elle débute par une papule indurée indolore. Les lésions sont arrondies (max. 10 cm). Il existe plusieurs formes dont:

- la forme humide qui est une ulcération recouverte d'une croûte, avec inflammation des bordures en parasites (bouton d'Orient, clou de Biskra, clou d'Alep, pian bois, Uta).
- la forme sèche qui est une lésion squameuse avec les sérosités riches en parasites
- la forme pseudo tuberculoïde dont les confluences sont en plaques
- la forme nodulaire pseudo lepromateuse ou cutanée diffuse qui existe chez les immunodéprimés.

- **La phase de guérison** : elle apparaît après à plusieurs mois (moyenne 3 mois selon l'espèce) avec cicatrice indélébile souvent hyper pigmentée surtout en cas de déficit immunitaire [38]. La figure 5 montre quelques images des différentes formes cutanées de la leishmaniose rencontrées dans le monde.



**Figure 5:** Différents types de leishmaniose cutanée

**LCD**= Leishmaniose Cutanée Diffuse, **LCL**= Leishmaniose Cutanée Localisée.

### **3.7 Diagnostic:**

#### **3.7.1 Diagnostic d'orientation ou clinique:**

La leishmaniose cutanée est caractérisée par une ou plusieurs lésion (s) papuleuse (s) ou papulonodulaire (s) ulcérée (s) recouverte (s) d'une croûte adhérente qui ne guérit pas sous traitement anti-infectieux habituel. Cette lésion évolue depuis plusieurs semaines avec tendance à la guérison. Elle peut être surinfectée avec ou sans atteinte lymphatique [39], [13].

Un séjour en région d'endémie avec lésion ulcéreuse doit aussi orienter.

#### **3.7.2 Diagnostic biologique/laboratoire:**

##### **3.7.2.1 Diagnostic direct:**

On effectue des prélèvements au niveau de la bordure inflammatoire de la lésion par grattage au vaccinostyle, à la curette par biopsie ou par injection aspiration.

La recherche des formes amastigotes endocellulaires se fait sur un frottis coloré au Giemsa.

##### **▪ Protocole de la coloration**

###### **a. Prélèvement.**

Sur le terrain, le prélèvement se faisait au vaccinostyle ou à la seringue à insuline respectivement pour des prélèvements à la surface et sur les lésions. On dépose le frottis sur une lame, puis on étale au contact d'une deuxième lame ou une lamelle couvre objet tenue à 45 degrés.

###### **b. Dessiccation.**

Le frottis est séché rapidement à l'air à l'abri des poussières.

###### **c. Coloration consistait à :**

- Déposer 10 à 15 gouttes de may-grünwald Giemsa sur le frottis et couvrir pour éviter l'évaporation pendant 3 mn: c'est la fixation.
- Déposer 10 à 15 gouttes d'eau tamponnée et mélanger par rotation de la lame pendant 1 mn.
- Égoutter puis recouvrir de giemsa dilué 15 mn.

- Egoutter et laver à l'eau neutre.

- Sécher au papier joseph.

**a. Examen**

Le frottis a été examiné au microscope optique à l'immersion avec l'objectif 100.

**3.7.2.2 Diagnostic indirect:**

Il existe plusieurs types : la recherche d'anticorps sériques par les techniques IFI et ELISA, les techniques d'amplification de matériel génétiques (PCR), les techniques de culture , l'Intradermoréaction de Monténégro à la leishmanine.

**Intradermoréaction à la leishmanine ou réaction de Monténégro (TCL):**

L'intradermoréaction à la leishmanine est une réaction d'hypersensibilité retardée provoquée par l'injection intradermique de promastigotes de culture, lavés et mis en suspension dans une solution saline contenant 0,5 p.100 de phénol. Ce processus immunologique comparable à celui de Mantoux est un excellent moyen de surveillance épidémiologique des leishmanioses (Monténégro 1926 et Manson-Bahr, 1961) [6]. L'espèce de leishmanie utilisée n'a pas d'importance (il n'y a pas de spécificité d'espèce; Stauber, 1963) [6]. La leishmanine est une solution obtenue à partir de broyat d'antigène leishmanien. Chaque millilitre de leishmanine contient 6-10 millions (soit 1 million de parasite par ml) de leptomonads de leishmania tués et préservés dans une suspension stérile avec 1/10.000 thimersal; (ou du phénol). La dose individuelle est de 0,1 ml, c'est-à-dire 100.000 parasites.

Une injection de 0,1 ml de solution phénolée sans parasites est faite à proximité, comme témoin d'une éventuelle sensibilité du patient au phénol [10]. . La lecture se fait, 48 à 72 heures après l'injection, une réaction positive donne un nodule induré entouré d'érythème. On facilite la mesure en traçant au bic, sur la peau avoisinante et suivant les diamètres, des lignes qui s'arrêtent au bord de l'induration. Une réaction positive donne un nodule induré entouré d'érythème ; les indurations de diamètre supérieur ou égal à 5 mm sont considérées comme positives.

La positivité au test de Monténégro est observée chez les sujets ayant eu un contact antérieur avec le parasite qu'il aient ou non manifesté la maladie (formes asymptomatiques). Elle reste positive après la guérison pendant toute la vie du patient et est utilisée en épidémiologie. Pour les leishmanioses cutanées, elle peut aider aussi au diagnostic (Dostrovsky) [11], [41].

Cependant dans certaines conditions de fausses réactions négatives peuvent être observées (anergie): maladies systémiques sévères, maladies débilitantes (**Mason-Bahr, 1961**) [42].

Le test cutané à la leishmanine ne peut différencier la LC de la LV sur une même localité [41].

### **3.8 Méthodes thérapeutiques:**

#### **3.8.1 Moyens:**

✓ Médicaments spécifiques :

• les sels pentavalents de l'antimoine dont :

- l'Antimoniote de Mèglumine (Glucantime®) le plus fréquemment utilisé dans les pays franco- hispanophones à raison de 20 mg /kg/j, cures de 20 jours [16].

- le Stibiogluconate de sodium (Pentostam®) le plus utilisé dans les pays anglophones.

• Les sels de Pentamidine ( à raison de 4mg/kg/j en IM, 1 jour sur 2 pendant au moins 2 mois) dont:

- l'Iséthionate de Pentamidine (Pentacarinat®)

- la Lomidine qui est très toxique.

En cas d'échec thérapeutique ou d'intolérance, on utilise:

- l'Amphotéricine B (Fungizone®)

- les Kétoconazole (Nizoral®) per os 400 mg/j pendant 2 mois

- l'Itraconazole (Sporanox®) 20 mg/j pendant 2 mois [16].

✓ Thermothérapie

✓ Chirurgie réparatrice



- ✓ Médicaments adjuvants : les antiseptiques et antibiotiques sont utilisés en cas de surinfections bactériennes.

**3.8.2 Indications:** On fait un traitement local si la lésion est unique et général si les lésions sont multiples ou diffuses.

- ✓ Formes localisées: on peut utiliser du glucantime® en injection intralésionnelle, de la paromomycine pomade en application locale, la thermothérapie, la chirurgie.
- ✓ Formes diffuses: on peut utiliser le glucantime®, l'amphotéric B par voie générale.

### 3.9 Immunité humaine face à la Leishmaniose

**Interaction initiale:** suite à leur inoculation dans un hôte par le vecteur, les promastigotes de *Leishmania* doivent échapper à la lyse par le complément jusqu'à ce qu'ils soient phagocytés par un MØ où ils pourront se répliquer (Figure 6).

Le Lipo poly glycane (LPG) des promastigotes métacycliques de *L. major* est plus long et il ne permet pas la fixation du complexe C5b-C9 (fraction 5b et 9) du complément, responsable de la lyse cellulaire.

Les promastigotes de *L. donovani* auraient développé un autre moyen de résistance à la lyse par le complément. Ils fixeraient surtout le C3bi qui ne peut participer à la formation de la C5 convertase [31].

La glycoprotéine 63 (gp63) protège *Leishmania* de la lyse cellulaire en convertissant le C3b en C3bi qui permet plutôt l'opsonisation du parasite et sa phagocytose. Finalement, le parasite posséderait des protéines kinases qui phosphoryleraient les membres du système du complément et inhiberaient ainsi la cascade [32]

Les molécules de surface du parasite sont également très importantes pour sa fixation au MØ. In vivo, en présence de complément, les promastigotes métacycliques sont généralement opsonisés par le C3b et le C3bi qui se fixent

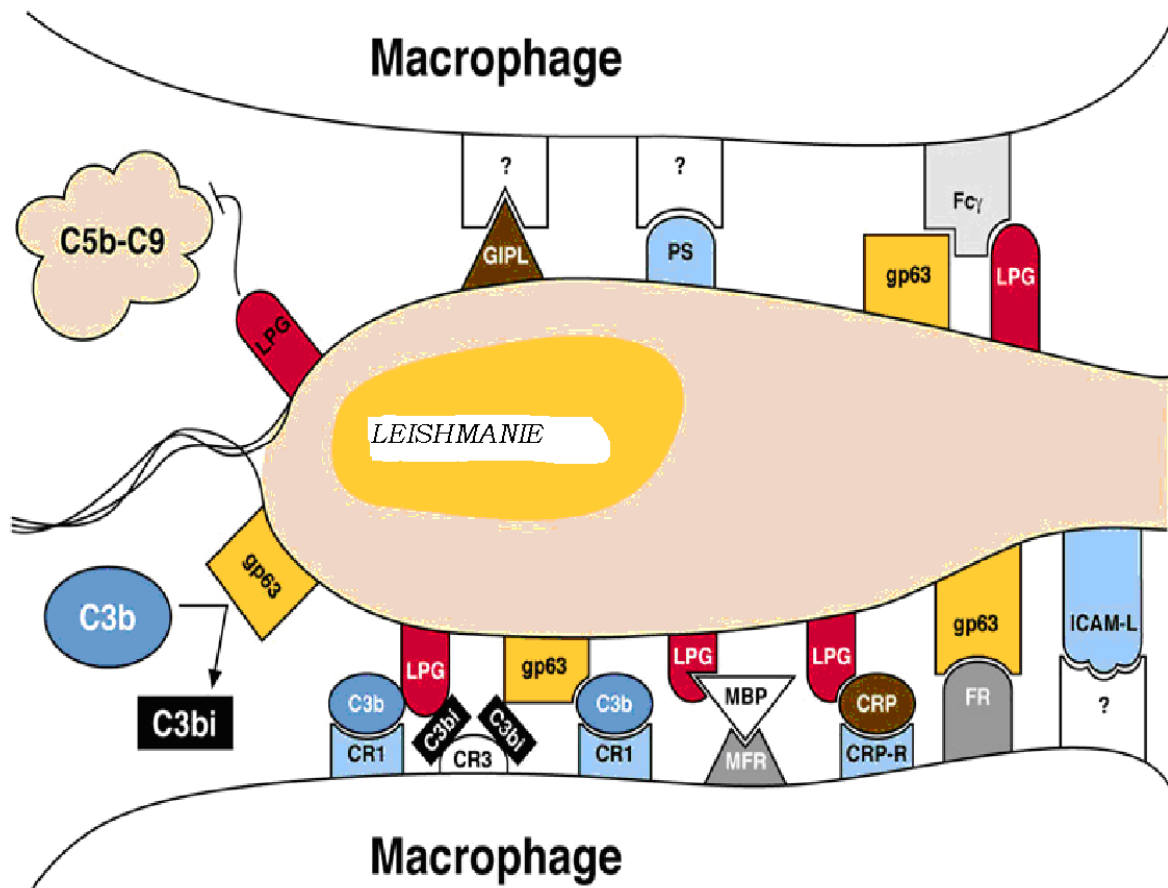
respectivement sur les récepteurs 1 et 3 du complément (CR1 et 3) du MØ. Le LPG et la gp63 peuvent se lier au C3b et C3bi (et donc au CR1 et 3). Il semble que ce soit le CR3 qui permet l'interaction la plus ferme entre le MØ et le parasite. En effet, le C3b est rapidement converti en C3bi, entre autres par l'action de la gp63, rendant la liaison avec le CR1 transitoire [32]. Un avantage de l'adhésion du parasite au MØ via le CR3 est l'absence de choc oxydatif lors de la phagocytose subséquente (Mosser et Edelson). Les parasites peuvent aussi se lier au MØ via le récepteur du mannose-fucose par l'adhésion de la protéine de bas poids moléculaire aux résidus glycosylés du LPG, et ceci en l'absence de sérum [33].

Le LPG peut également lier la protéine C réactive (un produit précoce de l'inflammation) et se fixer ainsi au récepteur de cette protéine pour être phagocyté [34]. Il semble que sa phagocytose via ce récepteur n'entraîne pas la réponse immunitaire (TNF $\alpha$ , IL-10, IL-12) observée habituellement lors de l'internalisation d'autres types de particules via le même récepteur [35].

La gp63, elle, peut se lier au récepteur de la fibronectine. Le récepteur CR4 peut aussi être utilisé pour la fixation du parasite via le LPG. Plus récemment, on a identifié de nouveaux ligands à la surface de *Leishmania* qui pourraient être utilisés lors de l'interaction avec le MØ. En effet, un groupe a identifié une molécule se rapprochant des Inter Cellular Adhesion Molecules (ICAMs), ICAM-L, qui serait nécessaire à la liaison de *Leishmania* aux MØ. Le récepteur du MØ interagissant avec ICAM-L n'a pas encore été identifié. Un autre groupe a rapporté que *Leishmania* métacyclique avait significativement plus de phosphatidylsérines à sa surface et que celles-ci augmentaient son pouvoir infectieux [36]. Une molécule de surface du parasite qu'on connaissait déjà, le GIPL, semble lui aussi, permettre l'attachement au MØ puisqu'un anticorps anti-GIPL bloque l'internalisation du parasite.

Les parasites sous forme d'amastigotes utilisent plusieurs des récepteurs mentionnés ci-dessus pour être internalisés. En plus, ils peuvent être phagocytés via les récepteurs Fc du MØ suite à leur opsonisation par des anticorps spécifiques. En effet, après quelques jours d'infection, une réponse immunitaire humorale se met en place. La liaison des promastigotes et des amastigotes avec le

MØ et leur phagocytose subséquente est un mécanisme relativement silencieux qui n'induit pas la réponse inflammatoire à laquelle on s'attendrait, ce qui favorise leur survie [37].



**Figure 6:** Molécules impliquées dans l'interaction *Leishmania* -MØ.

## **Phagocytose**

Suite à leur attachement au MØ, les parasites seront internalisés dans une vacuole appelée parasitophore. Ils se retrouvent également libres dans le cytoplasme et ils pourraient s'y transformer en amastigotes. Les amastigotes sont résistants à l'environnement acide et hydrolytique des phagolysosomes malgré l'absence de LPG à leur surface. Ce n'est pas le cas des promastigotes. Une autre stratégie utilisée par le parasite pour survivre dans le phagolysosome est l'inhibition des enzymes hydrolytiques et autres molécules microbicides.

## **Fonctions du macrophage inhibées par les Leishmania**

Le parasite *Leishmania* évite la réponse immunitaire dirigée contre lui en se reproduisant à l'intérieur des MØ mais également en inhibant plusieurs fonctions de celui-ci qui pourraient lui être néfastes.

On peut séparer ces fonctions en trois grands groupes :

- Les fonctions microbicides: deux types de molécules microbicides sont reconnus pour leur efficacité contre *Leishmania*. Le NO et les radicaux de l'oxygène
- La production de cytokines: les cytokines sont impliquées soit dans la réponse inflammatoire (IL-1 et TNF $\alpha$ ) soit dans l'activation des lymphocytes T (IL-12)
- La présentation d'antigène et l'activation de cellules effectrices: un autre aspect très important de la réponse immunitaire est, bien entendu, la présentation d'antigènes par les Protéines C Activées (CPA) aux lymphocytes T afin de développer une réponse spécifique au pathogène donné.

### **3.10 Prophylaxie contre la leishmaniose cutanée**

#### **3.10.1 Prophylaxie générale:** il repose sur:

➤ **la lutte contre les phlébotomes:**

Les mesures de lutte contre les phlébotomes sont analogues à celles utilisées dans le cadre de la lutte contre les vecteurs du paludisme. Il s'agit de la limitation la présence du vecteur ou du moins, de la réduction des possibilités de piqûres. L'interruption de la lutte pourrait entraîné inévitablement une recrudescence des leishmanioses du fait de perte de l'immunité.

➤ **La lutte contre les réservoirs de parasites:** la conduite varie en fonction du type de reservoir:

s'il s'agit de l'homme: nécessité de diagnostic et traitement des cas humains

s'il s'agit du chien: abattage des chiens errants en zone d'endémie, diagnostic (clinique ou sérologique) des chiens parasités et traitement.

**Remarque:** le traitement des chiens est long, difficile et coûteux, il risque de sélectionner des souches de leishmanies résistantes aux antimoniés

S'il s'agit d'animaux sauvages: il est pratiquement impossible d'éliminer ces animaux, il conviendra de les éloigner de l'homme.

Les principales modalités sont: labourage profond et installation d'une ceinture de champs cultivés autour des habitations, complétés par un canal d'irrigation périphérique large de 5 à 7 m; en forêt déboisement autour des habitations humaines. [16].

#### **3.10.2 Prophylaxie individuelle, elle repose sur :**

L'éviction des piqûres de phlébotomes: ne pas se promener à la tombée du jour en bordure de bois et de fourrés, porter des habits longs pour protéger les parties découvertes.

L'utilisation d'insecticides domiciliaires et de moustiquaires à mailles fines, compte tenu de la petite taille des phlébotomes [16].

La vaccination: le fait que la guérison de la leishmaniose cutanée induit une immunité à vie chez les individus infectés incite au développement d'un vaccin prophylactique. Malheureusement, et malgré plusieurs études à ce sujet, il n'existe toujours à ce jour pas de vaccin contre la leishmaniose.

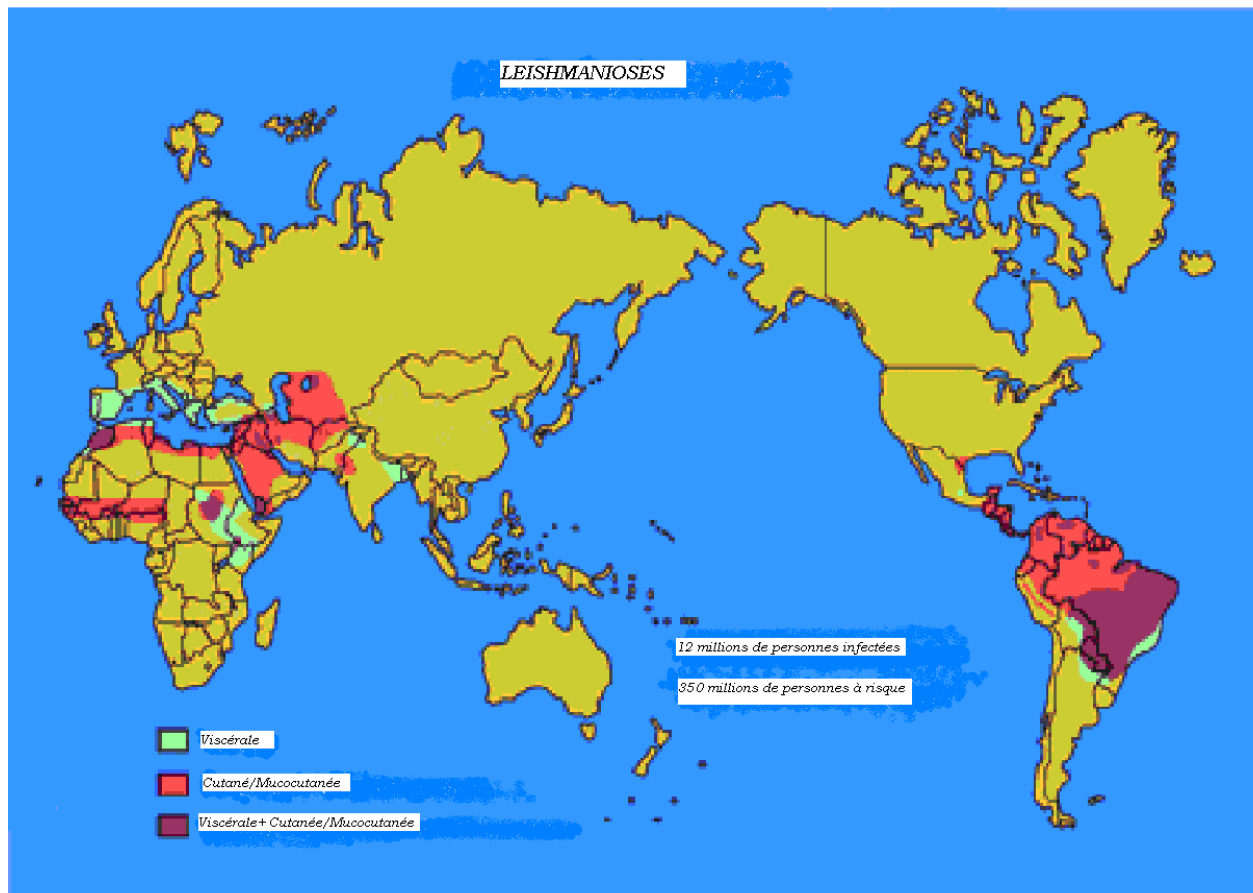
La salive du vecteur utilisée comme vaccin a permis d'immuniser des souris contre une infection subséquente à *L. major* et semble très intéressante pour la création d'un vaccin pour l'humain[21].

### **3.11 Répartition géographique de la maladie**

**3.11.1 Dans le monde :** les différents types de leishmanioses sont retrouvés dans les régions tropicales et sub-tropicales du globe. Les manifestations cliniques observées dans le monde ne sont pas toutes causées par les mêmes espèces de *Leishmania*. *Leishmania* est également propagé par différentes espèces de phlébotomes et varie selon la région.

Dans l'Ancien Monde, la maladie est principalement due aux complexes *L. tropica* et *L. major* qu'on retrouve en Afrique de l'Ouest, au Moyen-Orient en Asie mineure jusqu'en Inde. Le complexe *L. mexicana* et *L. peruviana* (complexe *L. braziliensis*) causent la leishmaniose cutanée muqueuse dans le Nouveau Monde, principalement dans le sud de l'Amérique du Nord (Texas et Mexique), en Amérique centrale, au Venezuela, au Pérou, dans le bassin amazonien et au Brésil [17], [27].

La figure 7 ci-dessous présente la carte mondiale des zones hautement endémiques pour les leishmanioses.



**Figure 7: Carte mondiale des zones hautement endémiques pour les leishmanioses cutanée, viscérale et cutanéomuqueuse. (modifiée de Handman, 2001) [28].**

**3.11.2 Au Mali:** Seules les formes cutanées ont été décrites et les complications habituelles sont les surinfections microbiennes et les lymphangites [13]. Ces formes sont causées principalement par *L. major* [29].

La maladie est connue depuis avant 1960 grâce à l'analyse des rapports du ministère de la santé et des affaires sociales (Tableau II).

L'application du test cutané à la leishmanine a permis de mieux comprendre l'épidémiologie de la maladie au Mali (Tableau III).

C'est une maladie rurale et les adultes jeunes (à partir de 20 ans ) sont les plus touchés. La maladie peut se présenter sous plusieurs formes cliniques et tous les âges sont concernés [6] [13].

Il existe une bonne corrélation entre la prévalence de cas cliniques et celle de la positivité au test cutané à la leishmanine [9]. Cependant, l'absence de cas cliniquement notifié ne peut exclure l'existence de la LC dans une localité [9].

Les tableaux II et III résument respectivement le rapport de cas clinique de leishmaniose cutanée et les résultats du test cutané à la leishmanine par région au Mali.



**Tableau II :** Rapport des cas cliniques de leishmaniose cutanée en République du Mali par région et district, 1957

( Source : ministère de la santé et des affaires sociale)

Region	District	Nombre de cases	% de cas dans la région	% total des cas
Kayes	Nioro	339	82,1	57,5
	Kayes	27	6,5	46
	Bafoulabe	46	11,2	7,5
	Yelimane	1	0,2	0,2
		413		70,1
Bamako	Bamako	18	34,7	3,1
	Nara	33	63,4	5,6
	Koulikoro	1	1,9	0,2
		52		8,8
Sikasso	Sikasso	1	5,9	0,2
	Bougouni	1	5,9	0,2
	Kadiolo	11	64,7	1,9
	Koutiala	4	23,5	0,7
		17		3,0
Gao	Gao	36	90,0	6,1
	Ansongo	3	7,5	0,5
	Gourma-Rharous	1	2,5	0,2
		40		6,8
Mopti	Mopti	9	33,3	1,5
	Niafounke	2	7,4	0,3
	Djenne	10	37,0	1,7
	Koro	6	22,3	1,0
		27		4,5
Segou	Segou	40	100,0	6,8
Total		589		100,0

**Tableau III** : Réaction positive au test cutanée à leishmanine par région au Mali, 1967. (source ministère de la santé et des affaires sociales, 1967)

Région	Nbre testé	Nbre positif	% positif
Bamako	344	60	17,4
Segou	112	34	30,4
Sikasso	87	29	33,3
Kayes	101	26	25,7
Mopti	64	25	39,1
Gao	56	10	17,9
Ville de Bko	705	90	12,7
Total	1469	274	18,1

## **4. METHODOLOGIE**

### **4.1 Lieu d'étude:**

L'étude s'est déroulée dans les villages de Kéména et Sougoula dans la commune rurale de Barouéli (région de Ségou), situé à environ 180 km par route au Nord-Est de Bamako.

Les villages de Kéména et de Sougoula sont respectivement situés à 10 km et à 5 km au Nord-Ouest de Barouéli au 12°33' latitude Nord, 6°33' longitude Ouest et au 13°05' latitude Nord et 6°53' longitude Ouest.

Ces deux villages ont été choisis sur la base des cas de L.C rapportés par le Dr Ousmane FAYE dermatologue et un cas confirmé après une visite de prospection faite par l'équipe de recherche du MRTC/CNAM/NIH sur la leishmaniose en 2004 [15].

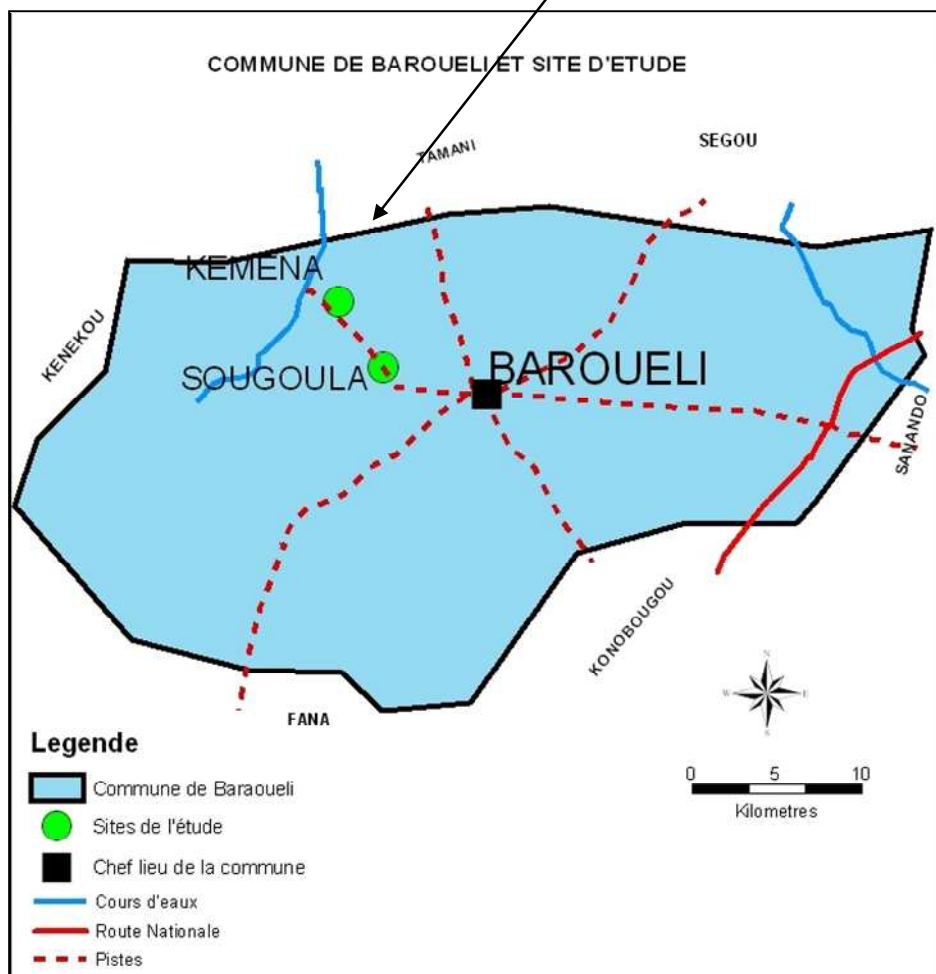
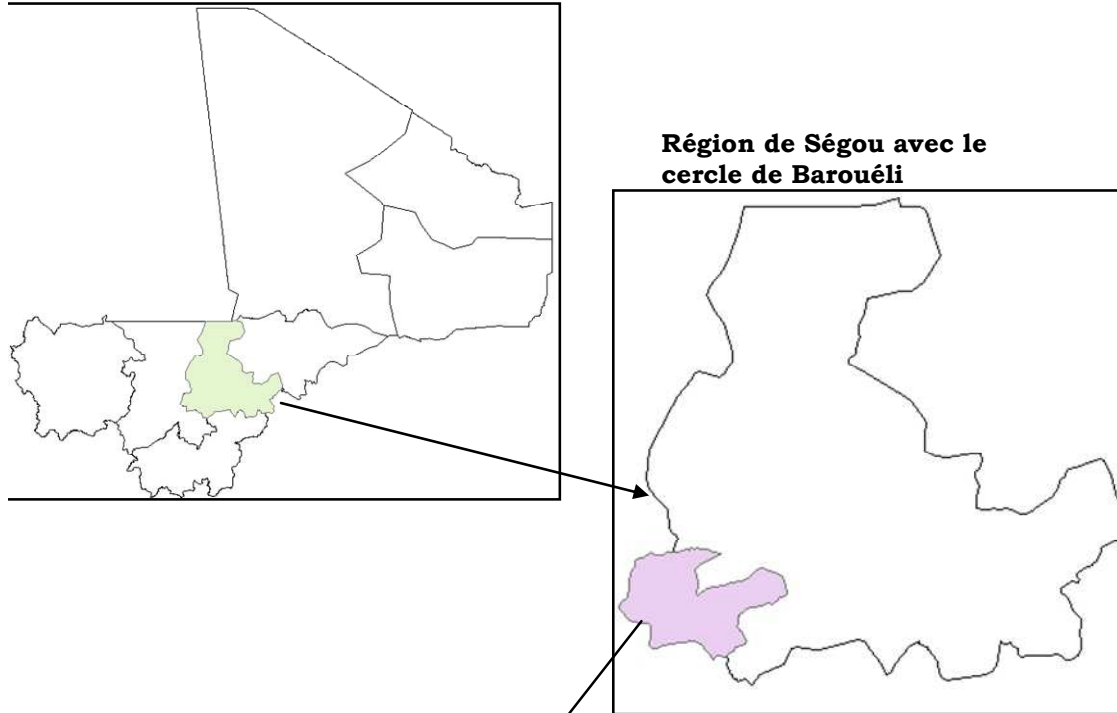
D'autres facteurs comme la bonne coopération des habitants, l'accessibilité de la zone en toute saison, la présence des phlébotomes ont aussi influencé ce choix.

### **Figure 8 : Localisation de la commune de Barouéli (et des villages d'étude) sur la carte du Mali**

Source : MRTC-DEAP-FMPOS, Section GIS

## République du Mali

### Site d'étude



#### **4.1.1 Historique des sites d'étude:**

**Le village de Kéména** a été créé il y a environ 370 ans par un Peulh du nom de Djimé SANGARE originaire du Ouassoulou à la quête de pâturage pour son bétail. Il s'installa définitivement dans cette zone fertile pour pratiquer l'agriculture et l'élevage. Plus tard d'autres personnes (Frères, cousin et autres) sont venus se joindre à lui à cause de la bonne récolte et du pâturage. Les Sarakolés de Djimikoro, l'actuel Banamba (Kouma, Sylla) sont venus à Kéména pour faire le petit commerce d'échange et se sont définitivement installés dans le temps en faisant l'agriculture sur place et le commerce des produits vivriers et d'élevage.

La chefferie est assurée par le plus âgé des Sangaré du village, en respect avec les coutumes et les traditions léguées par les ancêtres.

**Sory Sangaré** est l'actuel chef du village. La religion musulmane est la plus dominante et le village possède d'une école coranique (Medersa), une école primaire (avec seulement deux classes) avec un effectif d'environ 75 élèves. La population est estimée à environ 1000 habitants.

**Le village de Sougoula :** trois frères DIARRA originaires du royaume Bambara de Ségou à la suite des guerres intestines quittèrent Ségou et fondèrent ainsi le village de Sougoula vers le XVII<sup>e</sup> siècle. Chaque frère fonda sa famille en donnant des noms particuliers: Bogobala, Niankorola et Sadiala.

La chefferie du village est assurée par l'un des descendants de ces trois familles par droit de naissance.

L'actuel chef de village, **Fassoun Diarra**, fait parti de la famille de Bogobala et serait le 56<sup>ème</sup> chef.

A côté des Diarra, sont venus s'ajouter des Traoré, des Sarakolés.

Sougoula est le chef tributaire des villages de Kéména, Dioni et Mentola.

Le village possède une école primaire à sémi-communautaire de trois salles pour six classes avec un effectif de 167 élèves. Elle relève de l'accadémie d'enseignement de la commune de Barouéli.

La population actuelle est estimée à 1200 habitants. La religion musulmane est la plus dominante.

#### **4.1.2 Activité économique des sites d'étude:**

Dans les deux villages l'activité économique repose essentiellement sur l'agriculture avec trois de cultures dominantes :

- Les cultures vivrières: Essentiellement du mil, sorgho, maïs, arachide, haricot.
- Les cultures fruitières: Pastèque, patate, melon,
- Les cultures industrielles: Coton et dâh.

En plus de l'agriculture, il y a aussi l'élevage des bovins, ovins, caprins et quelques volailles en petit nombre dans les concessions généralement destinés à la vente en période de soudure.

Quant au commerce, il est réduit à la vente du coton, du dah, des produits des cultures fruitières.

#### **4.1.3 Infrastructures sanitaires des sites d'étude:**

Aucune des deux localités d'étude ne disposent de dispensaire. Cependant les relais communaires disposent de kits de médicaments déposés délivrés par des ONG tels que Plan International, Save the Children, ou Malaria Research and Trainig Center (MRTC) pour assurer le premier secours thérapeutique. En plus, il y a des tradi thérapeutes et des accoucheuses traditionnelles qui jouent un rôle important.

#### **4.1.4 Problèmes des sites d'étude :**

Zones à vocation agropastorale, nos sites sont souvent confrontés à un déficit d'eau de pluie qui menace considérablement le développement harmonieux de la population et provoque la migration le plus souvent des bras valides. On note cependant quelques retenues d'eaux qui tarissent rapidement avec la fin de la saison des pluies. C'est ainsi que les villages disposent chacun de puits à grand diamètre pour subvenir au besoin quotidien en eau et servent également de source d'abreuvoir pour les animaux en période sèche.

#### **4.1.5 Relief :**

Le relief est constitué par de vastes plaines sèches et de petites collines isolées visibles au nord et à l'ouest des deux villages. Le sol est de type sablo-argileux.

#### **4.1.6 Climat :**

Le climat des zones d'étude est du type soudano-sahélien avec deux grandes saisons:

- une courte saison des pluies de 4 mois (juin à septembre) durant laquelle les précipitations sont abondantes et atteignent leur maximum en Août (960mm par an). La pluviométrie, depuis plus d'une décennie est inférieure à la valeur attendue de 960 mm à l'exception des années 1991 et 1994
- une longue saison sèche couvrant le reste de l'année (octobre à mai) et se divise en saison sèche froide (d'octobre à février) et en saison sèche chaude (de mars à mai).

La température moyenne mensuelle est de 25<sup>0</sup>C–33,5<sup>0</sup>C (la moyenne des minima est 25<sup>0</sup>C et la moyenne des maxima est 33,5<sup>0</sup>C). De juillet à août 2006 la vitesse du vent est de 2.3 m/s, puis elle est réduite à 1,5 m/s de septembre à Novembre pour atteindre enfin les 2 m/s à partir de décembre dans les deux villages (station météo local). Les vents dominants sont l'harmattan (septembre à mai) et la mousson (juin à octobre).

#### **4.1.7 Végétation:**

La végétation est celle du climat sus-dessus décrit. Les grandes formations végétales des deux zones se répartissent comme suit :

- une savane arbustive du type soudanien dont les éléments caractéristiques sont le Karité (*Vitellaria paradoxa*), le Baobab (*Adansonia digitata*), le Balazan (*Acacia albida*), le Caïcédrot (*Kaya senegalensis*), ... etc. On y rencontre également une sous- strate ligneuse à base de Combrétacées. Cette formation bien rabougrie presque sans activités végétatives pendant 8 longs mois de saison sèche. Elles est périodiquement ravagée par les feux de brousse.
- une savane arborée qui doit son existence à la nature favorable du sol.

- une savane herbeuse qui occupe en grande partie le lit des points d'eau et des marigots pendant les hautes eaux. Dans cette formation herbeuse, on rencontre çà et là disséminées certaines graminées et cypéracées.

Cette végétation est souvent utilisée par les populations pour les besoins de médecine traditionnelle.

#### **4.1.8 La faune:**

Les vertébrés sont représentés par les lièvres, les écureuils, les hérissons, les singes (*Macacus rhesius*), les varans (*Varanus niloticus*, *Varanus exanthematicus*), les lézards (*Agama agama*) et les serpents comme *Naja nigricolis*, *Naja katiensis*, *Echis carinatus*, *Bitis arietans*, *Causus maculatus*.

Les oiseaux sont généralement représentés par de nombreuses espèces : les sauterelles, les perroquets, les perdrix, les éperviers, les manges mils, les hérons gardes boeufs et les cigognes annonciateurs de l'hivernage.

La faune entomologique comporte certains insectes d'importances médicales parmi lesquels on peut citer :

- les Psychodidae dont un genre impliqué, le genre phlébotomus
- les Culicidae dont les genres Anophèles, Culex, Aedes
- les Simuliidae dont le complexe *Simulium damnosum* en voie de disparition dans les zones à cause de la rareté des plaines fertiles et de cours d'eau à débits élevés.
- les Muscidae dont les mouches (*Musca domestica*)
- les Acridiens dont les criquets

**4.1.9 Gîtes larvaires de phlébotome:** On appelle gîte larvaire du phlébotome l'endroit où s'accomplit la phase de développement terricole des Phlébotomes (Œuf- lympe) qui correspond à un endroit humide, calme, sombre et abrité du vent.



A Kéména et à Sougoula se sont les trous d'arbres, les trous de rougeurs et le dessous des jarres d'eau qui constituent les principales gîtes larvaires de phlébotome.

#### **4.1.10 Réservoir de la maladie:**

On appelle réservoir, une personne ou animal abritant l'agent infectieux (virus, bactérie, parasite, champignon) d'une maladie sans forcément être malade. On distingue pour la leishmaniose deux types de réservoirs : les réservoirs humains (foyers anthroponotiques) et les réservoirs non humains (les foyers zoonotiques).

Au Mali, les études sont en cours pour pouvoir déterminer les réservoirs de la leishmaniose cutanée.

#### **4.2 Type et période d'étude:**

Il s'agit d'une étude de cohorte prospective avec un suivi régulier des sujets d'étude pour le dépistage de la LC. Elle s'est déroulée en trois étapes sur une période de 12 mois (avril 2006 - mars 2007).

**Première étape:** un premier test de dépistage à la leishmanine (TCL 1) a été effectué du 24 avril au 5 mai 2006 pour déterminer le niveau d'exposition à la leishmaniose cutanée (TCL1+), et d'identifier les sujets à risques pour une nouvelle infection (TCL1-).

**Deuxième étape:** un suivi mensuel de l'ensemble des sujets ayant été négatifs au TCL1 a été effectué du mois d'août au mois décembre 2006. Ce suivi mensuel a commencé trois mois après le premier test à la leishmanine compte tenu du temps d'incubation de la maladie (1-3 mois) [16]. Il a consisté à un dépistage clinique actif et une ponction à l'aiguille fine des cas cliniques suspects pour confirmation microscopique et/ou culture.

**Troisième étape:** un deuxième TCL (TCL2) mars 2007, a concerné l'ensemble des TCL1- pour détecter les conversions immunologiques ( sujets ayant eu une exposition à *L. major*).

### **4.3 Population étude:**

La population d'étude était constituée par les personnes âgées d'au moins un an et résident permanent à Kéména et à Sougoula. Tous les sujets volontaires répondant aux critères d'inclusions ci-dessous ont été inclus dans l'étude après un consentement éclairé du sujet, et du parent pour les de moins de 18 ans.

#### **4.3.1. Critères d'inclusion :**

Les critères spécifiques pour chaque phase ont été les suivants:

▪ **Phase du premier test cutané à la leishmanine (TCL-1)- avril-mai 2006**

Il fallait:

- Etre âgé d'au moins un (1) an
  - Ne pas présenter une maladie chronique (asthme, tuberculose).
- **Phase du suivi clinique des sujets négatifs au TCL1 (dépistage actif) d'août à décembre 2006**
- Il fallait avoir un TCL1- et être présent dans le village lors du passage de l'équipe de dépistage.
  - La ponction aspiration à l'aiguille fine était faite chez tous les sujets âgés d'au moins 18 ans et présentant une ou plusieurs lésions de LC cliniquement suspecte (s).
- **Phase du deuxième TCL (TCL-2)- février-mars 2007**
- Il fallait avoir un TCL1- et être présent dans le village durant la période d'application du test et n'ayant pas manqué les 3 premières visites de dépistage clinique.

#### **4.3.2. Critères de non inclusion**

▪ **Phase du premier test cutané à la leishmanine (TCL-1)- avril-mai 2006**

Il fallait:

- Etre âgé de moins d'un (1) an
- Avoir une maladie chronique( asthme, tuberculose).
- Refusé de participer à l'étude
- Présent mais non résident des deux villages

- Etre parmi ceux dont la lecture du TCL n'a pu être effectuée dans les 48-72 H après injection de la leishmanine.
- **Phase du suivi clinique des sujets négatif au TCL1 (dépistage actif d'août à décembre 2006)**

Etaient exclus:

- les positifs au TCL d'avril 2006
- ceux ayant manqué les 3 premières visites de dépistage clinique (Août, septembre, octobre).
- **Phase du deuxième TCL (TCL-2) mars 2007**

Pour être exclus, il fallait:

- Etre positif au TCL1 (avril 2006),
- Avoir le TCL1 négatif mais absent du village durant la période d'application du TCL2
- Avoir manqué les 3 premières visites de dépistage clinique
- Etre parmi ceux dont la lecture du TCL2 n'a pu être effectuée dans les 48-72 H après injection de la leishmanine

#### **4.4 Définitions des cas :**

- **TCL positif :** le test cutané à la leishmanine était considéré positif quand le diamètre moyen de l'induration (somme des diamètres transversale et verticale / 2) était  $\geq 5$  mm.
- **Cas suspect de LC active:** Toute lésion unique ou multiple, papuleuse ou papulonodulaire, ulcéreuse ou croûteuse adhérente, à bord induré évoluant depuis plusieurs semaines ou plusieurs mois et résistante aux anti-infectieux habituels était considéré comme cas suspect de LC active. Elle pouvait être surinfectée avec ou sans atteinte lymphatique.
- **Cas de LC active confirmée :** Tout cas suspect de LC active ayant été confirmé par la présence des corps de leishmanie au microscope ou par la culture était considéré comme cas de LC active confirmée.

- **Cas suspects de LC cicatricielle:** Les cas suspects de LC cicatricielle étaient ceux ayant présenté une cicatrice à bordure nette, légèrement déprimée, irrégulière en surface, hypochromique où hyperpigmentée

#### 4.5 Procédures de collecte des données

##### 4.5.1 Détermination de la prévalence de l'exposition au parasite de la leishmaniose cutanée (TCL) en avril- mai 2006

###### ➔ La leishmanine :

Nous avons utilisé une leishmanine fabriquée par l'Institut Pasteur d'Iran qui est un centre de référence de l'OMS. La composition d'un ml de la préparation était comme suit :

-promastigotes de *Leishmania major*\_\_\_\_\_6x10<sup>6</sup>

-phosphate buffered salin\_\_\_\_\_1 ml

-thimersal\_\_\_\_\_0,01%

Lot N°124 Date de fabrication: 09/2001

La solution était conditionnée dans un flacon contenant 2,5 ml de solution aqueuse de 6x10<sup>6</sup> de promastigote du parasite *L.major* (souche MRHO/IR/ER) tués et était conservé à une température de 4°C jusqu'à son utilisation (figure 9). Un flacon pourrait servir 15-20 sujets.



**Figure 9 : flacon de leishmanine.**

###### ➔ Contrôle de qualité:

La leishmanine utilisée a été préalablement testée au Centre Nationale d'Appui à la lutte Contre la Maladie (CNAM) sur cinq (5) patients diagnostiqués de

leishmaniose cutanée et sur des témoins constitués de médecins et d'étudiants servant de contrôle négatif.

### ➤ **Administration de leishmanine :**

La dose de 0,1ml (0,1cc) de leishmanine était injectée en intradermique à la face antérieure de l'avant bras de chaque participant à l'aide d'une seringue à insuline (usage unique). La figure 10 ci-dessous montre l'image d'un investigateur à la prise d'une dose de leishmanine pour l'injection.

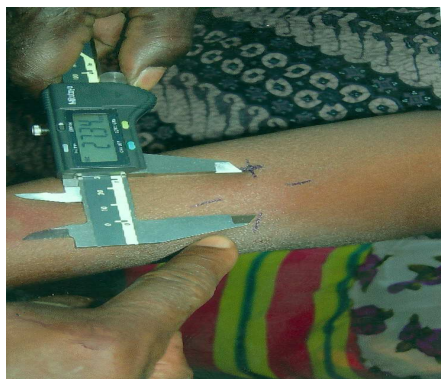
Après cette injection le participant devrait être revu pour la lecture au bout de 48-72 heures.



**Figure 10 :** prise d'une dose de leishmanine pour injection.

### ➤ **Lecture de l'induration :**

Au bout de 48-72 heures, la réaction d'hypersensibilité retardée ou réaction de Monténégro était évaluée en mesurant le diamètre de l'induration du site d'injection (le plus grand diamètre ainsi que le diamètre perpendiculaire) à l'aide d'une règle électronique graduée en mm (voir figure 11 ci-dessous).



**Figure 11: Technique de lecture**

La réaction était définie comme positive quand le diamètre moyen de l'induration était supérieur ou égal à 5 mm.

Les sujets ayant une réaction positive ont été examinés pour la recherche de lésions cicatricielles ou actives au niveau des parties découvertes du corps (tête, cou, membres supérieurs et inférieurs).

#### **4.5.2 Suivi clinique (dépistage clinique actif) août- décembre 2006**

Les sujets absents au moment de la lecture de la réaction ainsi que les positifs au LST ont été exclus de notre protocole. Les sujets ayant eu une réaction cutanée négative ont été soumis à une surveillance active et passive pendant cinq mois à la recherche de cas de LC. Ces mêmes personnes ont subi, un an après le premier, un deuxième test cutané à la leishmanine pour mesurer l'incidence de l'exposition au parasite.

Chaque mois, tous les participants étaient minutieusement examinés dans une salle par des dermatologues pour dépister les lésions cliniques de LC. Le siège et les caractéristiques cliniques (papule, nodule, ulcère et autres) de chaque lésion détectée ont été documentés. Les informations sur les visites (voyages) hors du village, les traitements en cours ou la présence d'autres maladies chroniques ou d'allergie médicamenteuse connue ont été également documentées.

#### **Traitement des patients cliniquement diagnostiqués avec la L.C**

Tous les cas suspects de LC non compliqués ont été traités avec la paromomycine en pommade avec 15% de paromomycine et 12% de méthylbenzethonium chlorure (PR-MB) (préparation contenant 15% paromomycine, 12% de méthylbenzethonium chlorure). Elle était appliquée 2 fois par jour pendant 20 jours. Les patients ayant des lésions surinfectées ont en plus reçu d'autres antibiotiques comme: Érythromycine, Amoxicilline, Cotrimoxazole. Un agent local formé aux techniques de soins (pansements) les suivait jusqu'à la guérison complète de la lésion (28-42 jours après le diagnostic).

### **Diagnostic biologique :**

Une ponction à l'aiguille fine (PAF) a été effectuée par le technicien de laboratoire sur les patients adultes (âge  $\geq 18$ ans), présentant une ou des lésions suspectes non compliquée. L'aspiration était faite selon la technique suivante : avant le prélèvement, on nettoie les marges de la lésion avec un antiseptique (alcool à 70 degré). A l'aide d'une aiguille fine (seringue à insuline), 0.1 ml de solution saline (150 mM Na Cl) était injectée à la base de la lésion. La sérosité ainsi formée était ponctionnée et prélevée par aspiration. Une partie de ce prélèvement était déposée sur une lame, puis fixée avec de l'alcool à 70 degrés et coloré au GIEMSA pour rechercher les corps de leishmanie au microscope optique. L'autre partie du prélèvement était gardée dans un milieu incomplet de M1999 (Grandoni et al.1991) pour la culture du parasite.

### **Consultation médicale et prise en charge des malades :**

Au cours de chaque passage, un médecin était chargé des sujets à TCL1+ et de la consultation des malades du village. La prise en charge des malades était facilitée par une trousse de médicaments dont disposait l'équipe. Les cas de maladies graves ou d'urgence étaient référés au centre de santé de référence de Barouéli grâce à un véhicule de l'équipe.

Une trousse de médicaments était également mise à la disposition des villageois au niveau d'un relai à chaque passage.

## **4.6 Organisation et schéma d'exécution des activités de terrain:**

L'organisation était identique dans les 2 villages.

### **4.6.1 Premier test cutané à la leishmanine (étude de la prévalence)**

Il y avait 4 postes de travail: poste d'identification, poste de consentement, poste d'injection, poste de lecture et détection des cas.

- **Le poste d'identification:** était situé à la porte d'une classe. A ce premier niveau, les participants étaient identifiés par deux personnes de l'équipe de recherche, aidés par un guide du village et la liste de recensement. Deux fiches de consentement et un dossier de suivi clinique (CRF : en anglais Case Report Form) avec un numéro unique d'identification ont été constitués pour chaque participant. En plus une carte d'identité avec photo était faite pour chaque participant. Après avoir été identifié, le participant était dirigé dans la salle par un guide vers le poste de consentement.
  
- **Le poste de consentement** comportait deux bureaux avec chacun un investigateur et un villageois lettré servant de témoin. A ce niveau, l'investigateur expliquait le protocole en langue locale (le bambara) au participant tel qu'écrit en français sur la fiche de consentement. Aussi des images du vecteur de la maladie et de certaines lésions cutanées étaient montrées avec explication sur le cycle de transmission de la maladie qui était jusque là inconnu de la population. Le témoin l'assistait et veillait au respect de la conformité entre les explications de l'investigateur et le contenu du protocole de l'étude. Le participant devrait alors décider de participer ou pas à l'étude en signant la fiche de consentement ou en apposant son empreinte digitale. Ensuite l'investigateur et le témoin signaient. L'une des fiches de consentement était remise au participant et l'autre était mise dans son dossier (CRF).
  
- **Le poste d'injection** comportait deux bureaux avec chacun deux investigateurs. A ce niveau, chaque participant recevait sur la face antérieure de l'avant bras, une dose de 0,1ml de leishmanine en intradermique. L'heure d'injection et l'avant bras ayant reçu étaient notés dans le dossier du participant. Chaque participant était convoqué 48 à 72 heures après l'injection pour la lecture.
  
- **Le poste de lecture et de détection des cas cliniques:** comportait trois bureaux avec 2 investigateurs par bureau, des règles électroniques graduées



en mm, des bics, des gants, une montre. Les diamètres de chaque site d'injection étaient mesurés par les investigateurs à l'aide de la règle et les contours des indurations étaient rendus facilement repérable à l'aide du tracé au bic. Les mesures de diamètre ainsi que les renseignements sur les lésions (s'il y en avait) étaient portés dans le dossier du participant.

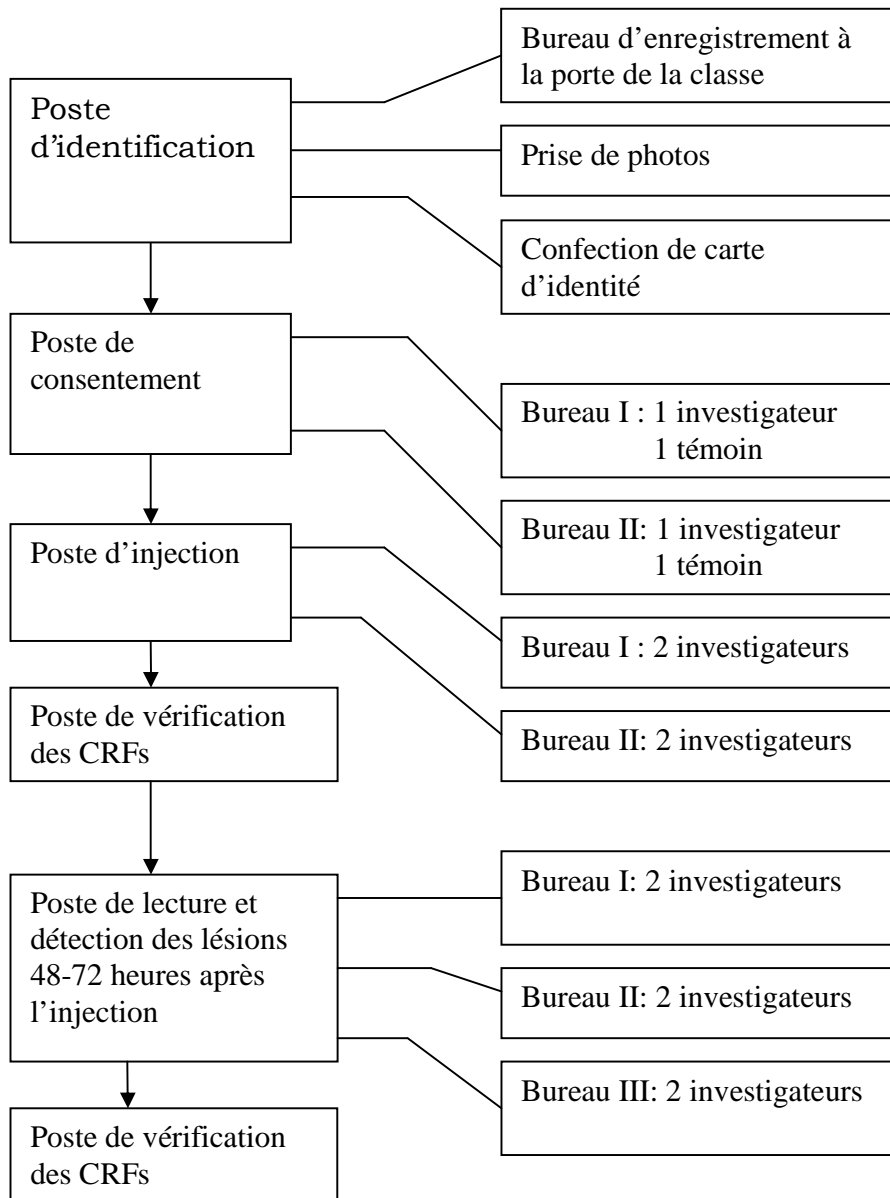
**4.6.2 Dépistage clinique de la Leishmaniose Cutanée (août décembre 2006) :** à chaque passage et dans chacun des villages le travail était organisé en 3 postes: identification, examen et dépistage, consultation médicale.

- **Le poste d'identification** comportait deux investigateurs, une table et une liste de référence des négatifs au TCL1. A ce niveau chaque participant se présentait physiquement muni de sa carte d'identité (de couleur jaune). Les investigateurs vérifiaient la conformité des dossiers (carte jaune, liste des négatifs, CRF) et le participant était ensuite orienté par un guide dans la salle vers des médecins pour examen.
  
- **Le poste d'examen et de dépistage:** trois bureaux d'examen étaient conçus dans la salle. Chaque bureau était composé d'une table et deux investigateurs (médecins). Un premier bureau recevait le participant et son dossier (CRF). Les investigateurs procédaient à un interrogatoire du participant pour savoir s'il avait voyagé hors du village, attrapé une maladie et le traitement subit depuis la dernière visite. Ces informations étaient notées dans le CRF. Le participant était ensuite reçu par l'un ou l'autre des deux autres bureaux où un investigateur (dermatologue) procédait à un examen minutieux des parties découvertes du corps à la recherche de lésions cutanées. Les lésion suspectes de leishmaniose cutanée faisaient l'objet de prise de photo et d'aspiration (pour les sujets de 18 ans et plus). Toutes les informations sur l'existence ou non de la lésion, la date d'apparition de la lésion, le type de lésion, le diamètre de la lésion, le nombre de lésions étaient notés dans le CRF du participant.

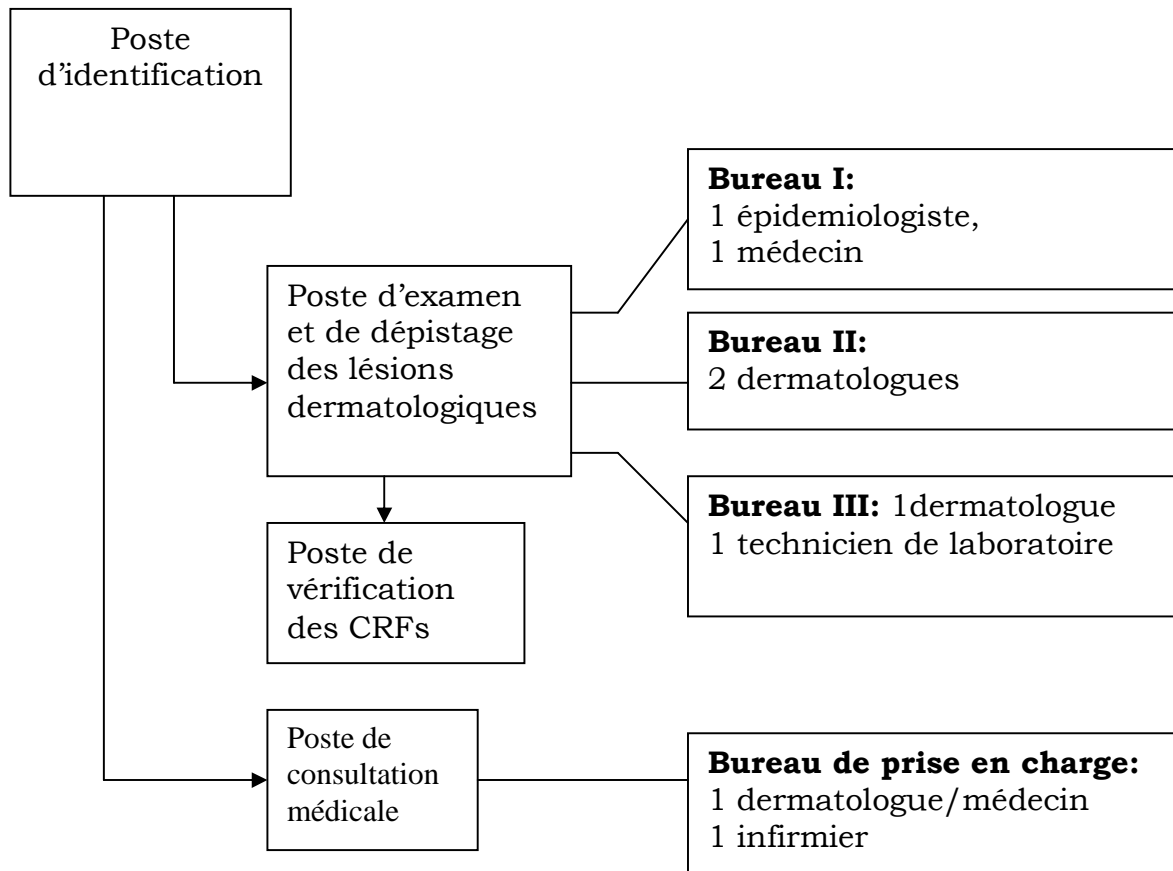
- **Le poste de consultation médicale:** comportait une table, un tension mètre (brassard), un stéthoscope un thermomètre, une trousse de médicaments affectés dans une autre salle. Ici les sujets TCL1+ et les autres cas de maladie étaient vus et soignés si possible par un médecin et un infirmier.

Les figures 12 et 13 ci-dessous schématisent l'organisation des travaux sur le terrain lors de différentes phases.

Ce protocole d'organisation a été adopté au cours des différentes phases de l'étude et dans chaque village.



**Figure 12:** Schéma d'exécution des activités de terrain (TCL1 et TCL2)



**Figure 13:** schéma d'organisation de la phase de suivi pour détection des cas actifs de leishmaniose cutanée

#### **4.7 considérations éthiques :**

Le protocole a été soumis et approuvé par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie (FMPOS) avant le démarrage des activités.

La participation à l'étude était totalement volontaire. Une fiche de consentement contenant tous les détails du protocole de l'étude a été administrée à chaque participant.

Le protocole était clairement expliqué en langue local Bambara en présence d'un témoin (enseignant de l'école du village).

Après son consentement, le participant devait confirmer son adhésion (ou celle de son enfant) en apposant une signature ou une empreinte digitale sur la fiche de consentement. La fiche de consentement comportait également la signature du médecin l'ayant administrée et celle du témoin, attestant que le sujet a reçu et compris le contenu du protocole comme expliqué sur la fiche de consentement.

#### **4.8 Analyse des données :**

Les données ont été saisies sur les logiciels Excel et Epi info version 6, et analysées sur le logiciel SPSS, version 11.

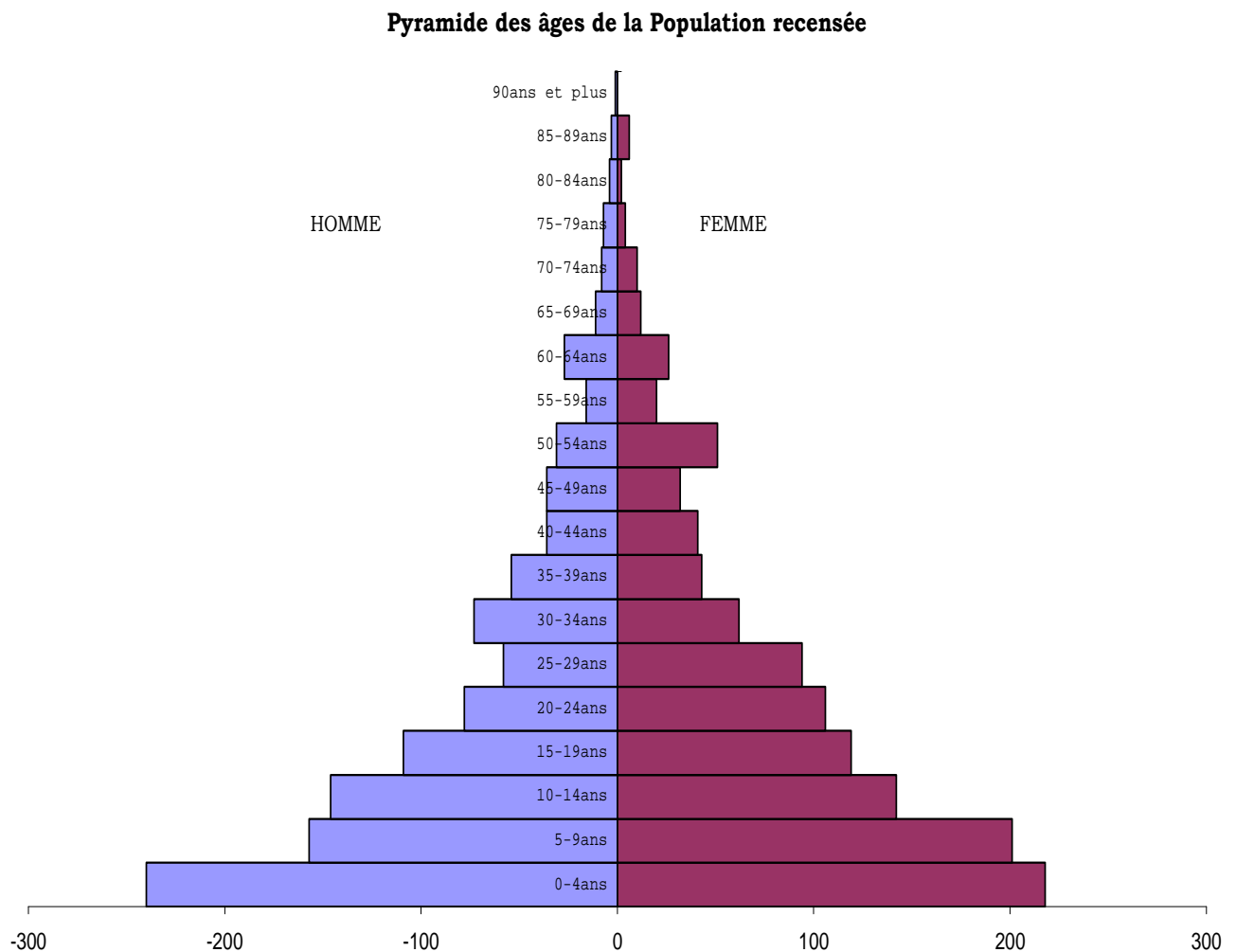
Le squelette a été conçu selon les variables de la fiche de recensement et du Case Report Forme (CRF).

La valeur du seuil significatif utilisée pour les comparaisons des proportions a été fixée à la probabilité p inférieur ou égale 0,05.

## 5- Résultats

Les villages de Kéména et de Sougoula sont composés respectivement de 33 et de 47 concessions. La population des deux villages s'élevait en 2006 à 2284 habitants dont 1227 habitants pour Sougoula. La figure 14 présente la pyramide des âges de la population de Kéména et de Sougoula.

### 5.1 Caractéristiques sociodémographiques de la population des 2 villages:



**Figure 14: Pyramide des âges de la population.**

Les caractéristiques socio-démographiques de la population d'étude sont représentées dans le tableaux IV. Il ressort de ce tableau qu'en moyenne les

enfants de 0 à 4 ans et les adultes de 20 à 34 ans représentaient respectivement 20,1% et 20,6%. Mais à Kéména se sont les enfants de 0 à 4 ans qui prédominent alors qu'à Sougoula se sont surtout les adultes de 20 à 34 ans qui sont les plus nombreux.

Les femmes représentaient plus de 50% de la population quelque soit le village. Les Bambara constituent l'ethnie dominante suivi des Sarakolés dans la population générale; mais à Kéména se sont les Peulhs qui viennent en deuxième position après les Bambara.

**Tableau IV:** Distribution de l'âge, du sexe et de l'ethnie de la population par village

Classe d'âge en année	KEMENA		SOUGOULA		Total	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
0-4	220	<b>20,8</b>	238	19,4	458	<b>20,1</b>
5-9	179	16,9	179	14,6	358	15,7
10-14	118	11,2	170	13,9	288	12,6
15-19	99	9,4	129	10,5	228	10,0
20-34	205	19,4	266	<b>21,7</b>	471	<b>20,6</b>
35-59	182	17,2	178	14,5	360	15,8
60-79	45	4,3	60	4,9	105	4,6
80 et plus	9	0,9	7	0,6	16	0,7
Total	1057	100	1227	100	2284	100
<b>Sexe</b>						
Féminin	547	<b>51,8</b>	642	<b>52,3</b>	1189	<b>52,1</b>
Masculin	510	48,2	585	47,7	1095	47,9
Total	1057	100	1227	100	2284	100
<b>Ethnie</b>						
Bambara	479	<b>45,3</b>	669	<b>54,5</b>	1148	<b>50,3</b>
Peulh	331	<b>31,3</b>	200	16,3	531	23,2
Sarakolé	230	21,8	320	26,1	550	<b>24,1</b>
Autres	17	1,7	38	3,1	55	2,4
Total	1057	100	1227	100	2284	100

Le Sex ratio était de 1,07 et 1,09 en faveur des femmes respectivement à Kéména et à Sougoula.

Les Bambara étaient majoritaires quelque soit le village avec respectivement 54,5% et 45,3% de la population, à Sougoula et à Kéména.



**TableauV:** Répartition de la population la selon la principale profession et par village

<b>Profession principale</b>	<b>KEMENA</b>		<b>SOUGOULA</b>		<b>Total</b>	
	<b>Effectif</b>	<b>%</b>	<b>Effectif</b>	<b>%</b>	<b>Effectif</b>	<b>%</b>
Sans profession*	340	32,2	396	32,3	736	32,2
Menagères	281	26,6	310	25,3	591	25,9
Cultivateur	251	23,7	243	19,8	494	21,6
Elève/étudiant	122	11,5	184	15,0	306	13,4
Autres	63	6,0	94	7,6	157	6,9
<b>Total</b>	<b>1057</b>	<b>100</b>	<b>1227</b>	<b>100</b>	<b>2284</b>	<b>100</b>
<b>Statut de résidence au moment du recensement</b>						
Présent	816	77,2	932	76,0	1748	76,5
Migrants permanent	120	11,4	266	21,7	386	16,9
Présence temporaire	5	0,5	2	0,2	7	0,3
Migrants temporaire	116	11,0	27	2,2	143	6,3
<b>Total</b>	<b>1057</b>	<b>100</b>	<b>1227</b>	<b>100</b>	<b>2284</b>	<b>100</b>
<b>Niveau d'instruction de la population d'au moins 6 ans</b>						
Aucun	511	63,9	652	68,3	1163	66,3
Fondamentale secondaire	112	14	197	20,6	309	17,6
E.coranique medersa	177	22,1	106	11,1	283	16,1
<b>Total</b>	<b>800</b>	<b>100</b>	<b>955</b>	<b>100</b>	<b>1755</b>	<b>100</b>

\*En de moins de six ans sujets âgés

Les sujets sans profession représentaient plus de 32% de la population..

Parmi ceux qui mènent une activité physique, les menagères représentaient 26,6% et 25,3% respectivement à Kemena et à Sougoula .

Quelque soit le village, plus de 75% de la population étaient sur place au moment du recensement.

Plus de 60% des populations âgées d'au moins 6 ans n'avaient aucun niveau d'instruction quelque soit le village.

## 5.2 Phase du test cutané à la leishmanine (premier test: TCL1)

Au total, 1549 sujets ont consenti de participer à l'étude mais 18 ne se sont présentés dans le délais requis pour la lecture du test (11 à Kéména et 7 à Sougoula). Une (1) autre personne à Kéména a refusé de recevoir l'injection malgré, le fait qu'il avait consenti au paravant.

Enfin 1530 sujets (663 à Kéména et 867 à Sougoula) ont complété le test et constituent ainsi notre population d'étude.

### 5.2.1 Caractéristiques socio démographiques de la population d'étude

**Tableau VI:** Répartition de la population selon l'âge, le sexe et l'ethnie par village

Classe d'âge (année)	KEMENA		SOUGOULA		Total	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
<5	127	19,2	169	<b>19,5</b>	296	19,3
5-9	145	<b>21,9</b>	156	18,0	301	19,7
10-14	83	12,5	138	15,9	221	14,4
15-19	47	7,1	60	6,9	107	7,0
20-34	105	15,8	156	18,0	261	17,1
35-59	115	17,3	131	15,1	246	16,1
60-79	37	5,6	52	6,0	89	5,8
80 et plus	4	0,6	5	0,6	9	0,6
Total	663	100,0	867	100,0	1530	100,0
<b>Sexe</b>						
Féminin	348	52,5	460	53,1	808	52,8
Masculin	315	47,5	407	46,9	722	47,2
Total	663	100,0	867	100,0	1530	100,0
<b>Ethnie</b>						
Bambara	306	46,2	473	54,6	779	50,9
Peulh	185	27,9	135	15,6	320	20,9
Sarakolé	147	22,2	213	24,6	360	23,5
Autres	25	3,8	46	5,3	71	4,6
Total	663	100,0	867	100,0	1530	100,0

La classe d'âge de 5-9 ans (21,9%) a été la plus représentée à Kéména alors qu'à Sougoula se sont les moins de 5 ans (19,5%), ce sont les plus nombreux,

Chi<sup>2</sup>=233,62 ddl=7 p<0,0001 pour le village de Kéména

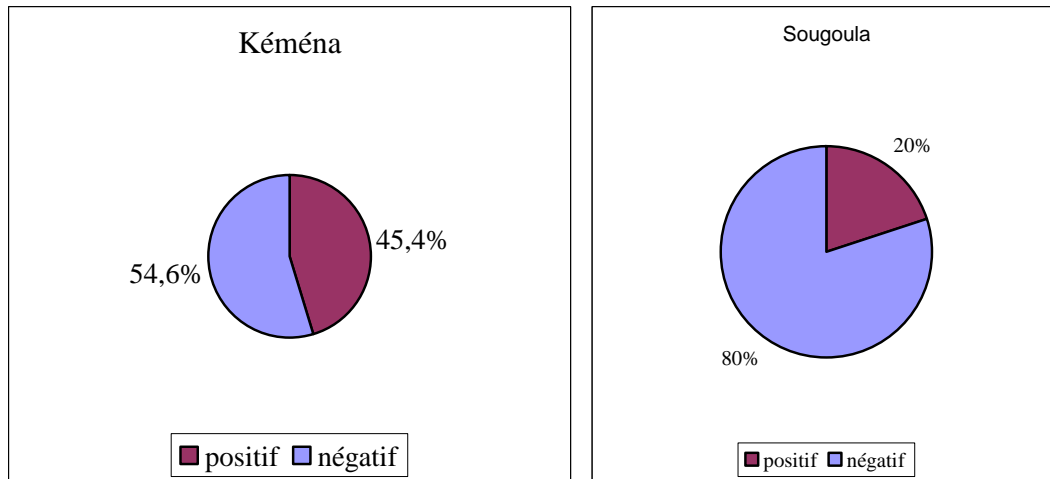
Chi<sup>2</sup>=272,13 ddl=7 p<0,0001 pour le village de Sougoula

L'âge maximum de notre population d'étude a été de 91 ans et de 92 ans respectivement à Kéména et à Sougoula. La moyenne des âges a été de 21,4 et 20,9 avec un Ecart-type de 19,9 et de 19,2 respectivement à Kéména et à Sougoula.

Le sexe féminin était le plus représenté (plus de 52% de la population) dans les 2 villages. Le sex ratio est de 1,11 en faveur du sexe féminin.

## 5.2.2 Résultats du Test Cutané à la Leishmanine ( Prévalence de l'exposition au parasite de la leishmaniose)

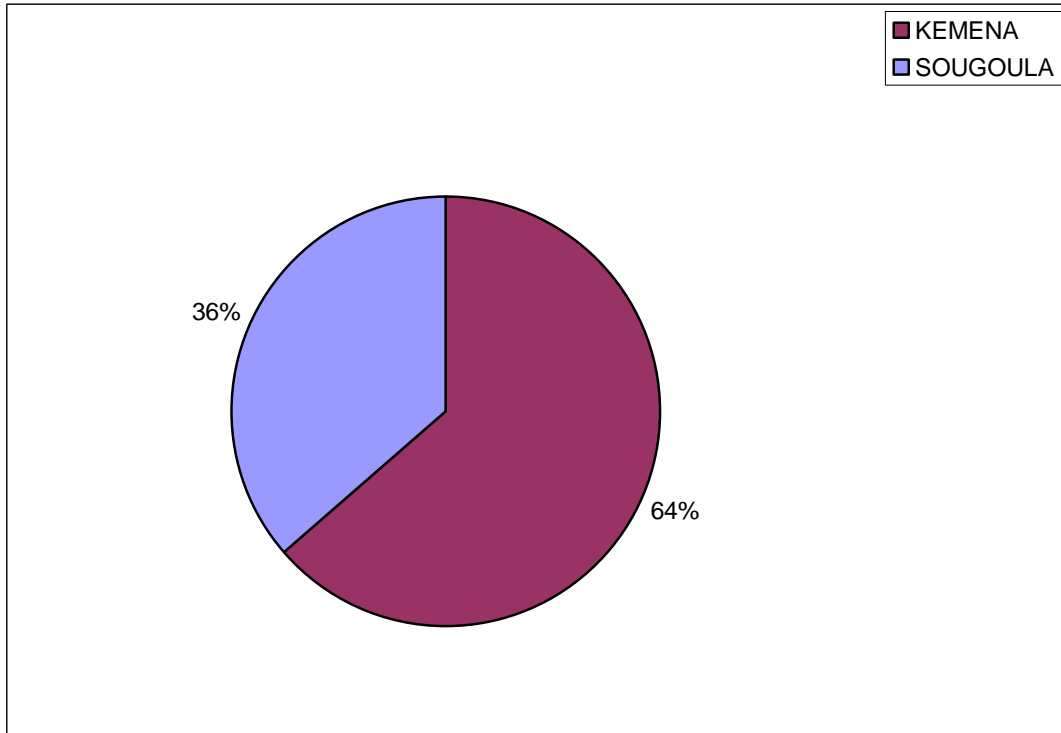
### Prévalence selon la résidence :



**Figure 15** : Répartition des résultats du TCL1 selon la résidence

Le taux de prévalence ou de réaction cutanée positive au test cutané à la leishmanine était de 45,4% (301/663) à Kéména et de 20% (173/867) à Sougoula (différence significative,  $p < 0,001$ ).

### Répartition des cas positifs au TCL par village (N=474)



**Figure 16** : Répartition des résultats positifs selon la résidence

Il ressort de cette figure que 64% des 474 cas de TCL1 positifs ont été observé à Kéména.

**Tableau VII: Prévalence de l'exposition par tranche d'âge**

<b>Tranche d'âge (année)</b>	<b>KEMENA</b>			<b>SOUGOULA</b>		
	<b>N.testé</b>	<b>N.positif</b>	<b>%positif</b>	<b>N.testé</b>	<b>N.positif</b>	<b>%positif</b>
<b>&lt; 5</b>	127	13	10,2	169	10	5,9
<b>5-9</b>	145	55	37,9	156	17	10,9
<b>10-19</b>	130	58	44,6	198	28	14,1
<b>20-29</b>	66	39	59,1	120	31	25,8
<b>30-39</b>	62	34	54,8	69	31	44,9
<b>40-49</b>	48	36	75,0	47	19	40,4
<b>50 et plus</b>	85	66	77,6	108	37	34,3
<b>Total</b>	663	301	45,4	867	173	20,0

La prévalence de l'exposition au parasite augmente avec l'âge dans les 2 villages (Kéména,  $X^2= 105,54$   $p<0,001$  ; Sougoula,  $X^2=81,38$   $p<0,001$ ).

**Tableau VIII: Prévalence de l'exposition par sexe et par village:**

Sexe	Kéména			Sougoula			Total		
	Ntesté	positif		Ntesté	positif		Ntesté	positif	
		N	%		N	%	N	%	
<b>Féminin</b>	348	164	47,1	461	90	19,5	809	254	31,4
<b>Masculin</b>	315	137	43,5	406	83	20,4	721	220	30,5
<b>Total</b>	663	301	45,4	867	173	20,0	1530	474	31,0

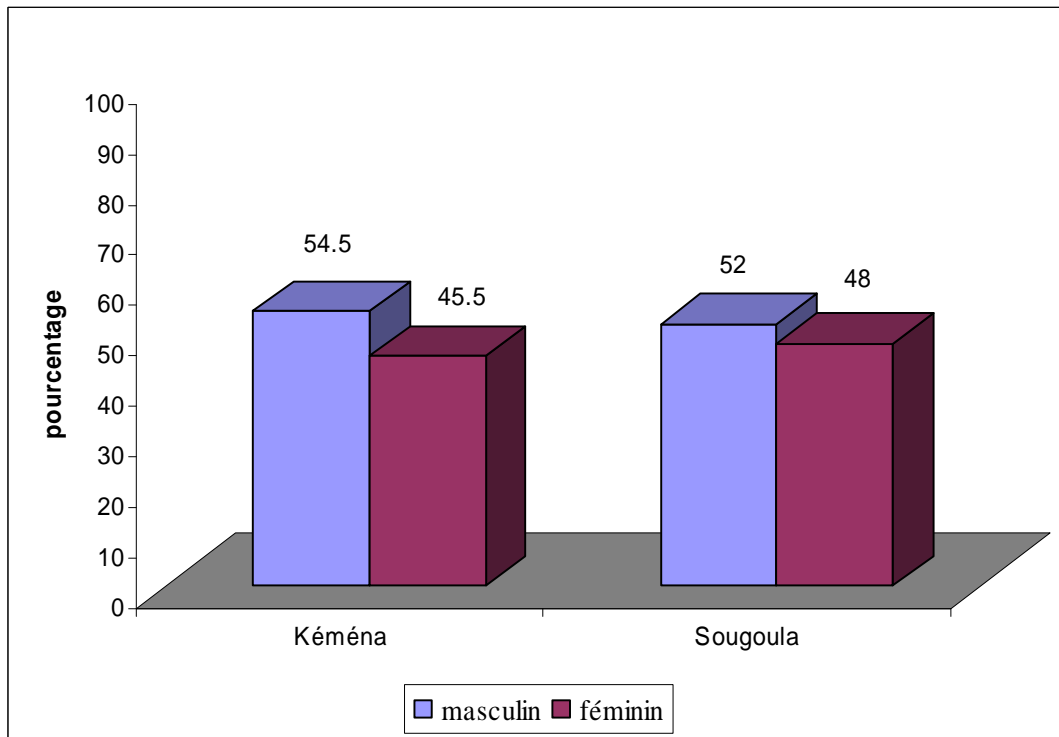
Dans les 2 villages la positivité au TCL était comparable dans les deux sexes:

Kéména,  $X^2=0.34$   $p=0.34$  OR= 1,08 en faveur du sexe féminin

Sougoula,  $X^2=0.11$   $p= 0.73$  OR= 1,04 en faveur du sexe masculin



### Répartition des cas positifs au TCL par sexe à Kéména et à Sougoula



**Figure 17 :** Répartition des cas TCL1+ par sexe dans les deux villages

Le niveau d'exposition au parasite est comparable dans les deux sexe quel que soit le village (Kéména  $X^2=2,43$   $p=0,11$  ; Sougoula  $X^2=0,28$   $p=0,59$ ).

**Tableau IX: Prévalence de l'exposition par l'ethnie par village:**

Ethnie	Kemena			Sougoula		
	N testé	N positif	%positif	N testé	N positif	%positif
<b>Bambara</b>	338	156	46,1	420	91	21,6
<b>Peulh</b>	143	57	39,8	227	45	19,8
<b>Sarakolé</b>	173	86	49,7	202	33	16,3
<b>Autres</b>	9	2	25,0	18	4	22,2
<b>Total</b>	663	301	45,4	867	173	20

Le taux d'exposition au parasite (positivité au TCL) est comparable dans les groupes ethniques à Kéména ( $X^2=3,11$   $p=0,21$ ) et à Sougoula ( $X^2=2,43$   $p=0,29$ ).

Le tableau X montre les mesures des diamètres d'induration. La moyenne des diamètres a été respectivement de 14,2 mm (Min= 5,10 Max= 63) et de 13,3 mm (Min= 5,6 Max= 37,5) à Kéména et à Sougoula.

**Tableau X: Mesures des diamètres d'induration du TCL1**

Diamètre	Kéména	Sougoula
Moyen	14.2	13.3
Médian	12.8	12.2
Ecart type	7.1	5.8
Minimum	5.1	5.6
Maximum	63.0	37.5

### 5.3 Phase de suivie Clinique

Les sujets négatifs au TCL1 ont fait l'objet d'un suivi actif mensuel à la recherche de lésions pour diagnostic clinique et prélèvement pour culture au laboratoire. Le tableau XII montre les types de lésions observés chez les malades par mois et par village.

**Tableau XI: Répartition des lésions par type, par mois et par village**

<b>Kéména</b>						
<b>Type Lésion</b>	<b>Août</b>	<b>Septembre</b>	<b>Octobre</b>	<b>Novembre</b>	<b>Décembre</b>	<b>Total Lésions</b>
	<b>nbre lésion</b>	<b>nbre lésion</b>	<b>nbre lésion</b>	<b>nbre lésion</b>	<b>nbre lésion</b>	
<b>ulcération</b>	0	4	9	6	3	<b>22</b>
<b>croute</b>	0	0	0	1	0	<b>1</b>
<b>nodule</b>	2	0	2	2	0	<b>6</b>
<b>papule</b>	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>mixte</b>	0	0	0	0	1	<b>1</b>
<b>autres</b>	1	0	3	0	0	<b>4</b>
<b>indéterminé</b>	0	1	2	2	0	<b>5</b>
<b>total</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>16</b>	<b>11</b>	<b>4</b>	<b>39</b>
<b>Sougoula</b>						
<b>ulcération</b>	0	1	21	12	21	<b>55</b>
<b>croute</b>	0	0	0	0	1	<b>1</b>
<b>nodule</b>	1	0	3	0	0	<b>4</b>
<b>papule</b>	0	0	5	1	0	<b>6</b>
<b>mixte</b>	0	0	1	1	0	<b>2</b>
<b>autres</b>	0	0	8	0	2	<b>10</b>
<b>indéterminé</b>	0	0	2	1	0	<b>3</b>
<b>total</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>40</b>	<b>15</b>	<b>24</b>	<b>81</b>

Il ressort de ce tableau que la majorité des lésions étaient observée en octobre. L'ulcère a été le type de lésion le plus rencontré.

Le tableau XIII montre une répartition des lésions par tranche d'âge et par village. Il ressort de ce tableau que la fréquence des lésions diminuait en fonction de l'âge à Kéména avec plus de 43% des cas chez les moins de 5 ans et seulement 5,1% chez les plus de 20 ans. A Sougoula la majorité des cas a été observé dans la tranche d'âge de 11-20ans.

**Tableau XII: Répartition des lésions par tranche d'âge et par village**

Tranche d'âge	Kéména (N=329)		Sougoula (N=637)	
	Effectif	pourcentage	Effectif	pourcentage
<5 ans	17	43,6	26	32,1
5-10ans	14	35,9	17	21,0
11-20ans	6	15,4	27	33,3
21 ans et plus	2	5,1	11	13,6
<b>Total</b>	39	100,0	81	100,0

A Kéména,  $X^2= 19,79$        $p<0,001$

A Sougoula,  $X^2= 11,51$        $p=0,0092$

Durant les cinq mois de suivi une quinzaine de lésions ont été prélevées sur 15 malades et mises en culture à la recherche du parasite de la leishmaniose. Mais aucune des cultures n'a été positive pour *leishmania major*.

#### 5.4 Phase de ré-administration de la leishmanine

#### L'Incidence annuelle de l'exposition au parasite (la positivité au TCL) à Kéména et à Sougoula.

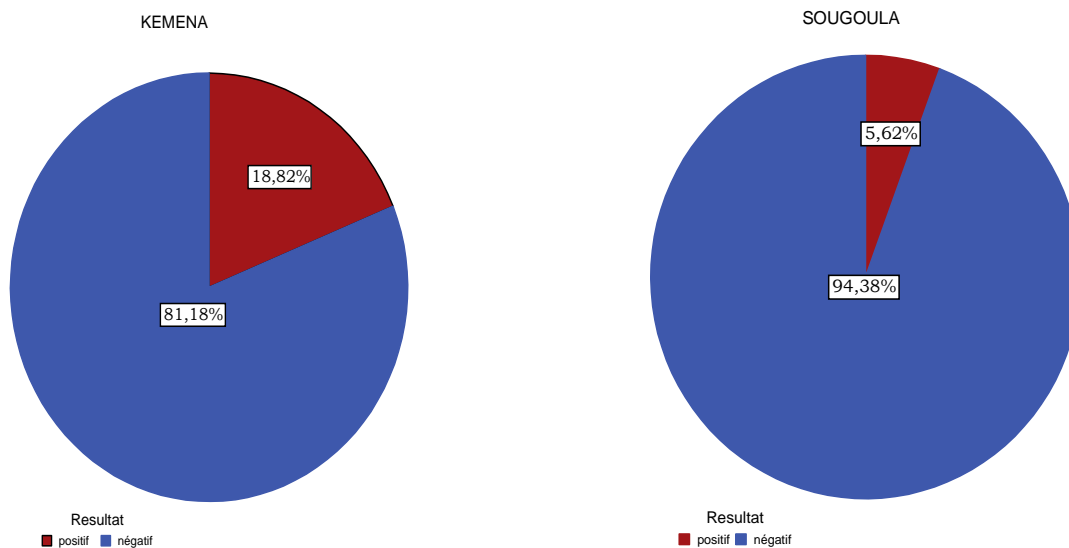
Après cinq mois de suivi clinique le TCL (TCL2) a été administré à 866 sujets négatifs au premier TCL (TCL1-) en Mars 2007 pour évaluer l'incidence annuelle de l'exposition au parasite dans les deux villages.

Parmi eux 10 ont manqué le délai de lecture requis (7 à Kéména et 3 à Sougoula).

Ainsi 856 sujets ont achevé l'étude dont 287 à Kéména et 569 à Sougoula.

L'incidence annuelle de l'exposition était de 10% dans les deux villages réunis.

Ce taux était de 18,8% (54/287) à Kéména et seulement de 5,6% (32/569) à Sougoula (voir figure 20 ci-dessous).



**Figure 18:** Taux d'incidence annuelle de la positivité au TCL par village

**Tableau XIII:** L'incidence de l'exposition au parasite (positivité au TCL) par tranche d'âge par village

<b>Tranche d'âge en année</b>	<b>Kéména</b>			<b>Sougoula</b>		
	<b>Ntesté</b>	<b>Npositif</b>	<b>%positif</b>	<b>Ntesté</b>	<b>Npositif</b>	<b>%positif</b>
<5	97	7	7,2	146	7	4,8
5-9	79	20	25.3	121	1	0,8
10-19	46	10	21.7	116	6	5.2
20-29	19	8	42.1	61	5	8.2
30-39	20	0	0	33	4	12.1
40-49	11	0	0	26	1	3.8
50 et plus	15	9	60	66	8	12.1
<b>Total</b>	287	54	18.8	569	32	5.6

**Tableau XIV:** L'incidence de la positivité au TCL par sexe et par village

<b>Sexe</b>	<b>Kéména</b>			<b>Sougoula</b>			<b>Total</b>		
	<b>Ntesté</b>	<b>Npositif</b>	<b>%positif</b>	<b>Ntesté</b>	<b>Npositif</b>	<b>%positif</b>	<b>Ntesté</b>	<b>Npositif</b>	<b>%positif</b>
<b>Féminin</b>	134	27	20.1	290	18	6.2	424	45	10,6
<b>Masculin</b>	153	27	17.8	279	14	5.0	432	41	9,5
<b>Total</b>	287	54	18,8	569	32	5,6	856	86	10,0

L'incidence annuelle de la positivité au TCL était comparable dans les deux sexes ceci quelque soit le village, Kéména:  $X^2=0,26$   $p=0,60$ , Sougoula :  $X^2=0,38$   $p=0,53$

**Tableau XV:** L'incidence de la positivité au TCL par ethnie et par village

<b>Ethnies</b>	<b>Kéména</b>			<b>Sougoula</b>		
	<b>N testé</b>	<b>Positif</b>	<b>%positif</b>	<b>N testé</b>	<b>positif</b>	<b>%positif</b>
<b>Bambara</b>	100	17	17%	297	20	6,7
<b>Peulh</b>	101	21	20,8	99	5	5,1
<b>Sarakolé</b>	74	14	18,9	138	6	4,3
<b>Autres</b>	11	2	18,2	35	1	2,9

L'incidence annuelle de la positivité au TCL est comparable dans les groupes ethniques ceci quelque soit le village;

Kéména:  $X^2=0,47$   $p=0,79$  Sougoula:  $X^2=1,11$   $p=0,57$ .

Le tableau XVII regroupe les mesures des diamètres d'induration du deuxième test cutané à la leishmanine (TCL2).

**Tableau XVI: Mesures des diamètres d'induration en TCL2**

Diamètre	Kéména	Sougoula
Moyen	9.4	10.1
Médian	9.2	8.4
Ecart-type	3.6	5.6
Minimum	5.0	5.1
Maximum	25.6	29.3

La moyenne des diamètres d'indurations variait peu d'un village à l'autre. Cependant on note une légère supériorité de cette mesure à Sougoula (10,1 mm) comparé à celle de Kéména (9,4 mm).



## **6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION**

### **Méthodologie**

Les contacts antérieurs avec les populations de Kéména et Sougoula de la phase d'identification du site, la collaboration multidisciplinaire MRTC/CNAM/NIH ont été des points forts de cette initiative de recherche épidémiologique. L'étude a été présentée au comité d'éthique de la Faculté de Médecine qui a donné son avis favorable à sa réalisation.

Ainsi, le respect des règles d'éthiques (consentement éclairé, formation des investigateurs aux Bonnes Pratiques Cliniques et à la méthodologie de recherche) ont contribué à minimiser les refus et les perdus de vue. A cela s'ajoute l'accessibilité géographique très facile de ces villages (2 heures de Bamako par route) font de ces sites un environnement agréable aux études épidémiologiques.

Le test cutané à la leishmanine ou test de Monténégro est une technique permettant de mettre en évidence une exposition antérieure au parasite et l'état immunitaire de l'hôte face à celui-ci. Elle est largement utilisée dans les études de surveillance épidémiologique (43).

La leishmanine utilisée dans cette étude a été fournie par le centre de leishmaniose de l'institut Pasteur d'Iran qui est un centre de référence de l'OMS. Chaque flacon de leishmanine contenant 2,5 ml de solution aqueuse de  $6 \times 10^6$  de promastigote du parasite *L. major* (souche MRHO/IR/ER) tués était conservé à une température de 4°C jusqu'à l'utilisation.

Le Suivi clinique pour détection active de cas de *leishmaniose* cutanée a débuté trois mois après le TCL1. Nous avons observé ce laps de temps entre le premier passage (TCL1) et le suivi mensuel en tenant compte du temps d'incubation de la maladie qui est de un à trois mois.

La méthode active de suivi clinique pour la détection des cas de lésions suspectes a été adoptée. Contrairement à la méthode passive. Ce qui a permis de minimiser

les pertes de cas surtout dans une localité où la plaie n'est pas le motif de consultation plus fréquent. En outre, les plaies chroniques de leishmaniose cutanée sont généralement perçues comme un mauvais sort (14).

Comme toute étude longitudinale, cette étude a souffert de certaines difficultés notamment les mouvements périodiques de certains de nos patients ; rendant ainsi difficile le suivi global de tous les participants au cours des différents passages.

## **Résultats**

Dans notre étude, le recensement a concerné toutes les tranches d'âge dans les deux villages. Pour l'application du TCL nous avons choisis un an pour âge minimum pour des raisons éthiques.

La pyramide des âges (Fig. 14) est à lier à la jeunesse de la population dans un contexte de forte natalité.

Le sexe féminin représentait plus de 50% de la population générale; les sex ratio sont de 1,07 et 1,09 respectivement à Kéména et à Sougoula en faveur des femmes **(Tableau IV)**.

Sur le plan ethnique on notait essentiellement trois groupes ethniques : les Bambara majoritaires avec 54,5% et 45,3% de la population générale, respectivement à Sougoula et à Kéména et les deux groupes minoritaires dominants, Peulh (31,3%) à Kéména et Sarakolé (26,1%) à Sougoula **(Tableau IV)**.

Quelque soit le village, l'éducation représente un problème social majeur. En effet le niveau d'instruction de la population est très faible: 71,4% et 74,9%, de la population est analphabète à Kéména et Sougoula **(Tableau V)**. Cela s'explique par l'ouverture récente d'école dans ces villages (seulement en 2000 l'école de Sougoula a vu le jour). Les classes de cette école jusque là sont insuffisantes par rapport à l'effectif d'enfants scolarisables par an. Un autre facteur influençant le taux de scolarisation actuel à Sougoula est le caractère semi communautaire de son école marqué par l'incapacité des parents à prendre en charge la scolarisation

de l'ensemble de leurs enfants scolarisables et les moyens limités du village pour la prise en charge de l'enseignant dont la charge leur incombe.

Quant à Kéména avec son école plus récente (2003) de caractère totalement communautaire, on voit aisément toutes les difficultés de scolarisation des enfants.

Les taux de participation à l'étude proprement dite ont été respectivement de 63,85% (675/1057) à Kéména et 71,23% (874/1227) à Sougoula. Ce fort taux de participation pourrait être expliqué par le caractère actif de l'étude qui a l'avantage de motiver les sujets même apparemment sains sur le plan clinique. Ce qui peut influencer sur la prévalence de l'exposition au parasite de la leishmaniose cutanée dans la localité (positivité au TCL).

La prévalence de la positivité au TCL est plus élevée à Kéména (45,4%) qu'à Sougoula (20%) (**Fig 15**),  $p < 0,001$ .

Nous avons constaté une variation significative de la positivité au TCL avec l'âge et ceci quelque soit le village (**tableau VII**),  $p < 0,001$ . Ce résultat est similaire à celui de Impérato et Diakité en 1969 (6).

À l'intérieur du même village, les deux sexes ont un niveau d'exposition comparable au parasite (**tableau VIII**). Ceci est similaire à ceux de la plus part des études de Impérato et collaborateurs (6,10, 11). Mais Impérato et collaborateurs au cours d'une étude à Mopti en 1969 ont trouvé une différence significative quant à la positivité au TCL dans les deux sexes ( $p < 0,001$ ). Cette différence s'expliquait par le fait qu'à Mopti les hommes voyageaient beaucoup dans les zones de brousse que les femmes.

Nous n'avons pas trouvé de variation statistiquement significative inter ethnique pour la sensibilité cutanée au test à la leishmanine et ceci quelque soit le village:

Kéména ( $p = 0,21$ ); Sougoula ( $p = 0,50$ ) (**tableau IX**).

Cependant, Ahmed Ali et all (41), au cours d'une étude de surveillance par TCL « in Lower Awash Valley » (Ethiopie) entre 1996-97 ont observé une variation

significative quant à la positivité cutanée au TCL entre les principaux groupes ethniques ( $p < 0,001$ ). Ces auteurs ont enregistré une prévalence élevée de positivité dans le groupe ethnique Afar comparé aux autres ethnies.

La moyenne des diamètres a été de 14,2mm et de 13,3mm avec des extrêmes de (5,10mm et 63mm) et (5,60mm et 37,5mm) respectivement à Kéména et à Sougoula. Ainsi on constate que les diamètres mesurés sont en général plus élevées à Kéména qu'à Sougoula (**tableau X**).

L'ulcère a été le type de lésion le plus rencontré quelque soit le village de même la majorité des lésions a été détectée en Octobre (**tableau XI**). Ce résultat diffère de celui de S. Kéita et autres (13) qui ont observé un polymorphisme clinique de la leishmaniose. A Kéména, plus de 43% des cas de lésion ont été détectés chez les moins de 5 ans et seulement 5% chez les plus de 20 ans (**tableau XII**),  $p < 0,001$ .

L'incidence annuelle de l'exposition au parasite était de 10% pour les deux villages. Cependant, comme la prévalence de la positivité, il existe aussi une différence entre les deux villages quant à l'incidence annuelle de la positivité au TCL,  $p < 0,001$  (**figure 18**).

Au LST2 les mesures des diamètres d'indurations varient peu d'un village à l'autre contrairement à celle du LST1, même si l'on peut noter une légère supériorité de moyenne de Sougoula (10,1mm) comparé à celle de Kéména (9,4mm) (**tableau 17**).

Au vu de nos résultats nous remarquons trois faits majeurs:

- ✓ L'hétérogénéité de l'exposition au parasite entre les deux villages qui sont pratiquement situés dans la même zone: 45,4% à Kéména et 20% à Sougoula

Ce qui pourrait s'expliquer soit par:

- la susceptibilité individuelle au parasite,
- le microenvironnement.

Aucune ne peut être retenue de façon formelle.

- ✓ L'augmentation du taux d'exposition (positivité au TCL) avec l'âge dans les deux villages: en effet l'exposition est fonction de la présence de l'individu

pendant longtemps dans la zone de transmission et la positivité au TCL peut être aussi une relation dose/effet (plus on est exposé, plus on a la chance d'être positif).

- ✓ La décroissance de la fréquence de lésions quand l'âge augmente particulière à Kéména peut être expliqué par l'acquisition de l'immunité en fonction de l'âge.

Aussi le nombre relativement peu élevé des lésions versus de la positivité au TCL dans les deux villages montre un niveau d'immunisation élevé des populations contre la leishmaniose maladie.

## **7. Conclusion et recommandations**

### **✓ Conclusion**

La surveillance épidémioclinique de la leishmaniose cutanée, évaluant l'incidence annuelle de l'exposition au parasite par la technique standard du Test Cutané à la Leishmanine et le suivi pour détection clinique active est une première au Mali. Elle a permis d'établir d'une part, la prévalence et l'incidence annuelle de l'exposition au parasite de la LC (positivité au TCL) et d'autre part de comprendre les facteurs influençant la réponse cutanée au TCL dans une communauté vivant en zone endémique de Barouéli.

L'établissement des taux naturels individuels de réponse cutanée au TCL, qui est un bon reflet de l'immunité à l'infection, est une référence importante pour l'évaluation future de vaccin contre la leishmaniose.

Notre étude effectuée d'avril 2006 à mars 2007 a montré que sur 1530 sujets volontaires des villages de Kéména et Sougoula:

- 474 sujets soit 31% ont développé une réaction cutanée positive au TCL.
- Plus de 63% des sujets exposés au parasite (TCL+) de la leishmaniose résidaient à Kéména
- L'âge et la résidence ont été les facteurs déterminants de cette positivité.
- Sur les 856 sujets qui ont achevés l'étude, 10% (86/856) ont développés une réaction cutanée positive TCL.
- Le taux d'incidence annuelle de l'exposition au parasite a été de 18,8% à Kéména et 5,6% à Sougoula.

### **✓ Recommendations**

Les résultats de notre étude nous amènent à formuler les recommandations suivantes :

**Au chercheur :**

- Entreprendre d'autres études notamment sur le comportement des populations, le microenvironnement dans les deux villages pour bien élucider la différence observée dans l'incidence de l'exposition.
- Utiliser d'autres techniques de diagnostic de confirmation telle que la PCR plus spécifique.

**A la population:**

- Eviter le retard de consultation après le début d'une quelconque plaie

**Au ministère de la santé :**

- Formation de spécialiste en dermatologie de façon générale et plus particulièrement en leishmaniose.
- Multiplication de centres spécialisés dans le diagnostic et la prise en charge des cas de leishmaniose.

## **8. BIBLIOGRAPHIE**

1. Dedet J.P. Leishmanies, leishmanioses. Biologie, clinique et thérapeutique. *Encycl. Med. Chir.*, Maladies infectieuses, 8-506-A-10, 2001, 11 p.
2. Communiqué de presse,WHO/OMS 1998, augmentation brutale du nombre de cas de leishmaniose viscerale dans la corne de l'Afrique.
3. Professeur Pierre Aubry. Distribution mondiale des leishmanioses et des co-infections à *Leishmania* /VIH en 2000. OMS, mise à jour le 19/01/2007
4. Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet* 1999; 354:1191-9.
5. Desjeux P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001; 95: 239-43.
6. Imperato P.J. and Seydou Diakité. Leishmaniasis in the Republic of Mali. Minister of health and Social Affairs, Republic of Mali. *Tropical Medicine and Hygiene* 1969 ; 63(2) : 236-241.
7. Garin P. et al. (1974) Présence de *leishmania major* yakimoff et schokhor, au Mali. Identification enzymatique d'une souche d'origine humaine. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 1985: 91-93.
8. Izri (MA.) Présence de *leishmania major*. Mon-26 au Mali. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 1989' 64: 510-511.
9. P.J. Imperato, B. Fofana, O. Sow and S. Diallo, Leishmanine Skin sensitivity inland delta of the Niger, Mali, 1974; 26: 303-306.
10. P.J. Imperato, and Bradrick, M., Leishmanin Skin Sensitivity in Timbuctou, 63(1969) 216-217.



11. Pascal James Imperato, Bkary Coulibaly and Téninko Togola, Leishmanin Skin Sensitivity in Northwest Mali, Ministry of Public Health, and National Communicable Disease Center, U.S.P.H.S, 1969, Bamako, Mali.
12. M.A. IZRI, O. DOUMBO, S.BELAZZOUG, and F.PRATLONG, Presence de *Leishmania Major* MON-26 Au Mali, Ann. Parasitol. Hum. Comp., 1989, 64, n°6, pp.310-511.
13. KEITA S, FAYE O, N'DIAYE HT, KONARE HD. *Epidémiologie et polymorphisme clinique de la leishmaniose cutanée observée au CNAM (ext- Institut MARCHOUX)*, Mali Médical 2003 T XVIII N° 1&2 29.
- 14-. S. Samake, étude entomo-clinique de la leishmaniose cutanée dans trois villages du cercle de Barouéli (MALI), thèse de pharmacie Bko, Mali, 2006.
15. I. Sissoko Etude du role de P. dubosqui dans la transmission de la L.C au Mali, INSP d'OUIDAH, Bénin, mémoire de DEA 21 Juin 2007.
16. Thérèse Duriez et al. Les leishmanioses dans cours de parasitologie, Laboratoire de Parasitologie Faculté de Pharmacie Lille ; mise à jour:2/07/2002.
17. Roberts L. S. and Janovy. J.J. (2000) *Gerald D, Schmidt & Larry S, Roberts' Foundations of Parasitology* , McGraw-Hill Higher Education, Boston.
18. Cavalier-Smith. T. (1993) The kingdom Protozoa and its 18 phyla, *Microbiology reviews*. 57. 953-994.
19. Slappendel and Ferrer, Clinical forms of human leishniasis and associated parasites, 1998.

20. Sangare C. S *et al.* Systématique et écologie d'une population de phlébotomes (Diptera – psychodidae) vivant dans des biotopes à Damans de rocher (*Procavia refipès*, mammifères hyracoïdes) sur le flanc de la colline du point G, Bamako Mali, thèse – troisième cycle biologie, 1974 Bamako – Mali.

21. Belkaid. Y *et al.* (1998) Development of a natural model of cutaneous leishmaniasis: powerful effects of vector saliva and saliva preexposure on the long-term outcome of *Leishmania major* infection in the mouse ear dermis. *The Journal of Experimental Medicine*, 188. 1941-1953.

22. Katz. O. *et al.* (1998) Adenosine, AMP, and protein phosphatase activity in sand fly saliva, *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 62. 145-150.

23. Hall. L.R. and Titus. R.G. (1995) Sand fly vector saliva selectively modulates macrophage functions that inhibit killing of *Leishmania major* and nitric oxide production, *Journal of Immunology*, 155. 3501-3506.

24. Kamhawi. S. *et al.* (2000a) Protection against cutaneous Leishmaniasis resulting from bites of uninfected sand flies. *SCIENCE.* 290. 1351 – 1354.

25a. Theodos. C.M. and Titus. R.G. (1993) Salivary gland material from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* has an inhibitory effect on macrophage function in vitro, *Parasite.*

25b. Theodos and al, Analysis of Enhancing Effect of Sand Fly Saliva on *Leishmania* Department of Tropical Public Health, Harvard School of Public Health, Boston, february, 1991.

26.OMS/WHO,2002

[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/Documents/PEEM2/english/peem2ann3.htm](http://www.who.int/water_sanitation_health/Documents/PEEM2/english/peem2ann3.htm).

27. Arevalo *et al.* Successful treatment of drug-resistant cutaneous leishmaniasis in humans by use of imiquimod, an immunomodulator, *Clinical Infectious Diseases*, 2001, 33, 1847-1851.
28. Handman, E. Leishmaniasis: Current status of vaccine development. *Clinical microbiology reviews*, 2001, 14, 229.
29. S. Dembélé 1992 l'intérêt d'un traitement de la forme cutanée par le 4-4 diamino diphényl sulfone à Bamako (Institut Marchoux).
30. Sacks D. and Kamhawi S. (2001) Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in Leishmaniasis, *Annual Reviews in Microbiology* , 55 , 453-483.
31. Sjölander, A. *et al* (1998) Induction of a Th1 immune response and simultaneous lack of activation of a Th2 response is required for generation of immunity to leishmaniasis. *Journal of Immunology*, 160, 3949–3957.
32. Walker, P.S. *et al*, (1998) Genetic immunization with glycoprotein 63 cDNA results in a helper T cell type 1 immune response and protection in a murine model of leishmaniasis. *Human Genetics Therapeutics*, 9, 1899–1907.
33. L'immunité contre les leishmanies Université de Nice-Sophia Antipolis, France m/s n° 11, vol. 17, novembre 2001  
<http://ist.inserm.fr/BASIS/medsci/fqmb/medsci/DDD/6798.pdf>.
34. Culley and al., *Clinical & Experimental Immunology*, *Journal of translational Immunology* Volume 105 Issue 3 Page 429-436, September 1996.
35. Bodman Smith and al, C-reactive protein-mediated phagocytosis of *Leishmania donovani* promastigotes does not alter parasite survival or macrophage responses,

Department of Infectious and Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine, 2002.

36. Tripathi et Gupta, 2003, Proteophosphoglycan is differentially expressed in sodium stibogluconate-sensitive and resistant Indian clinical isolates of Leishmania donovani.

37. Control of Leishmania Major Infection in a Mouse Model of Cutaneous Leishmaniasis, The Journal of Experimental Medicine on July, 2003, 185-190).

38. Cours de Parasitologie, Faculté de pharmacie, Lille , 2002.

[http://arachosia.univ\\_lille2.fr/labos/parasito/Internat/courspar/leishman.html](http://arachosia.univ_lille2.fr/labos/parasito/Internat/courspar/leishman.html).

39. Diakité S. O. (1990), Contrôle des gîtes phlébotomiens situés sur le flanc ouest de la colline du point G et enquêtes cliniques sur la leishmaniose cutanée à l'école du point G proche des gîtes. Mémoire de fin d'étude ENSUP Bamako – Mali.

40. Imperato J.O.O. Intra dermo-réaction a la leishmaniose cutanée dans le cercle de Kita (Mali). Afr. Med, 1974, 120 : 411-141.

41. Leishmaniasis survey in the Awash Valley : The magnitude of positive leishmanin reaction and its pattern in the Middle Awash , Ahmed and al. Ethiop. J. Health. Dev. 2002 ; 16(2) : 157-163.

42. Evaluation de la positivité du test cutané à la leishmanine et son rapport avec la durée de la maladie, Journal ; Dermatologie on-line, 2006.

43. Simon M Agwale, Dockha D Duhlinska, Gabriel Grimaldi Jr, Response to Heterologous Leishmanins in Cutaneous Leishmaniasis in Nigeria - Discovery of a New Focus, 1998.

# ANNEXES

## Résumé

**Nom:** DIARRA

**Prénom:** Souleymane Sékou

**Titre:** Etude de l'incidence de l'exposition au parasite de la Leishmaniose cutanée en zone d'endemie de Barouéli (Kéména et Sougoula)

**Année de soutenance:** 2007

**Pays d'origine:** Mali

**Lieu de dépôt:** Bibliothèque de la FMPOS

**Secteur d'intérêt:** Epidémiologie

### Résumé:

Une étude longitudinale par passages transversaux a été conduite a Barouéli (Kéména et Sougoula) d'avril 2006 à mars 2007 sur les aspects épidémiologiques de la leishmaniose cutanée. Ces deux villages d'une population totale d'environ 2200 habitants sont situés en zone nord- soudano- sahélienne du Mali, à environ 180 km par route au Nord-Est de Bamako.

Notre objectif à long terme est de préparer ce site pour un futur essai vaccinal basé sur la glande salivaire du phlébotome, en recueillant les données épidémiologiques et cliniques indispensables sur le niveau d'immunité naturelle individuelle.

Dans cette étude nous avons évalué la prévalence de (l'exposition au parasite) la positivité au test cutané à (TCL) qui un bon reflet du niveau de l'immunité. Un suivi clinique actif pour détection des lésions suspectes de leishmaniose a été effectué entre les deux TCL.

Nous avons observé une différence statistiquement significative entre les deux villages pour la positivité du TCL ( $p < 0,001$ ).

En plus de la résidence (Kéména /Sougoula), l'âge a été aussi un facteur déterminant de la sensibilité cutanée au TCL et ceci quelque soit le village.

L'ulcère a été le type de lésion le plus fréquent ; le maximum de ces lésions a été détecté en mois d'octobre. Le taux d'incidence de la positivité au TCL varie d'une localité à une autre, il est de 18,8% à Kéména et de seulement 5,6% à Sougoula ( $p < 0,001$ ).

**Mots clés: Leishmaniose cutanée, Prévalence Barouéli, Mali.**

**Summary:**

This is a longitudinal study based upon repeated cross-sectional surveys, which were conducted in Baroueli (Kemena and Sougoula villages) from April 2006 to March 2007, designed to explore the epidemiological aspects of cutaneous leishmaniasis. These two villages, with a total population of about 2200 inhabitants, are located in the north of the Sudano-Sahelian zone in Mali, 180 km northeast of Bamako. Our long-term objective is to prepare these sites for a future pilot vaccine trial with sandfly's salivary gland. Thus, we are currently collecting indispensable epidemiological data concerning the baseline natural immunity level in this endemic zone.

We have measured the prevalence to the *Leishmania major* in these communities with the leishmanin skin test (LST). The first LST test was conducted in the beginning of the study. The second at the end thus, also providing a measure of the apparent incidence. Subsequently, negative cases were followed during the investigational period to monitor existing and newly diagnosed lesions. The prevalence differs for the two villages (2-tail p-value < 0.001). However, the prevalence depends on age, as expected, and regardless of the village in question. Ulcerative leishmaniasis lesions were frequently diagnosed than non-ulcerative ones, particularly around October 2006; and, they were most often seen in children. Finally, the incidence also differs between both villages: 18.8% and 5.6% for Kemena and Sougoula, respectively.

**Keywords:** cutaneous leishmaniasis, prevalence, incidence, Baroueli, Mali.

# Questionnaire

## **A/ Enquête sociodémographique, avril 2006 MRTC/FMPOS, Université de Bamako**

Date/\_\_/\_\_/\_\_/ Village : 1= Kéména 2= Sougoula  
N° de concession/\_\_\_/ Chef de famille :..... N° Famille:/\_\_\_/  
Ménage .....N° ordre..... Prénom& Nom..... sexe....  
..... Age..... Date de naissance (jj/mm/aa).....

### **Lien de parenté/ chef de ménage ##**

0= aucun, 1=chef de ménage, 2= épouse, 3= fille/fils, 4= père/mère 5= frère/sœur, 6= beau-fils/belle-fille, 7= petit fils/petite fille, 8= grands-parents, 9= cousin(e) maternel(le)  
10= cousin(e) paternel(le), 11= Neveu/nièce maternel(le), 12= Neveu/nièce paternel(le), 13= oncle/tante maternel(le), 14= oncle/tante paternel(le)  
15= ami(e) 16= enfant d'ami(e), 17= protégé(e),  
18= autres préciser.....

### **Ethnie#**

1= Bambara, 2= Peulh, 3=Sarakolé, 4= Maure, 5= Malinké, 6= Bozo, 7= Somono, 8= Dogo, 9= autres à préciser.....

### **Statut matrimonial ##**

1= monogame, 2= polygame 2 femmes, 3= polygame 3 femmes  
4= polygame 4 femmes, 5= célibataire, 6=veuf (ve), 7= divorcé(e), 8=fiancé(e)

### **Village de naissance=** 1=Kéména, 2= Sougoula, 3= Niazana,

4= Niamian, 5= Barouéli, 6= autres localités de Barouéli, 7= hors du cercle de Barouéli

### **Profession (activité principale) ##**

1= cultivateur, 2= ménagère/femme de foyer, 3= commerçant(e),  
4= éleveur, 5= pêcheur/ somono, 6= salarié(e)secteur public,  
7= salarié(e)secteur privé, 8= élève/étudiant(e), 9=enseignant(e),

10= profession paramédicale, 11= ouvrier, 12=thérapeute,  
13= accoucheuse traditionnelle, 14= agent de santé villageois,  
15= aide familiale, 16= apprenti(e), 17= retraité(e), 18= handicapé(e)/mendiant(e),  
19= chômeur, 20=marabout, 21=talibé,  
22= autres à préciser.....

**Niveau d'instruction##**

0= aucun, 1=fondamental2, 2= secondaire/supérieur, 4= médersa,  
5= Ecole coranique.

**Statut de résidence au moment même de l'enquête :**

0= décédé(e), 1= présent(e), 2= absent(e) temporaire, 3= absence-migration, 4=  
présence temporaire/main d'œuvre/visiteur/patient,  
Autres à préciser.....

**Religion#**

1= Islam, 2= Christianisme, 3= Animisme, 4=autres, préciser.....

**B/ Test Cutané à la Leishmanine**

N° d'identification du sujet /\_\_ / \_\_ / \_\_ /

Date de visite /\_\_ / \_\_ / \_\_ /

**Initial du sujet** /\_\_ / \_\_ / âge /\_\_ / \_\_ / sexe /\_\_ / 1= féminin

2= masculin

**Ethnie** /\_\_ / 1= Bambara, 2= Peulh, 3=Sarakolé, 4= Maure, 5= Malinké,

6= Bozo, 7= Somono, 8= Dogo, 9= autres à préciser.....

**Résidence** /\_\_ / 1= Kéména 2= Sougoula

Date de l'injection jj/mm/yy heure d'injection /hh :mm

**Initial de l'investigateur** /\_\_ / \_\_ /

**Bras ayant reçu l'injection** /\_\_ / 1= gauche 2= droit

Date de lecture /\_\_ / \_\_ / Time /\_\_ / \_\_ /

**Initial de l'investigateur** /\_\_ / \_\_ /

Diamètre A en mm .....X Diamètre B en mm .....

Résultats /\_\_ / 1=positif 2= négatif

Lésion /\_\_ / 1= présence de lésion 2= absence de lésion



Topographie de la lésion/\_\_/ 1= tête/cou 2= membre supérieur

3= membre inférieur 4= autres \_\_\_\_\_

Cicatrice : oui ou non

Commentaires.....

**Position**/\_\_/ 1= retenu(e) ou 2= retiré de l'étude

**Raison du retrait**/\_\_/ 1= TCL positif, 2=TCL non lu, autres raison.....

### **C / Suivi clinique :**

#### **1. Août:**

N° d'identification du sujet/\_\_/\_\_/\_\_/

Date de visite /\_\_/\_\_/\_\_/

Présence/\_\_/ oui ou non

Si non raison\_\_\_\_\_

Lésion/\_\_/ oui ou non

Diamètre en mm/\_\_/ Durée en jour /\_\_/ Suppuration/\_\_/ oui ou non

Type de lésion/\_\_/ 1= papule 2= nodule 3= ulcère 4= scare

5= autres à préciser\_\_\_\_\_

Aspiration /\_\_/ oui ou non

Durée du traitement/\_\_/ 28±1 jours 42±1 jours

Initial de l'investigateur/\_\_/\_\_/

Topographie de la lésion/\_\_/ 1= tête/cou 2= membre supérieur

3= membre inférieur 4= autres \_\_\_\_\_

#### **2. Septembre:**

N° d'identification du sujet/\_\_/\_\_/\_\_/

Date de visite /\_\_/\_\_/\_\_/

Présence/\_\_/ oui ou non

Si non raison\_\_\_\_\_

Lésion/\_\_/ oui ou non

Diamètre en mm/\_\_/ Durée en jour /\_\_/ Suppuration/\_\_/ oui ou non

Type de lésion/\_\_/ 1= papule 2= nodule 3= ulcère 4= scare

5= autres à préciser\_\_\_\_\_

Aspiration /\_\_\_/ oui ou non

Durée du traitement/\_\_\_/ 28±1 jours 42±1 jours

Initial de l'investigateur/\_\_\_/\_\_\_/

Topographie de la lésion/\_\_\_/ 1= tête/cou 2= membre supérieur

3= membre inférieur 4= autres \_\_\_\_\_

### **3. Octobre:**

N° d'identification du sujet/\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

Date de visite /\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

Présence/\_\_\_/ oui ou non

Si non raison \_\_\_\_\_

Lésion/\_\_\_/ oui ou non

Diamètre en mm/\_\_\_/ Durée en jour /\_\_\_/ Suppuration/\_\_\_/ oui ou non

Type de lésion/\_\_\_/ 1= papule 2= nodule 3= ulcère 4= scare

5= autres à préciser \_\_\_\_\_

Aspiration /\_\_\_/ oui ou non

Durée du traitement/\_\_\_/ 28±1 jours 42±1 jours

Initial de l'investigateur/\_\_\_/\_\_\_/

Topographie de la lésion/\_\_\_/ 1= tête/cou 2= membre supérieur

3= membre inférieur 4= autres \_\_\_\_\_

### **4. Novembre:**

N° d'identification du sujet/\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

Date de visite /\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_/

Présence/\_\_\_/ oui ou non

Si non raison \_\_\_\_\_

Lésion/\_\_\_/ oui ou non

Diamètre en mm/\_\_\_/ Durée en jour /\_\_\_/ Suppuration/\_\_\_/ oui ou non

Type de lésion/\_\_\_/ 1= papule 2= nodule 3= ulcère 4= scare

5= autres à préciser \_\_\_\_\_

Aspiration /\_\_\_/ oui ou non

Durée du traitement/\_\_\_/ 28±1 jours 42±1 jours

Initial de l'investigateur / \_\_ / \_\_ /

Topographie de la lésion / \_\_ / 1= tête/cou 2= membre supérieur

3= membre inférieur 4= autres \_\_\_\_\_

### **5. Décembre:**

N° d'identification du sujet / \_\_ / \_\_ / \_\_ /

Date de visite / \_\_ / \_\_ / \_\_ /

Présence / \_\_ / oui ou non

Si non raison \_\_\_\_\_

Lésion / \_\_ / oui ou non

Diamètre en mm / \_\_ / Durée en jour / \_\_ / Suppuration / \_\_ / oui ou non

Type de lésion / \_\_ / 1= papule 2= nodule 3= ulcère 4= scare

5= autres à préciser \_\_\_\_\_

Aspiration / \_\_ / oui ou non

Durée du traitement / \_\_ / 28± 1 jours 42± 1 jours

Initial de l'investigateur / \_\_ / \_\_ /

Topographie de la lésion / \_\_ / 1= tête/cou 2= membre supérieur

3= membre inférieur 4= autres \_\_\_\_\_