

ÉPIDÉMIOLOGIE

Épidémiologie de *Leishmania (L.) infantum*, *L. major* et *L. killicki* en Tunisie : résultats et analyse de l'identification de 226 isolats humains et canins et revue de la littérature.

K. Aoun (1, 2), F. Amri (3), E. Chouih (1), N. Haouas (4), K. Bedoui (5), R. Benikhlef (6), J. Ghrab (1), H. Babba (4), M.K. Chahed (1, 7), Z. Harrat (6) & A. Bouratbine (1, 2)

- (1) Laboratoire de recherche LR 05-SP 03 « Parasitoses émergentes ».
(2) Laboratoire de parasitologie clinique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie.
(3) Service de pédiatrie, Hôpital de Kairouan, Tunisie.
(4) Laboratoire de parasitologie, Faculté de pharmacie de Monastir, Tunisie.
(5) Service vétérinaire et d'hygiène alimentaire, Ministère de l'intérieur, Tunisie.
(6) Laboratoire de parasitologie, Institut Pasteur d'Alger, Algérie.
(7) Section d'épidémiologie, Faculté de médecine de Tunis, Tunisie.

Manuscrit n° 3201. "Épidémiologie". Reçu le 27 novembre 2007. Accepté le 10 juin 2008.

Summary: Epidemiology of *Leishmania (L.) infantum*, *L. major* and *L. killicki* in Tunisia: results and analysis of the identification of 226 human and canine isolates.

The epidemiological situation of leishmaniasis in Tunisia is characterised by the co-existence in a very limited territory (165,000 km², Sahara included), of 4 clinical forms: the infantile visceral leishmaniasis (VL) and 3 cutaneous leishmaniasis (CL) forms (sporadic, zoonotic and chronic). In addition to the useful epidemiological data, identification of the causative parasitic species is essential to determine the geographic distribution of each form and to select appropriate therapeutic procedure and suitable control measures.

226 *Leishmania* isolates, 135 human's coming from 59 VL cases and 76 CL cases and 91 canine's were identified by the isoenzyme electrophoresis reference technique.

Results confirm the endemicity of the 4 forms mentioned above. The sporadic CL, confined to the North of the country is principally caused by *L. infantum* MON-24 (72.2%). VL which has reached the southern ridge in the central area of Tunisia, in the governorate of Kairouan (36 typed isolates), presents an unusual high proportion of *L. infantum* MON-24. In fact, this zymodeme, rather dermatotropic, is responsible for 47.2% of the cases vs 13% in the other regions of the country where *L. infantum* MON-1 remains predominant with 78.3% of typed isolates, the difference being statistically significant ($P < 0,01$). A third zymodeme, *L. infantum* MON-80 is sporadically pointed out during VL or in sporadic CL.

Despite the high number of canine isolates ($n=91$) coming from 6 governorates, only the zymodeme *L. infantum* MON-1 was identified, letting hypothetic the reservoir of the 2 other zymodemes of the species identified in humans. Those absences may be related to cross infections, with a low sensitivity to *L. infantum* MON-24 leading to a selection of MON-1 at the time of culture passages. Hence it is important to develop molecular tools of direct identification on initial biological samples without going through cultures.

Zoonotic CL remains the predominant cutaneous form in the central and southern area of Tunisia. However, *L. killicki*, agent of the chronic CL, is confirming its presence out of its original focus of Tataouine in the southern-east of the country in both zoonotic CL and VL areas.

Résumé :

La situation épidémiologique des leishmanioses se caractérise en Tunisie par la co-existence sur un territoire assez circonscrit (165 000 km², Sahara compris), de 4 formes cliniques distinctes : la leishmaniose viscérale infantile (LV) et 3 formes de leishmaniose cutanée, la sporadique (LCS), la zoonotique (LCZ) et la chronique (LCC). L'identification précise des espèces parasitaires impliquées, en plus des données épidémiocliniques qu'elle procure, permet de préciser la distribution géographique de chacune des formes suscitées et d'orienter les conduites thérapeutiques et les mesures de contrôle à adopter.

226 isolats, 135 humains provenant de 59 cas de LV et 76 cas de LC, et 91 canins, ont été identifiés par la technique de référence d'électrophorèse des iso-enzymes.

Les résultats confirment l'endémicité des 4 formes sus citées. La LCS, limitée au nord du pays, est principalement causée par *L. infantum* MON-24 (72,2 %). La LV qui s'étend au sud de la dorsale dans le centre du pays, présente dans le gouvernorat de Kairouan (36 isolats typés), une proportion parti-

Leishmania (L.) infantum
L. major
L. killicki
man
dog
visceral leishmaniasis
cutaneous leishmaniasis
canine leishmaniasis
zymodeme
isoenzymes analysis
epidemiology
Tunisia
Maghreb
Northern Africa

Leishmania (L.) infantum
L. major
L. killicki
homme
chien
leishmaniose viscérale
leishmaniose cutanée
leishmaniose canine
zymodème
typage iso-enzymatique
épidémiologie
Tunisie

culièrement élevée de *L. infantum* MON-24. En effet, ce zymodème considéré plutôt dermatrope, y est responsable de 47,2 % des cas vs 13 % dans le reste du pays où le classique *L. infantum* MON-1 reste prédominant avec 78,3 % des isolats typés, la différence étant statistiquement significative ($p < 0,01$). Un 3^e zymodème, *L. infantum* MON-80 est mis en évidence de façon sporadique aussi bien au cours de LV que de LC.

Malgré le nombre élevé d'isolats canins ($n = 91$) provenant de 6 gouvernorats, seul le zymodème *L. infantum* MON-1 a été identifié, laissant hypothétique le réservoir des 2 autres zymodèmes identifiés chez l'homme. Ces absences pourraient être liées aux biais des cultures, de faible sensibilité pour *L. infantum* MON-24 et souligne l'intérêt de développer un outil moléculaire d'identification directe sur les prélèvements initiaux sans passer par la culture.

Même si la LCZ, causée par *L. major*, reste la forme cutanée prédominante dans le centre et le sud du pays, *L. killicki* et la LCC s'affirment présents en dehors de leur foyer originel de Tataouine, dans le sud-est du pays, où les auteurs les avaient cantonnés suite aux premières descriptions dans les années 1980.

Introduction

Les leishmanioses, viscérale (LV) et cutanée (LC), coexistent en Tunisie (17). La LV sévit au nord et au centre du pays sous sa forme méditerranéenne infantile (20). Elle est causée par *Leishmania (L.) infantum* dont le chien représente le réservoir (5, 45). Trois formes noso-géographiques de LC sont également endémiques : la LC due à *L. infantum* sévit sous une forme sporadique (LCS) dans le nord (4). La LC zoonotique (LCZ) due à *L. major* est un véritable problème de santé publique, avec une incidence annuelle dépassant les 5 milliers de cas certaines années dans le centre et le sud (17). Enfin la LC dite « chronique » (LCC) due à *L. killicki* a initialement été décrite dans quelques sites du sud-est (50), mais sa répartition géographique reste encore mal définie (21, 36).

Longtemps cantonnées à des étages bioclimatiques différents, on assiste depuis environ 20 ans à une extension des aires de distribution de ces différentes formes qui sont devenues limitrophes et parfois même intriquées (9, 17, 21). L'identification des espèces en cause devient alors indispensable, d'une part pour optimiser les approches épidémiologiques et de contrôle et d'autre part pour affiner certaines indications thérapeutiques, particulièrement au cours de la LC (1, 19). L'électrophorèse des iso-enzymes parasitaires reste la technique de référence de typage des leishmanies (51). Elle permet de distinguer des zymodèmes souvent associés à des formes clinico-épidémiologiques particulières (4, 5, 49).

À partir des données du typage iso-enzymatique de 226 isolats de *Leishmania*, 135 humains correspondant à 59 cas de LV, 76 cas de LC et 91 canins, on se propose de dresser la situation épidémiologique actualisée des leishmanioses en Tunisie et d'en discuter les particularités à la lumière d'une revue exhaustive de la littérature.

Matériel et méthodes

Isolement des souches de *Leishmania*

Il s'est fait en culture après inoculation des prélèvements biologiques sur milieu NNN (45). Les repiquages ont été effectués toutes les semaines. Les cultures ont été abandonnées au bout du 4^e repiquage négatif. En cas de positivité, les promastigotes ont été cultivés en masse sur milieux liquides afin de préparer les culots parasitaires nécessaires au typage iso-enzymatique.

La majorité des isollements humains ont été réalisés dans le cadre de l'activité de diagnostic du laboratoire de parasitologie-mycologie de l'Institut Pasteur de Tunis dont le recrutement est composé de patients d'hôpitaux publics et de cliniques privées; les principales spécialités médicales concernées étant la pédiatrie, la dermatologie et les maladies infectieuses. Une

partie des isollements a été réalisée lors d'enquêtes épidémiologiques de terrain dans des foyers émergents de LC.

Les isollements canins ont été obtenus dans le cadre du suivi clinique et biologique de cohortes de chiens policiers ou à propriétaires; 13 isolats provenaient de chiens errants ou semi-errants prélevés lors de campagnes dans des foyers de LV et de LCS.

La collecte des isolats s'est étalée de 1993 à 2007; seuls 56 des 226 isolats étudiés ont déjà fait l'objet de rapports antérieurs (4, 5, 21).

Isolats de *Leishmania* étudiés

LV

59 souches ont été étudiées; 36 provenaient d'enfants originaires du gouvernorat hyper-endémique de Kairouan dans le centre du pays et 23 de patients originaires d'autres gouvernorats du nord et du centre; un isolat a été obtenu chez un enfant vivant dans le foyer excentré de Tozeur dans le sud-ouest. Trente-quatre souches ont fait suite à la mise en culture de moelle osseuse (MO), 15 de couches leucocytaires sanguines (CL) et 9 ont poussé à la fois à partir de MO et de CL; 1 a été obtenue après mise en culture de la ponction d'un ganglion cervical. Tous les isolats provenaient de malades dont les signes cliniques évoquaient fortement une LV.

LC

Parmi les 76 isolats cutanés, 19 ont été obtenus chez des patients habitant le nord du pays qu'ils n'ont jamais quitté et où seul *L. infantum* est signalé. La nature de leurs lésions (un seul bouton du visage dans la majorité des cas) correspondait également à la description clinique de la LCS; 1 des prélèvements a intéressé la muqueuse nasale. Les 57 autres souches ont été isolées chez des patients vivant ou s'étant déplacés lors de la saison estivale de transmission précédant l'apparition de leurs boutons dans le centre ou le sud du pays où prédomine la LCZ; 9 provenaient du sud-est où la LCC était décrite.

L canine

Les 91 isolats canins ont intéressé des chiens de régions d'endémie de *L. infantum* (Grand Tunis 62, Béja 10, Le Kef 7, Kasserine 7 et Bizerte 5); leur isolement a fait suite à l'inoculation de CL sanguines ($n = 49$), de ponctions de ganglions poplités ou pré-scapulaires hypertrophiés ($n = 32$) et de ponctions spléniques ($n = 10$).

Les souches de référence

Elles appartiennent aux complexes *L. infantum* dont MHOM/FR/78/LEM75 (zymodème MON-1), MHOM/DZ/82/LIPA59 (zymodème MON-24), MHOM/DZ/83/LEM425 (zymodème MON-80) et MHOM/FR/84/LEM528 (zymodème MON-34), *L. major* MHOM/MA/81/LEM265 (*L. major* MON-25) et *L. killicki* MHOM/TN/80/LEM163.

Typage iso-enzymatique

Il a été pratiqué selon la méthode préconisée par RIOUX *et al.* à l'Institut Pasteur d'Alger et/ou à la Faculté de pharmacie de Monastir (51), ces centres étant habilités pour ce type d'analyses et travaillant en étroite collaboration avec le centre de référence des *Leishmania* de Montpellier, France. Quinze systèmes enzymatiques ont été étudiés : malate deshydrogénase (MDH, EC1.1.1.37), enzyme malique (ME, EC1.1.1.40), isocitrate deshydrogénase (IDH, EC1.1.1.42), 6-phosphogluconate deshydrogénase (6 PGD, EC1.1.1.44), glucose-6-phosphate deshydrogénase (G6PD, EC1.1.1.49), glutamate deshydrogénase (GLUD, EC1.4.1.3), NADH diaphorase (DIA, EC1.6.2.2), purine nucléoside phosphorylase (NP1, EC2.4.2.1. et NP2, EC2.4.2.) glutamate oxaloacétate-transaminase (GOT1 et GOT2, EC2.6.1.1), phosphoglucomutase (PGM, EC5.4.2.2), fumarate hydratase (FH, EC4.2.1.2), mannose phosphate isomérase (MPI, EC5.3.1.8), glucose phosphate isomérase (GPI, EC5.3.1.9). L'identification a été faite par rapport aux souches de référence suscitées.

Analyse des résultats

La comparaison des pourcentages s'est faite par le test χ^2 exact de Fisher.

Résultats

LV

Tous les isolats se sont révélés appartenir au complexe *L. infantum*. Trois zymodèmes ont été identifiés : *L. infantum* MON-1, *L. infantum* MON-24 et *L. infantum* MON-80 (tableau I). Les isolats correspondant à *L. infantum* MON-24 se concentrent dans le gouvernorat de Kairouan (tableau I, figure 1); leur proportion comparativement à celle dans les autres zones d'endémie de la LV est statistiquement supérieure ($p < 0,01$).

LC

Trois taxa ou complexes ont été identifiés à partir des isolats de LC : *L. infantum* (3 zymodèmes : MON-1, MON-24 et MON-80), *L. major* (zymodème MON-25) et *L. killicki* (zymodème MON-8) (tableau II). La distribution géographique des isolats identifiés est illustrée dans la figure 2.

Leishmaniose canine

L'ensemble des 91 isolats canins s'est révélé correspondre au zymodème *L. infantum* MON-1.

Discussion

Le typage iso-enzymatique de 226 isolats tunisiens de leishmanies confirme la transmission en Tunisie de *L. infantum*, *L. major* et *L. killicki*, et l'endémicité des 4 formes cliniques qui en résultent : la LV, la LCS, la LCZ et la LCC (4, 17, 20, 36, 42, 50). Cette coexistence de 3 espèces du genre *Leishmania* sur un territoire relativement réduit est également observée dans 3 autres pays du Maghreb à savoir l'Algérie, la Libye et le Maroc (8, 37, 38, 52).

Au nord de la dorsale tunisienne, qui représente une barrière naturelle entre le nord et le centre du pays, seul *L. infantum* est présent (figure 1 & 2). La LCS y est sporadique avec une incidence annuelle variant de 50 à 100 cas (3, 4). Le zymodème *L. infantum* MON-24 se confirme dans notre série comme étant l'agent le plus fréquemment en cause (4, 40), avec 72,2 % des souches isolées (tableau II), comme c'est le cas dans d'autres pays méditerranéens, particulièrement l'Algérie

Tableau I.

	Répartition des zymodèmes de <i>L. infantum</i> identifiés à partir des isolats de leishmaniose viscérale.			total
	<i>L. infantum</i> MON-1	<i>L. infantum</i> MON-24	<i>L. infantum</i> MON-80	
Kairouan	16 (44,5 %)	17 (47,2 %)	3 (8,3 %)	36
autres gouvernorats	18 (78,3 %)	3 (13 %)	2 (8,7 %)	23
total	34 (57,6 %)	20 (33,9 %)	5 (8,5 %)	59

Tableau II.

	Répartition des taxa et zymodèmes identifiés à partir des isolats de leishmaniose cutanée.					total
	<i>L. infantum</i> MON-1	<i>L. infantum</i> MON-24	<i>L. infantum</i> MON-80	<i>L. major</i> MON-25	<i>L. killicki</i> MON-8	
zones de LCS	3 (16,7 %)	13 (72,2 %)	2 (11,1 %)	1	0	19
sud-est (zones LCC)		0		5 (41,7 %)	7 (58,3 %)	12
centre et sud (zones LCZ)		0		42 (93,3 %)	3 (6,7 %)	45
total	3	13	2	48	10	76

(37), la France ou l'Italie (32, 33, 49). La proportion du zymodème *L. infantum* MON-1 (16,1 %), classique agent de la LV (5, 31, 37, 41, 49), semble cependant relativement importante dans notre série, rejoignant les données d'autres publications tunisiennes (11, 42). Chez un des 19 patients originaires du nord, c'est *L. major* qui a été identifiée (tableau II, figure 2). Il s'agit d'un jeune homme de 18 ans dont l'unique lésion ulcéro-croûteuse de 5 cm de diamètre sur le pied gauche évoquait déjà à l'inspection une LCZ (17). Ce patient vit dans le gouvernorat de Bizerte où les conditions écologiques et biologiques ne sont pas compatibles avec la transmission de *L. major* et où aucun cas certifié local de LCZ n'a jamais été rapporté dans le passé. Bien que l'interrogatoire du patient n'ait pas rapporté de séjour dans les foyers connus de *L. major*, l'omission d'un déplacement ancien ne peut être écartée. La piqure par une femelle de *P. papatasi*, infectée par *L. major* (16), transportée dans un véhicule en provenance d'une zone d'endémie de LCZ, n'est pas non plus à exclure.

Contrairement à la LCS, l'aire de distribution de la LV dépasse la dorsale pour atteindre plusieurs gouvernorats et délégations du centre (figure 1) (9, 20). Ainsi, le gouvernorat de Kairouan est depuis 15 ans le plus touché, avec plus du tiers des 120 à 150 cas annuels répertoriés (3, 18). Cette extension récente de la maladie trouve son origine principalement dans le développement agricole et la multiplication des périmètres irrigués qu'a connus ces 3 dernières décennies le centre tunisien, suite aux multiples projets de mobilisation des ressources hydrauliques, particulièrement la construction de barrages, lacs collinaires et puits (7). La non-concordance des zones de LCS et de LV serait en rapport avec la grande capacité de *P. perniciosus*, vecteur de la LV (17), à s'adapter à l'aridité du centre du pays (30).

La répartition des 3 zymodèmes de *L. infantum* isolés chez les cas de LV de notre série montre que 20 des 59 isolats soit 33,9 % de l'ensemble correspondent à *L. infantum* MON-24 (tableau I). Cette proportion inhabituellement élevée de ce zymodème serait en rapport avec le nombre important d'isolats provenant du gouvernorat de Kairouan (figure 1). En effet, la proportion du zymodème MON-24 (47,2 %) y est significativement plus élevée que dans le reste du pays (13 %, $p < 0,01$) où les résultats restent conformes aux données de la littérature méditerranéenne dont celle tunisienne (tableau I) (10, 3, 36, 37, 41, 46, 49). Cette implication inattendue de

Figure 1.

Répartition géographique des zymodèmes d'isolats de cas de leishmaniose viscérale.

Geographical distribution of zymodemes of visceral leishmaniasis isolates.

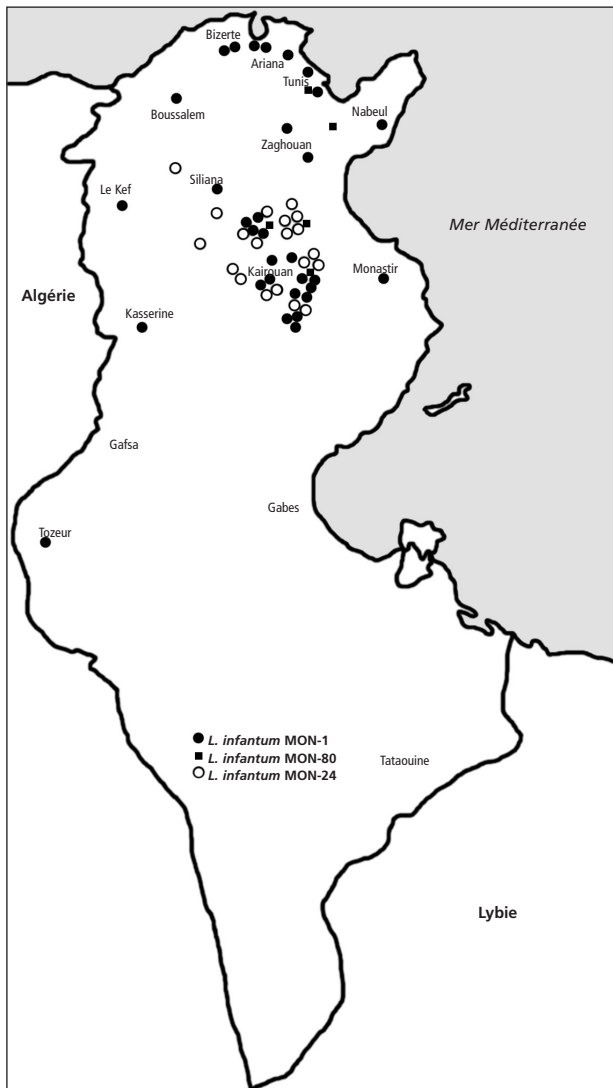
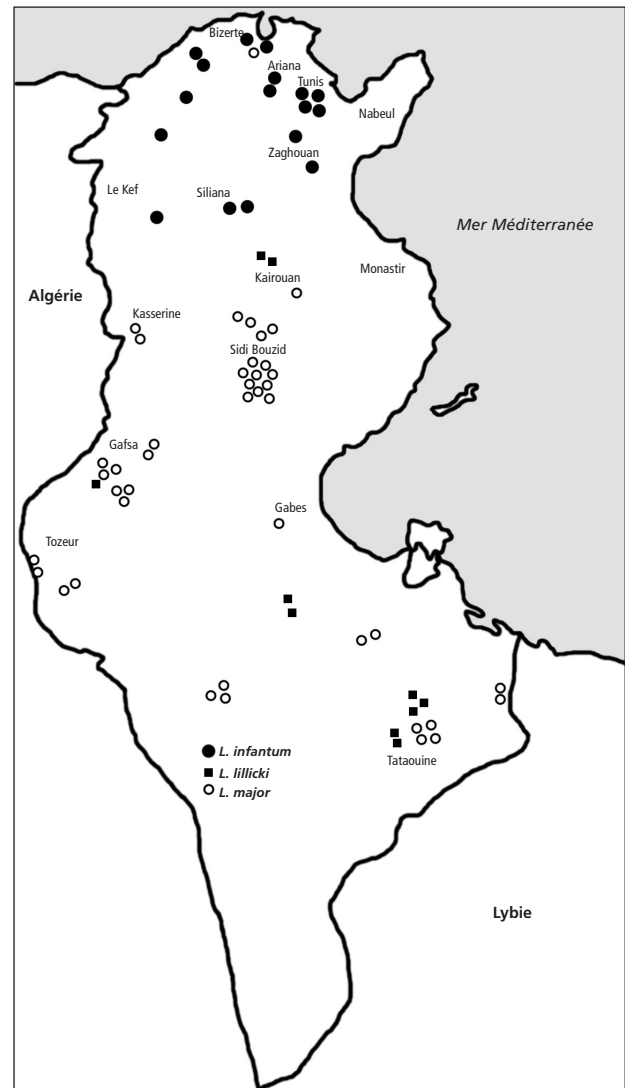


Figure 2.

Répartition géographique des isolats de leishmaniose cutanée identifiés.

Geographical distribution of identified cutaneous leishmaniasis isolates.



L. infantum MON-24 dans la genèse de cas de LV de l'immunocompétent avait déjà été constatée au début des années 2000 (5), et vient ici d'être confirmée sur un échantillon plus représentatif. Elle a également été rapportée, cependant à une moindre échelle, en Algérie (13). Au nord de la Méditerranée, par contre, les cas de LV causés par ce zymodème sont rares et principalement rapportés chez des sujets infectés par le VIH (39, 42, 46, 47). Il est à préciser à ce niveau que tous les isolats correspondant à *L. infantum* MON-24 de notre série proviennent d'enfants sans facteurs de risque pour le VIH. La forte proportion de *L. infantum* MON-24 à Kairouan s'expliquerait par le caractère émergent, voire épidémique de la maladie dans ce gouvernorat, qui pourrait favoriser des variants rares ou inhabituels (18, 20). En effet, plus de 600 cas y ont été décrits depuis 1992 contre seulement quelques cas dans les 9 premières décennies du XX^e siècle (2, 18, 20, 23). Malgré la fréquence de *L. infantum* MON-24 au nord et au centre de la Tunisie et la multiplication des prélèvements canins dans les foyers concernés, nous n'avons pas réussi à isoler ce zymodème chez le chien. D'ailleurs, et en dépit des nombreux isolements dans les pays nord méditerranéens dont l'Italie, l'Espagne, la France et Malte (22, 31, 39, 47), *L. infantum* MON-24 n'a été identifié jusque-là qu'une seule fois chez le chien en Algérie (14). Le faible rendement des cultures de ce

zymodème ne pourrait à lui seul expliquer son absence chez nos chiens, vu la réussite de multiples isolements de ce même variant chez l'homme (12, 32). Le développement de sondes moléculaires spécifiques de zymodèmes permettrait une identification directement sur les prélèvements biologiques. De tels outils permettraient également de révéler des infections mixtes (39), déjà rapportées chez le chien (28, 47), et d'éviter ainsi la possible sélection, au fur et à mesure des repiquages, de certains zymodèmes aux dépens d'autres. Par ailleurs, les hypothèses avancées par certains auteurs et évoquant un réservoir non canin pour *L. infantum* MON-24, comme l'homme, des rongeurs sauvages ou le renard (34), restent plausibles et méritent d'être investiguées. À la différence d'autres séries méditerranéennes (29, 41, 49), aucun zymodème autre que *L. infantum* MON-1 n'a été mis en évidence. En effet, l'ensemble de nos 91 isolats se sont révélés correspondre à ce zymodème qui est par ailleurs prédominant dans toutes les séries (25, 28, 29, 41, 49). Chez l'homme, par contre, un 3^e variant, *L. infantum* MON-80, a été identifié chez 5 cas de LV (8,5 %) et 2 cas de LCS (11,1 %), sans aucune concentration géographique de ces cas (tableaux I et II, figure 1). Ce zymodème très rare, dont le réservoir est encore méconnu, n'est rapporté que sporadiquement au cours de LV et de LC méditerranéennes (37, 38, 42, 48, 51).

Plus on avance vers le sud tunisien et plus l'aridité du climat s'accroît, entraînant des variations dans la composition de la faune phlébotomienne, avec réduction de la densité des espèces du sous-genre *Laroussius*, vectrices de *L. infantum* (30, 40, 43), contre une augmentation de celle de *P. papatasi*, vecteur de *L. major* (16, 24, 30, 43). Le changement du couvert végétal, constitué désormais de peu de cultures et davantage de salicornes sauvages, crée également un terrain propice à la pullulation de *Psammomys obesus*, réservoir principal de *L. major* (15, 27), et complète les conditions expliquant l'hyperendémicité de la LCZ dans le centre et le sud tunisiens (3, 17). La transition dans l'espace des zones de LV à celles de LCZ n'est cependant pas franche (figures 1 et 2). En effet, il existe une large bande transversale de 40 à 50 km, au sud de la dorsale, où coexistent les 2 maladies, mais dans des sites distincts (3, 20) : plutôt en flanc de montagne aux abords de terres irriguées pour la LV et sur des plaines arides plus ou moins envahies par les chénopodes pour la LCZ (30). En pratique courante, les cultures à partir de lésions de LCZ ne sont pas systématiques. En effet, le diagnostic est assez aisé sur les données épidémiologiques, confirmé chaque fois que c'est possible par la mise en évidence sur les frottis dermiques des amastigotes de grande taille de *L. major* (6). L'identification de *L. major* MON-25 sur 48 isolats (tableau II), provenant de plusieurs gouvernorats touchés (figure 2), confirme la prédominance de la LCZ au centre et au sud de la Tunisie où l'incidence annuelle dépasse assez souvent les 3 000 à 5 000 cas (3, 17). La persistance de cette situation de forte endémicité depuis plus de 25 ans est en grande partie liée à la difficulté d'instauration de programmes de contrôle de large envergure, très coûteux et difficiles à mettre en œuvre. En priorité, ce sont les ceintures de certaines zones urbanisées qui ont bénéficié, avec un succès encourageant (17), d'actions ciblées de lutte écologique basées sur l'élimination mécanique des chénopodes et leur substitution par des arbres et des plantations inhospitalières pour *Psammomys obesus* (15).

La prédominance de la LCZ dans le centre et le sud du pays ne doit en aucun cas signifier l'attribution de toute LC dans ces zones à *L. major*. En effet, des cas de LCC due à *L. killicki*, considérée pendant longtemps cantonnée au gouvernorat de Tataouine (17, 50), ont été identifiés dès 2002 dans des régions éloignées de ce site originel respectivement à Kairouan et Gafsa dans le centre du pays (figure 2) (21). Cette extension a d'ailleurs été rapportée également par d'autres auteurs tunisiens et encore confirmée dans notre série par 2 isollements supplémentaires dans le gouvernorat de Gabes (figure 2) (35, 36). Des questions restent cependant posées devant cette nouvelle donnée épidémiologique; est-ce une révélation de la multiplication des isollements de LC ou une réelle extension (3, 17)? La nature du réservoir du parasite, anthroponotique ou zoonotique, ainsi que celle de son vecteur restent également hypothétiques (17, 21, 30, 50).

La situation épidémiologique est aussi complexe dans le gouvernorat de Tataouine. En effet, si 5 des 9 souches qui y ont été isolées correspondent à *L. killicki*, confirmant le maintien de l'endémicité de la LCC dans ce foyer (tableau II, figure 2), 4 ont été identifiées comme *L. major* traduisant l'extension de la LCZ vers le sud-est (figure 2), à la fois à partir des gouvernorats contigus du centre, mais aussi des zones limitrophes libyennes (26). La co-transmission de *L. major* et *L. killicki* dans les mêmes régions plaide pour l'élargissement du typage iso-enzymatique et donc des cultures de leishmanies. En effet, l'identification du parasite en cause est d'autant plus utile que l'évolution clinique et par conséquent la prise en charge des cas ne seraient pas équivalentes au cours des 2 formes clini-

ques en question (17, 19). Ainsi, les lésions de LCZ cicatrisent spontanément en 6 à 8 mois, alors que celles de LCC (17), comme leur nom l'indique, peuvent persister pendant des années (50). Elles répondraient également moins, selon les expériences vécues, au Glucantime®, seul médicament disponible à ce jour en Tunisie pour le traitement de la LC (1, 19). Il faut rappeler cependant que les caractéristiques cliniques des lésions permettent souvent d'orienter fortement le diagnostic, les lésions de LCC se distinguant dans leurs formes types de celles de LCZ par leur localisation préférentielle au visage, leur unicité et leur aspect asséché rarement infecté (17, 21).

Remerciements

Les auteurs remercient O. SOUISSI, N. BOUSSLIMI, A. RHIM, R. MAHMOUD, I. BOUFADEN, H. KHARMACHI, M. MOKNI, S. FENNICHE, A. BEN OSMANE, H. MEZHOUD, R. AZAIEZ, M. BELKAID, F. DIOUANI, K. DELLAGI, S. CHATTI, A. BOUAZIZ, S. BOUSNINA, MF. BEN DRIDI, H. KAAROU, CH. KOOLI, S. BEN BECHER, NH. TOUMI, H. HADHRI, M. BEJAOU, M. GUERBOUJ, R. DANI, A. CHETOU, A. BEN OSMAN, A. SAMMOUD, TH. BOUSSOFFARA, R. HAMZA, E. BRAHEM & M. RAOUENE.

Références bibliographiques

- ALVAR J, CROFT S & OLLIARO P – Chemotherapy in the treatment and control of leishmaniasis. *Adv Parasitol*, 2006, **61**, 223-274.
- ANDERSON C – Chroniques du kala azar en Tunisie. *Arch Inst Pasteur Tunis*, 1934, **11**, 455.
- ANONYME – Bulletins épidémiologiques de la Direction des soins de santé de base – Ministère de la santé publique (Tunisie), 1980-2006.
- AOUN K, BOURATBINE A, HARRAT Z, GUIZANI I, MOKNI M et al. – Données épidémiologiques et parasitologiques concernant la leishmaniose cutanée sporadique du nord tunisien. *Bull Soc Pathol Exot*, 2000, **93**, 101-103. (<http://www.pathexo.fr/pages/bull-somm/2000-T93/2000-2.html>)
- AOUN K, BOURATBINE A, HARRAT Z, BELKAID M & BEL HADJ ALI S – Profil particulier des zymodèmes de *Leishmania infantum* causant la leishmaniose viscérale en Tunisie. *Bull Soc Pathol Exot*, 2001, **94**, 375-377. (<http://www.pathexo.fr/pages/bull-somm/2001-T94/2001-5.html>)
- AOUN K, CHAHED MK, MOKNI M, HARRAT Z & BOURATBINE A – Apport de la morphologie des formes amastigotes dans la différenciation des espèces *Leishmania infantum* et *Leishmania major*. *Arch Inst Pasteur Tunis*, 2003, **80**, 53-56.
- AOUN K, TIOURI H, GHRAB J & BOUFAROUA M – Lacs collinaires et santé humaine : quelle situation en Tunisie? *Microbiologie et Hygiène Alimentaire*, 2004, **16**, 37-40.
- AOUN K, BOUSSLIMI N, HAOUAS N, BABBA H, EL BUNI A & BOURATBINE A – First report of *Leishmania killicki* Rioux, Lanotte & Pratlong, 1986 in Libya. *Parasite*, 2006, **13**, 87-88.
- AYADI A, BEN ISMAIL R & BEN RACHID MS – Extension de l'aire de transmission du kala azar à *Leishmania infantum* vers le centre et le sud de la Tunisie. *Arch Inst Pasteur Tunis*, 1991, **68**, 269-73.
- BELHAJ S, PRATLONG F, TOUMI NH, KALLEL K, MAHJOUB H et al. – Visceral leishmaniasis in Tunisia: result of the isoenzymatic characterization of 65 *Leishmania infantum* strains. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2002, **96**, 227-230.
- BELHAJ S, PRATLONG F, HAMMAMI M, KALLEL K, DEDET JP & CHAKER E – Human cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in the Sidi Bourouis focus (Northern Tunisia): epidemiological study and iso-enzymatic characterization of the parasite. *Acta Tropica*, 2003, **36**, 116-120.
- BELKAID M, HARRAT Z, HAMRIOU B, THELLIER M, DATRY A & DANIS M – À propos d'un milieu simple pour l'isolement et la culture des leishmanies. *Bull Soc Pathol Exot*, 1996, **89**, 276-277.
- BENIKHLEF R, PRATLONG F, HARRAT Z, SEDIRI N & BEN DALI-BRAHEM S et al. – Leishmaniose viscérale infantile causée par *Leishmania infantum* zymodème MON-24 en Algérie. *Bull Soc Pathol Exot*, 2001, **94**, 14-17. (<http://www.pathexo.fr/pages/bull-somm/2001-T94/2001-1.html>)
- BENIKHLEF R, HARRAT Z, TOUDJINE M, DJERBOUH A, BEN DALI-BRAHEM S & BELKAID M – Présence de *Leishmania*

- infantum* MON-24 chez le chien. *Méd Trop*, 2004, 64, 381-383.
15. BEN ISMAIL R, BEN RACHID MS, GRADONI L, GRAMICCIA M, HELAL H & BACH HAMBDA D – La leishmaniose cutanée zoonotique en Tunisie. Étude du réservoir dans le foyer de Douara. *Ann Soc Bel Méd Trop*, 1987, 67, 335-343.
 16. BEN ISMAIL R, HELAL H, BACH HAMBDA D & BEN RACHID MS – Infestation naturelle de *Phlebotomus papatasi* dans un foyer de leishmaniose cutanée zoonotique en Tunisie. *Bull Soc Pathol Exot*, 1987, 80, 613-614.
 17. BEN ISMAIL R & BEN RACHID MS – Épidémiologie des leishmanioses en Tunisie. In *Maladies tropicales transmissibles*. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, Paris, 1980, 73-80.
 18. BEN SALAH A, BEN ISMAIL R, AMRI F, CHLIF S, BEN RZIG F et al. – Investigation of the spread of human visceral leishmaniasis in central Tunisia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2000, 94, 382-386.
 19. BLUM J, DESJEUX P, SCHWARTZ E et al. – Treatment of cutaneous leishmaniasis among travellers. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 53, 158-166.
 20. BOURATBINE A, AOUN K, CHAHED MD & BEN ISMAIL R – Données épidémiologiques sur la leishmaniose viscérale infantile en Tunisie en 1993. *Méd Mal Infect*, 1998, 28, 446-447.
 21. BOURATBINE A, AOUN K, GHRAB J, HARRAT Z, EZZEDINI MS & ETLIJANI S – Spread of *Leishmania killicki* to central and South-West Tunisia. *Parasite*, 2005, 12, 59-63.
 22. BRANDONISIO O, CARELLI G, CECI L, CONSENTI B, FASANELLA A & PUCCINI V – Canine leishmaniasis in the Cargano Promontory. *Eur J Epidemiol*, 1992, 8, 273-276.
 23. CHADLI A, BEN RACHID MS & FHAIEL A – Chroniques des leishmanioses en Tunisie. *Arch Inst Pasteur Tunis*, 1968, 45, 1-14.
 24. CROSET H, RIOUX JA, MAISTRE M & BAYAR N – Les phlébotomes de Tunisie (*Diptera, Phlebotomidae*). Mise au point systématique, chronologique et éthologique. *Ann Parasitol Hum et Comp*, 1978, 46, 378-396.
 25. DEREURE J, PRATLONG F & DEDET JP – Geographical distribution and identification of parasite causing canine leishmaniasis: an update. *Proceeding of the international canine leishmaniasis forum*. Barcelona, Spain, 1999 pp. 18-25.
 26. EL BUNI A, TALEB I, BEN DAIEF A, REFAI A, AL-EDODI K et al. – Leishmaniasis in Libya and studies on sandflies. *Arch Inst Pasteur Tunis*, 1993, 70, 465-466.
 27. FICHET-CALVET E, JOMMA R, BEN ISMAIL R & ASHFORD RW – *Leishmania major* infection in the fat sand rat *Psammomys obesus* in Tunisia: interaction of host and parasite populations. *Ann Trop Med Parasitol*, 2003, 97, 593-603.
 28. FISA R, GALLEGO M, CASTILLEJO S, AISA MJ, SERRA T et al. – Epidemiology of canine leishmaniasis in Catalonia (Spain). The example of the Priorat focus. *Vet Parasitol*, 1999, 83, 87-97.
 29. GALLEGO M, PRATLONG F, FISA R, RIERA C, RIOUX JA et al. – The life cycle of *Leishmania infantum* MON-77 in the Priorat (Catalia, Spain) involves humans, dogs and sandflies; also litterature review of distribution and hosts of *L. infantum* zymodemes in the old world. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2001, 95, 269-271.
 30. GHRAB J, RHIM A, BACH HAMBDA D, CHAHED MK, AOUN K et al. – *Phlebotominae* (*Diptera: Psychodidae*) of human Leishmaniasis sites in Tunisia. *Parasite*, 2006, 13, 23-33.
 31. GRADONI L, GRAMICCIA M, LEGER N, PESSON B, MADULOLEBLANC G et al. – Isoenzyme characterization of *Leishmania* from man, dog and sandflies in the Maltese islands. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1991, 85, 217-219.
 32. GRAMICCIA M & GRADONI L – Successful *in vitro* isolation and cultivation of Italian dermatotropic strains of *Leishmania infantum sensu lato*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1989, 83, 76.
 33. GRAMICCIA M, GRADONI L & POZIO E – *Caractérisation biochimique de souches du complexe Leishmania infantum isolées en Italie*. *Leishmania, taxonomie et phylogénèse*. Applications éco-épidémiologiques. IMEEE, Montpellier, 1986, 445-454.
 34. GRAMICCIA M, MAAZOUN R, LANOTTE G, RIOUX JA, LE BLANCO S et al. – Typage iso-enzymatique de 11 souches de *Leishmania* isolées en Italie continentale, à partir de formes viscérales murines, canines et vulpines. *Annales de parasitologie*, 1982, 57, 527-531.
 35. HAOUAS N, CHERGUI N, CHAKER E, BEN SAID M, BABBA H et al. – Anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Tunisia: Presence of *Leishmania killicki* outside its original focus of Tataouine. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2005, 99, 499-501.
 36. HAOUAS N, GORCII M, CHARGUI N, AOUN K, BOURATBINE A et al. – Leishmaniasis in central and southern Tunisia: current geographical distribution of zymodemes. *Parasite*, 2007, 14, 39-46.
 37. HARRAT Z, PRATLONG F, BELAZZOUG S, DEREURE J, DENIAU M et al. – *Leishmania infantum* and *L. major* in Algeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1996, 90, 625-629.
 38. HARRAT Z, BOUBIDI S, PRATLONG F, BENIKHLEF R, DEDET JP & BELKAID M – *Première description de Leishmania killicki en Algérie*. Communication personnelle, 1^{re} Journée Algéro-Française de parasitologie-mycologie. Alger, 15-16 novembre 2006.
 39. IBRAHIM ME, SMYTH AJ, ALUI MH, BARKER DC & KHARAZMI A – The polymerase chain reaction can reveal the occurrence of naturally mixed infection with *Leishmania* parasites. *Acta Tropica*, 1994, 57, 327-332.
 40. IZRI MA & BELLAZOUG S – *Phlebotomus (Larrousius) perfi-liewi* naturally infected with dermatotropic *Leishmania infantum* at Tenes, Algeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1993, 87, 399.
 41. JIMENEZ M, FERRER-DUFOL M, CANAVATE C, GUTIÉRREZ-SOLAR B, MOLINA R et al. – Variability of *Leishmania infantum* among stocks from immuno-compromised, immuno-competent patients and dogs in Spain. *FEMS Microbiology letters*, 1995, 131, 197-204.
 42. KALLEL K, PRATLONG F, BELHADJ S, CHERIF F, HAMMAMI H et al. – Cutaneous leishmaniasis in Tunisia: results of the isoenzymatic characterization of 71 strains. *Ann Trop Med Parasitol*, 2005, 99, 11-19.
 43. KILLICK-KENDRICK R – Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medical and veterinary Entomology*, 1990, 4, 1-24.
 44. MARTY P, LE FICHOUX Y, PRATLONG F & GARI-TOUS-SAINTE M – Human visceral leishmaniasis in Alpes-Maritimes, France: epidemiological characteristics for the period 1985-1992. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1994, 88, 33-34.
 45. NICOLLE C – Culture du parasite du bouton d'orient. *CR Séances Acad Sci*, 1908, 146, 842-853.
 46. PORTUS M, GALLEGO G, RIOUX JA, PRATLONG F, MORENO G et al. – Enzymatic heterogeneity among strains of *Leishmania infantum* from human visceral leishmaniasis and cutaneous leishmaniasis in Catalonia (Spain). *Rev Iber Parasitol*, 1989, 49, 209-218.
 47. PRATLONG F, PORTUS M, RISPAIL P, MORENO G, BASTIEN P & RIOUX JA – Simultaneous presence in dogs of 2 zymodemes of the *Leishmania infantum* complex. *Ann Parasitol Hum Comp*, 1989, 64, 312-314.
 48. PRATLONG F, DEDET JP, MARTY P, PORTUS M, DENIAU M et al. – *Leishmania*-human immunodeficiency virus co-infection in the Mediterranean basin: isoenzymatic characterisation. *J Infectious Dis*, 1995, 172, 323-326.
 49. PRATLONG F, RIOUX JA, MARTY P, FARAUT-GAMBARELLI F & DEREURE J – Isoenzymatic analysis of 712 strains of *Leishmania infantum* in the south of France and relationship of enzymatic polymorphism to clinical and epidemiological features. *J Clin Microbiol*, 2004, 42, 4077-4082.
 50. RIOUX JA, LANOTTE G & PRATLONG F – *Leishmania killicki* n.sp. (*Kinetoplastida, Trypanosomatidae*). In *Leishmania, taxonomie et phylogénèse, applications éco-épidémiologiques*, 1986, IMEE, Montpellier, 139-142.
 51. RIOUX JA, LANOTTE G, SERRES E, PRATLONG F, BASTIEN P & PERIERES J – Taxonomy of *Leishmania*. Use of isoenzymes. Suggestion for a new classification. *Ann Parasit Hum Comp*, 1990, 65, 111-115.
 52. RIOUX JA – Trente ans de coopération franco-marocaine sur les leishmanioses: dépistage et analyse des foyers, facteurs de risque, changements climatiques et dynamique nosogéographique. *Ann AAEIP*, 2001, 161, 90-101.