

## LEISHMANIOSE VISCÉRALE : EFFICACITÉ CLINIQUE ET RÉSISTANCES AUX DIFFÉRENTES MOLÉCULES

Janvier F., Morillon M., Olliaro P.

*Med Trop* 2008 ; 68 : 89-101

**RÉSUMÉ** • La leishmaniose viscérale, présente dans 61 pays, touche 500 000 personnes par an, dont 90 % se concentrent dans cinq pays (Inde, Bangladesh, Nepal, Soudan et Brésil) avec un nombre de décès annuel estimé à 59 000 cas. Les antimoniés pentavalents, traitement de référence de la leishmaniose viscérale, ont été introduits il y a une soixantaine d'années. Depuis plusieurs années, des résistances cliniques sont décrites, principalement dans l'état de Bihar en Inde. La pentamidine et l'amphotéricine B sont apparues dans les années 50 et 60 ; plus récemment, l'amphotéricine B sous forme liposomale, la miltefosine et la paromomycine sont venues renforcer l'arsenal thérapeutique. Parmi ces molécules récentes, la miltefosine, seul médicament par voie orale, semble particulièrement vulnérable du fait d'un traitement de longue durée et d'une longue demi-vie. Les problèmes thérapeutiques rencontrés actuellement sont l'émergence de résistances acquises aux antimoniés, le coût de traitement élevé et les échecs thérapeutiques rencontrés chez les patients immunodéprimés, principalement chez ceux co-infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Dans le cadre d'initiative comme celle visant à l'élimination de la leishmaniose du sous-continent indien, l'apparition de résistances expose à un risque parasitaire non négligeable et fait craindre comme pour le paludisme, la tuberculose et l'infection par le VIH, que les difficultés rencontrées dans la mise en œuvre des politiques de santé publique n'aboutissent à l'émergence de formes difficilement curables.

**MOTS-CLÉS** • Leishmaniose viscérale - Résistances - Inde - Co-infection VIH.

### VISCERAL LEISHMANIASIS: CLINICAL SENSITIVITY AND RESISTANCE TO VARIOUS THERAPEUTIC AGENTS

**ABSTRACT** • Visceral leishmaniasis is present in 61 countries but 90 % of the 500000 new cases that arise annually occur in five countries, i.e., India, Bangladesh, Nepal, Sudan, and Brazil. Annual mortality is approximately 59000 cases. Agents based on pentavalent antimony have been the mainstay of treatment for the last 60 years. In recent years, however, clinical resistance to these agents has been reported especially in the state of Bihar in India. Pentamidine and amphotericin B were introduced in the 1950s and 1960s. More recent additions to the therapeutic arsenal include liposomal amphotericin B, miltefosine, and paromomycin. Among these recent molecules, miltefosine, i.e., the only oral agent, appears most vulnerable because it involves long-term treatment and has a long half-life. The main therapeutic problems now being encountered are the emergence of acquired resistance to antimonials, the high cost of treatment, and failure of therapy in immunocompromised patients mainly due to concurrent human immunodeficiency virus (HIV) infection. For eradication initiatives such as the one aimed at eliminating leishmaniasis on the Indian subcontinent, the appearance of drug resistance increases the risk associated to parasite infection and, as for malaria, tuberculosis and HIV infection, raises fears that the problems in the implementation of public health policies will lead to highly refractory forms.

**KEY WORDS** • Visceral leishmaniasis - Resistances - India - HIV co-infection.

Les leishmanioses sont un groupe d'affections parasitaires dues à des protozoaires flagellés du genre *Leishmania* et transmises par un insecte vecteur, le phlébotome. A des

espèces et situations épidémiologiques variées correspondent des formes cliniques polymorphes. On trouve ainsi les formes cutanées localisées et diffuses, les formes cutanéomuqueuses et les formes viscérales. Dans cet article, nous nous intéresserons aux traitements des formes viscérales à travers l'expérience indienne et aux résistances décrites pour chaque molécule.

### ÉPIDÉMIOLOGIE

La leishmaniose viscérale est décrite dans 61 pays (1) sur 4 continents où environ 200 millions de personnes sont exposées au risque. L'incidence mondiale est estimée à 500 000 cas par an avec un nombre de décès annuel estimé à 59 000 cas (2). Cette estimation et l'impact global de cette maladie sont très probablement sous-estimés en raison d'une carence des

- Travail de la Fédération des laboratoires (F.J., Praticien confirmé en biologie médicale), Hôpital d'instruction des armées Bégin, Saint-Mandé et de l'École du Val de Grâce, (M.M., Professeur Agrégé du SSA), Directeur de l'Institut de médecine tropicale du service de santé des armées, Marseille, de l'UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme on Research & Training in Tropical Diseases (TDR) (P.O., Membre étranger de l'Académie Nationale de Médecine, France, Professeur invité en maladies tropicales Université Victor Segalen Bordeaux 2), Cointin, World Health Organization, 20 avenue Appia, CH-1211, Geneva Switzerland.
- Correspondante : F. JANVIER, Hôpital d'instruction des armées Bégin, 69 avenue de Paris, 94163 Saint-Mandé Cedex.
- Courriel : janvierfred@hotmail.com •
- Article sollicité.



Figure 1 – Distribution mondiale de la leishmaniose viscérale (OMS).

systèmes de surveillance et de déclaration. L'Inde, le Népal, le Bangladesh, le Soudan et le Brésil représentent à eux seuls 90 % des cas mondiaux, avec la survenue de grandes épidémies meurtrières depuis 25 ans (1). La leishmaniose viscérale se rencontre également sur le pourtour méditerranéen où elle prédomine chez l'enfant, l'immunodéprimé et l'utilisateur de drogues intraveineuses (3-6). Les zones d'expansion de la maladie sont l'Afrique en raison de la co-infection VIH et des conditions socio-économiques dégradées, l'Inde et le Népal en raison de la persistance et de l'extension de résistances aux antimonisés (Fig. 1).

L'agent pathogène est un protozoaire flagellé appartenant au genre *Leishmania*. Deux parasites sont responsables de la leishmaniose viscérale : *L. donovani* en Inde et en Afrique de l'Est et *L. infantum* dans les foyers méditerranéen, asiatique et américain (où l'espèce en cause, tout en étant la même, est appelée *L. chagasi*).

Deux types de leishmaniose viscérale sont décrits en fonction du réservoir de parasite :

\* La leishmaniose viscérale zoonotique due à *L. infantum/L. chagasi* ayant le chien comme réservoir ;

\* La leishmaniose viscérale anthroponotique due à *L. donovani* ayant l'homme comme seul réservoir.

La transmission du parasite est vectorielle par l'intermédiaire du phlébotome (*Phlebotomus* et *Lutzomia*) (7). Le vecteur se développe dans les régions chaudes, ce qui explique le caractère permanent de la transmission en

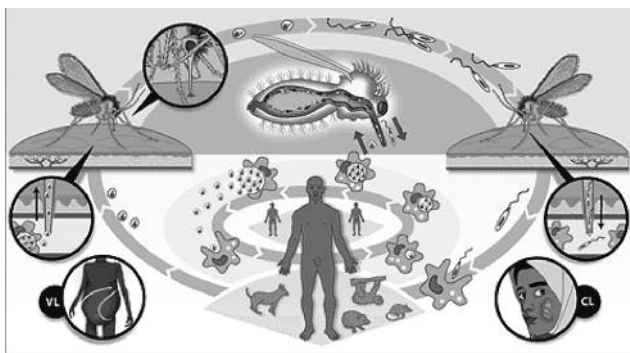


Figure 2 - Cycle parasitaire des leishmanies (OMS).

zone tropicale et le caractère saisonnier en climat tempéré. Cet insecte se contamine lors d'un repas sanguin crépusculaire ou nocturne en ingérant des formes amastigotes de leishmanies (Fig. 2). Celles-ci se transforment en formes promastigotes, subissent un cycle complexe et migrent vers la partie antérieure du tube digestif où a lieu la transformation en formes virulentes. Lors de la piqûre suivante, le phlébotome contamine l'homme en injectant dans le derme des formes promastigotes de leishmanies.

## PHYSIOPATHOLOGIE

La physiopathologie de la leishmaniose est dépendante de deux facteurs majeurs que sont la virulence du parasite et les mécanismes de défense de l'hôte infecté.

Durant la phase initiale de l'infection, les parasites promastigotes pénètrent dans les macrophages. Le parasite se localise alors dans les phagolysosomes où il se développe malgré un pH de 4,5 à 5 et la présence de protéases (8). Il peut ainsi se protéger d'une réponse humorale de l'hôte et éviter les mécanismes de défense cellulaire (9-11). Un lipophosphoglycane et une glycoprotéine (gp63) de surface représentent les facteurs de virulence du parasite en interférant dans l'action des macrophages et en protégeant de l'action du complément (12). Le parasite perturbe les mécanismes de défense anti-leishmaniens des macrophages (9-11, 13-15).

Les moyens de défense de l'hôte sont représentés par des réponses inflammatoires locales, spécifiques ou non, aboutissant à une diversité de formes cliniques selon l'intensité de la réaction. Dans certaines conditions, les individus infectés acquièrent une activité anti-leishmanienne complexe, faisant intervenir des neutrophiles, des monocytes, des macrophages, des cellules dendritiques, le système du complément et de nombreuses cytokines (10, 16). Il se crée alors une immunité spécifique humorale non protectrice, basée essentiellement sur des immunoglobulines anti-leishmaniennes de type G.

Cette réponse immunitaire de l'hôte vis-à-vis de l'infection est primordiale pour enrayer la dissémination systémique du parasite. Dans les pays européens, avant l'aire de la trithérapie, deux tiers des cas de leishmanioses viscérales survenaient chez des patients contaminés par le VIH. On comptait alors de 1,5 à 9 % de porteurs VIH co-infectés par des leishmanies (4). En Afrique, la guerre et les mouvements de populations de masse sont considérés comme les facteurs majeurs de dissémination de la maladie et ceci d'autant plus que la prévalence du VIH est élevée dans ces populations (17).

## FORMES CLINIQUES ET DIAGNOSTIC

La phase d'incubation de la leishmaniose varie de 3 à 6 mois avec parfois des cas survenant 1 à 3 ans après la contamination. Cette phase est le plus souvent asymptomatique.

tique avec, dans certains foyers de contamination, 1 cas symptomatique pour 7 ou 8 cas asymptomatiques (18, 19).

La phase d'invasion est extrêmement variable, d'installation progressive ou brutale, mais avec dans chaque cas une fièvre au premier plan.

La phase d'état se manifeste classiquement par un syndrome général (fièvre, pâleur, altération de l'état général) et un syndrome hépato-spléno-ganglionnaire (splénomégalie, parfois hépatomégalie et très fréquemment une micro-polyadénopathie avec des adénopathies fermes mobiles et non douloureuses). Cette phase d'état peut revêtir l'aspect d'une maladie opportuniste chez le patient au stade de syndrome d'immunodéficience acquise (20).

Le diagnostic de leishmaniose est épidémiologique et biologique.

Cette affection est évoquée chez des patients présentant les signes cliniques ci-dessus, séjournant ou ayant séjourné dans des foyers endémiques ou épidémiques.

Le diagnostic biologique repose sur des examens dits d'orientation et sur des examens spécifiques.

La numération formule sanguine met en évidence une anémie normochrome, normocytaire, arégénérative. Les examens biochimiques révèlent une forte élévation de la vitesse de sédimentation et une augmentation de la protéine C réactive. Une hypergammaglobulinémie à immunoglobuline G polyclonale avec hypoalbuminémie est notée sur l'électrophorèse et sur l'immunofixation des protéines sériques. Après cette première étape d'orientation biologique, des examens spécifiques directs et indirects sont envisagés.

Le diagnostic spécifique des leishmanioses repose sur la mise en évidence du parasite ou de son acide désoxyribonucléique et sur la recherche de traces immunologiques de l'infection telles que des anticorps circulants (21).

L'examen de référence est le frottis avec mise en évidence de formes amastigotes, encore appelées corps de Donovan, intra ou extra-macrophagiques. Le matériel obtenu par ponction peut être également mis en culture, fixé pour examen histopathologique, soumis à une méthode d'amplification génique et exceptionnellement inoculé au hamster (22, 23).

La sensibilité du frottis est supérieure à 95 % pour les prélèvements spléniques, de 55 à 97 % pour les prélèvements médullaires et de 60 % pour les ponctions ganglionnaires (24-29).

L'amplification génique par *polymerase chain reaction* (PCR) s'effectue à partir de prélèvement de moelle osseuse ou de prélèvement sanguin atteignant une sensibilité proche de 100 % pour ce dernier (30).

Les examens spécifiques indirects mettent en évidence une réponse immunitaire de l'hôte infecté. Les kits commerciaux mettant en évidence les anticorps circulants utilisent des méthodes d'immunofluorescence indirecte, d'immunochromatographie, d'*enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA), d'électrosynérèse, d'agglutination indirecte ou d'hémagglutination indirecte. Ces méthodes sérologiques peuvent être mises en défaut chez le patient immunodé-

primé. Actuellement, des tests de détection rapide, utilisables sur le terrain, permettent d'obtenir une sensibilité de 90 à 100 % (25, 31, 32).

Ces méthodes de recherche d'antigènes circulants sont le dipstick k39, le Katex® (une méthode de détection d'antigènes leishmaniens dans les urines) et le DAT (test d'agglutination directe de promastigotes formolés) (33).

Enfin, le test de sensibilité retardé par intradermo-réaction (Montenegro) n'est pas utile dans le diagnostic des leishmanioses viscérales (34).

## TRAITEMENT

### Généralités

La lutte contre la leishmaniose viscérale est basée sur la détection précoce des cas, nécessaire à l'instauration d'un traitement efficace. La thérapeutique, dominée depuis de nombreuses années par les sels d'antimoine, devient progressivement inefficace dans certaines régions endémiques. L'amphotéricine B, notamment la forme liposomale, est très largement utilisée et commence à s'imposer. Actuellement, la miltefosine (médicament oral) et la paromomycine (injectable) ont montré une grande efficacité sur les populations indiennes.

Les problèmes majeurs dans le traitement de cette maladie sont l'accès aux structures de soins, le coût d'une hospitalisation, le coût des médicaments ainsi que le nombre élevé de jours d'inactivité professionnelle (35, 36). Nous décrirons les différentes thérapeutiques actuelles en décrivant plusieurs études cliniques et microbiologiques.

### Les différentes molécules

#### • Sels d'antimoine

Les sels d'antimoine sont utilisés dans le traitement de la leishmaniose depuis les années 1940. Le N-méthylglucamine (Glucantime®), le stibogluconate de sodium (Pentostam®) et ses génériques (generic SSG) sont les seuls produits disponibles actuellement. Ils ont une teneur en antimoine de 8,5% pour le Glucantime® et de 10% pour le Pentostam®.

Le mécanisme d'action, mal connu, semble lié à une inhibition de la synthèse de l'adénosine triphosphate, et à l'oxydation des glucides et des acides gras (37, 38). Un processus d'apoptose est décrit associant une action combinée sur l'ADN parasitaire et sur une phosphatidylsérine (39, 40). Du point de vue pharmacocinétique, l'élimination est urinaire, pouvant être incomplète avec possibilité d'accumulation.

Le mode d'administration le plus courant est l'injection intramusculaire, plus rarement intraveineuse. La posologie recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé est de 20 mg de dérivé pentavalent d'antimoine (SbV)/kg/jour, soit 60 à 70 mg/kg de Glucantime®, pendant 4 semaines. La dose quotidienne ne doit pas excéder 850 mg

SbV/jour. Ce produit peut s'administrer de façon progressive, 1/4 de la dose recommandée le premier jour, 1/2 le deuxième jour, 3/4 le troisième jour, pour atteindre la dose complète au quatrième jour. Cette administration progressive a pour but d'éviter les nombreux effets secondaires liés à la toxicité de ces molécules. En effet, l'intolérance se caractérise par des myalgies, des arthralgies, des rashes cutanés. L'intoxication est potentiellement mortelle et se manifeste par une insuffisance rénale, une hépatite, une pancréatite et des troubles du rythme (1, 33).

\* Activité clinique

Géographiquement, la résistance clinique décrite est localisée dans la région de Bihar, au Nord du Gange, jusqu'au Népal, où elle touche 50 % des cas de kala-azar. Elle apparaît dès le premier traitement par dérivés antimonisés (41, 42).

L'efficacité de ces molécules a été récemment étudiée dans une méta-analyse (43) qui regroupait des études sur le traitement de la leishmaniose viscérale en Inde entre 1980 et 2001. Sur cette période de 21 ans, 13 études ont analysé l'efficacité des antimonisés sur un total de 1562 patients.

Il en ressort :

- une corrélation entre la dose prescrite et la réponse clinique ;

- une baisse continue de la sensibilité des parasites, avec un taux de guérison de 83 à 86 % en 1980 et un taux de guérison de 36 à 69 % en 2001 avec une dose de 20 mg/kg/jour. Dans les années 1970, un traitement de 10 mg/kg durant 6 à 10 jours permettait une guérison complète (44); en 1984, l'OMS conseillait un traitement de 20 mg/kg durant 20 jours pour être efficace. Ce phénomène de résistance est également noté dans deux études de 2004 (45, 46) qui révèlent un taux de rechutes de plus de 60 % dans les 6 mois qui suivent un traitement classique de 28 jours ;

- les effets secondaires sont directement corrélés à la dose totale de dérivés antimonisés. Dans le cadre d'un traitement de 28 jours à 20 mg/kg/jour, une cardiotoxicité est notée dans 8 à 17 % des cas avec une mortalité de 5 à 7 % de ceux-ci ;

- enfin, il n'y a aucun bénéfice à associer l'interféron gamma aux dérivés antimonisés.

\* Résistance du parasite (Tableau I)

La sensibilité *in vitro* du parasite confirme cette résistance avec une sensibilité à 2,5 µg Sb/ml pour les parasites sensibles et 7,5 µg Sb/ml pour les parasites résistants (47). Cette résistance est majoritairement acquise par sélection de mutants résistants et semble être naturelle chez certains parasites (48). Les deux phénotypes de résistances mis en évidence sont la résistance aux « prodrogues » des antimonisés et une sensibilité diminuée à la forme active de l'antimonisé ou une résistance aux « prodrogues » des antimonisés mais aucune résistance à la forme active de l'antimonisé (49).

Plusieurs mécanismes de résistance sont décrits, aucun ne pouvant expliquer à lui seul la résistance clinique (50, 51).

- Résistance lors de l'internalisation de l'antimonisé

Pour être active, la molécule doit pénétrer dans les phagolysosomes puis dans le parasite pour agir sur les structures intracellulaires par le biais de protéines telles que les aquaglycoporines permettent le transport de dérivés des métaux. Un défaut d'expression du gène codant l'aquaglycoporine 1 (AQP1) ou une répression de ce gène (52, 53) sont retrouvés sur les souches résistantes.

- Mécanisme d'action et de réduction des métaux

La résistance aux antimonisés semble avoir également une origine intracellulaire. Les dérivés antimonisés pentavalents (SbV) et trivalents (SbIII) sont actifs sur les leishmanies, principalement après une phase de réduction de SbV en

Tableau I - Résistances décrites pour les différentes molécules anti-leishmaniennes.

Molécules	Résistances
Antimonisés	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Résistances lors de l'internalisation : défaut d'expression du transporteur (AQP1)</li> <li>- Déficit enzymatique (Thiol Dependent Reductase) : accumulation de prodrogues peu actives.</li> <li>- Efflux du produit actif par une protéine membranaire (PgpA) : transporteur ATP dépendant. Actions croisées sur les antimonisés et la pentamidine.</li> <li>- Hyperproduction de thiols : lutte contre le stress oxydatif créée par l'antimonisé.</li> <li>- Modification du cytosquelette : antimonisés inactifs sur le cytosquelette modifié.</li> <li>- Autre mécanismes : expression d'un gène inductible, entraînant une résistance.</li> </ul>
Amphotéricine B désoxycholate	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Déficit enzymatique : remplacement de l'ergostérol membranaire, cible de l'amphotéricine B, par un précurseur lipidique insensible (cholesta-5,7,24-trien-3β-ol).</li> </ul>
Pentamidine	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Résistance lors de l'internalisation.</li> <li>- Autres mécanismes : efflux de drogues et accumulation mitochondriale du produit actif.</li> </ul>
Paromomycine	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Résistance lors de l'internalisation</li> <li>- Autres mécanismes : modifications ribosomale et mitochondriale.</li> </ul>
Miltefosine	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Efflux du produit actif par une glycoprotéine membranaire (ABC transporteur).</li> <li>- Résistance lors de l'internalisation : modification de 2 protéines transporteuses (LdMT et LdROS3).</li> </ul>
Imidazolés	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pas de résistance décrite</li> <li>- Extrapolation des mécanismes de résistances chez <i>Candida</i> et <i>Trypanosoma cruzi</i>.</li> </ul>

SbIII, par une enzyme spécifique, la « thiol dependent reductase » (TDR). Les SbV sont actifs à concentrations élevées (>1 mg/ml) tandis que les SbIII sont actifs à de faibles concentrations (25µg/ml). La résistance des leishmanies peut s'expliquer par un phénomène d'inactivation de cette enzyme (TDR) entraînant ainsi une accumulation de SbV, toxique seulement à haute concentration, et un défaut de production de SbIII, forme réellement active sur le parasite.

*- Efflux de drogues*

Une autre hypothèse de résistance est celle des protéines de membrane entraînant un efflux cellulaire du dérivé antimonié (54). La PgpA, appartenant à la famille des transporteurs ABC (ATP-binding cassette) est hyperproduite chez les isolats résistants aux dérivés antimoniés et la transfection de son gène à des parasites sensibles entraîne une résistance. L'autre protéine d'efflux, PRP1, a été mise en évidence lors de l'étude de parasites résistants à la pentamidine. Il s'agit d'une protéine d'efflux cellulaire entraînant une résistance croisée. Ces mécanismes d'efflux semblent jouer un rôle clinique mineur.

*- Métabolisme des thiols*

Ce métabolisme est important pour le maintien d'un environnement réducteur au sein des cellules telles que les macrophages car il permet de lutter contre des stress oxydatifs comme celui produit par l'arsenic. La présence de thiols a un rôle important dans la résistance aux antimoniés en luttant contre le stress oxydatif. Une hyperproduction de thiols chez des parasites induit une résistance.

*- Modification du cytosquelette*

Le cytosquelette du parasite est constitué d'hétérodimères de microtubules  $\alpha$  et  $\beta$  dont la synthèse est régulée par les microtubules non polymérisés. Les dérivés antimoniés en inhibant la polymérisation de ces microtubules induisent une diminution de synthèse et donc une dégradation du cytosquelette. Les mécanismes de résistance vont consister à modifier le cytosquelette pour entraîner une inefficacité des dérivés antimoniés. En 2006, un des gènes responsable de ces modifications (PG1) a été identifié (55)

*- Autres mécanismes*

En 2003, une équipe indienne a montré l'existence, chez les parasites résistants, d'une surexpression d'un gène porté par le chromosome 9, inductible par les antimoniés. En effet, une protéine kinase membranaire, fixant les antimoniés, entraîne une cascade enzymatique intra-cellulaire qui induit la transduction de ce gène (56).

L'étude *in vitro* de ces phénomènes a confirmé que la résistance est bien multifactorielle. Le but est de diminuer la concentration intracellulaire de produit actif en empêchant l'entrée des molécules dans le parasite, en séquestrant ou en permettant l'efflux des substances actives et en inhibant la synthèse de SbIII qui représente la molécule active. Les différentes pistes présentées sont intensément étudiées à l'heure actuelle mais aucune n'explique, à elle seule l'expression clinique de la résistance.

D'après Sundar (57, 58), l'augmentation de résistances cliniques semble être liée à une mauvaise prescription

d'anti-leishmanien, au non-respect des protocoles OMS, à l'utilisation de monothérapie, à une mauvaise compliance et à l'utilisation de produits de mauvaise qualité. La co-infection VIH-leishmaniose joue probablement un rôle important car on peut noter chez ces patients une parasitémie plus importante, une réponse thérapeutique plus tardive, moins importante et des taux de rechutes élevés.

*• Amphotéricine B désoxycholate et amphotéricine B sous forme liposomale*

L'amphotéricine B désoxycholate, isolée en 1955, est un antifongique puissant utilisé dans le traitement des leishmanioses graves comme les leishmanioses viscérales, muqueuses ou les leishmanioses résistantes aux antimoniés (59, 60). Cette molécule entraîne la mort du parasite en modifiant la perméabilité de la membrane (61, 62) et agirait également sur les macrophages en stimulant la production et l'activité phagocytaires (22).

Cette molécule efficace présente des effets secondaires : une intolérance lors de la perfusion avec frissons, céphalées, crampes, hypotension, vertiges, paresthésies, convulsions, collapsus, vomissements et exceptionnellement choc anaphylactique ou arrêt cardiaque. Elle présente une toxicité rénale et hématologique nécessitant un suivi clinico-biologique rapproché. Ces inconvénients sont limités par une administration intraveineuse lente et une adaptation posologique au terrain.

L'association amphotéricine B complexée aux lipides sous forme liposomale a permis de diminuer les effets secondaires et d'accroître la demi-vie et l'efficacité (63). Cette formulation développée dans les années 1980 est commercialisée sous le nom d'Ambisome®. Des formes proches, telles que l'Abelcet® et l'Amphocil®, sont utilisées mais exposent à plus d'effets indésirables et à une moins bonne efficacité (45, 64).

L'Ambisome® est très efficace et s'administre en perfusion de 2 ou 3 mg/kg/jour x 5 doses (dose totale 10 ou 15mg/kg) (44) ou 3 mg/kg/jour x 7 doses (dose totale 21mg/kg) sur une période de 21 jours (USA)(65). En 2001, Sundar avait montré qu'une dose unique d'Ambisome® permettait de guérir 91 % des leishmanioses viscérales (66).

*\* Activité clinique*

La méta-analyse de 2005 a repris 26 essais et 64 études regroupant 3612 patients traités par les différentes formulations d'amphotéricine B.

Pour l'amphotéricine B, 18 études avec 2741 patients sont recensées. Les doses utilisées variant de 7 à 20mg/kg, étaient administrées quotidiennement ou 1 jour sur 2, avec des durées de traitement jusqu'à 43 jours. Tous ces traitements ont montré une bonne efficacité mais il est difficile de comparer ces différentes études en raison des variations de protocoles. L'effet semble corrélé à la dose avec de meilleures réponses pour des doses totales croissantes entre 10 et 20 mg/kg.

Concernant l'Ambisome®, 6 études regroupant 476 patients semblent confirmer la très bonne efficacité thérapeutique. Des posologies de 3,75 mg/kg ont permis de traiter des leishmanioses viscérales résistantes aux antimonies (67). En traitement unique de 5 mg/kg et de 7,5 mg/kg, les taux de guérison ont été respectivement de 91 % et 90 % (66, 68).

La comparaison d'un traitement conventionnel avec l'amphotéricine B désoxycholate (1mg/kg/jour durant 30 jours) et d'un traitement avec l'Ambisome® ou l'Abelcet® (2mg/kg/jour durant 5 jours) a montré des taux de guérison respectifs de 96 %, 96 % et 92 % (45).

Récemment des cas non répondeurs à l'Ambisome® ont été décrits au Soudan (69). Parmi les 10 patients non répondeurs, 4 étaient co-infectés par le VIH, ou la tuberculose et la totalité présentaient un indice parasitologique élevé sur la ponction ganglionnaire réalisée avant le traitement.

Les traitements par amphotéricine B sont très fréquemment accompagnés d'effets indésirables tels que la fièvre, des frissons, des thrombophlébites alors que l'Ambisome® n'entraîne que des effets indésirables mineurs.

L'efficacité de l'Ambisome® ne semble pas majorée au delà de 7,5 mg/kg mais en revanche les effets secondaires sont majorés avec des céphalées persistantes, des vomissements et des effets indésirables graves (cytolyse hépatique, hypotension rebelle) nécessitant l'arrêt du traitement (70).

La formulation liposomale est considérée comme avantageuse par rapport à l'amphotéricine B car elle semble plus efficace, elle est moins toxique et permet de réduire les durées d'hospitalisation. Les patients co-infectés par le VIH semblent assez sensibles à cette molécule. L'inconvénient majeur de l'Ambisome® demeure son coût élevé (600 US\$), inabordable dans les pays en voie de développement (71).

#### \* Résistance du parasite (60) (Tableau I).

Les clones résistants étudiés sont des parasites sélectionnés par cultures successives sur milieu contenant de l'amphotéricine B. Les parasites promastigotes obtenus présentent des modifications membranaires avec remplacement de l'ergostérol, cible de l'amphotéricine, par un précurseur lipidique le cholesta-5,7,24-trien-3 $\beta$ -ol (72). Cette résistance est liée à un déficit en enzyme permettant la méthylation du précurseur lipidique. Chez *L. donovani*, 2 phénotypes de résistances ont été observés, l'un présente un déficit total de synthèse de cette enzyme et le second synthétise de manière importante une enzyme anormale, aboutissant dans les 2 cas à une accumulation du précurseur lipidique (73).

#### • Pentamidine

La pentamidine est une amine aromatique synthétisée à la fin des années 1930. Seul l'iséthionate de pentamidine est commercialisé actuellement sous le nom de Pentacarinat®. Cette molécule s'utilise en première intention dans le traitement de la leishmaniose cutanée et a été utili-

sée en deuxième intention dans la leishmaniose viscérale (71).

Le pentamidine agit en inhibant la synthèse de l'ADN parasite par blocage de la thymidine synthétase, par fixation de l'ARN transféré et en perturbant l'activité mitochondriale (22, 74). Elle n'est pas absorbée par voie digestive et doit donc être administrée par voie parentérale. Son élimination est lente et se fait par voie rénale.

Le Pentacarinat® se présente sous forme de flacon de 300 mg, à utiliser à la posologie de 4 mg/kg/injection. Les injections sont administrées par voie intra-musculaire ou par voie veineuse lente. L'intervalle entre deux injections est de 48 heures.

Le problème majeur de ce produit est sa toxicité. Les effets indésirables sont généraux de type allergique (hypotension, tachycardie, nausées, vomissements, érythème facial, prurit, hallucination, syncope) ou locaux (urticaire, phlébite ou thrombose veineuse, abcès stérile et/ou nécrose de la peau en cas d'injection intramusculaire).

Les effets toxiques rencontrés sont dépendants de la dose et touchent le rein, le pancréas et les lignées sanguines. Des troubles du métabolisme glucidique sont décrits par action directe sur les cellules pancréatiques, entraînant des hypoglycémies transitoires jusqu'à l'induction de diabète insulino-dépendant (5 %) ou de pancréatite aiguë d'évolution fatale.

#### \* Activité clinique

La méta-analyse de 2005 (43) a recensé 6 essais publiés et 1 non publié dans les années 1980 et 1990. Dans 5 essais, la molécule a été administrée à la posologie de 4 mg/kg par jour. Il en ressort que l'efficacité est corrélée à la dose administrée et qu'il existe une diminution de l'efficacité observée entre 1980 et 1990 avec un pourcentage de réussite de 93 % en 1981 et d'environ 75 % à la fin des années 1980. Dans ces essais, le principal effet secondaire retrouvé est le diabète induit par le traitement.

#### \* Résistance du parasite (60) (Tableau I).

Durant la courte période d'utilisation de cette molécule dans le traitement de la leishmaniose viscérale, quelques parasites résistants ont été étudiés. Les phénomènes de résistance décrits sont une diminution de l'incorporation de la pentamidine chez *L. donovani* et *L. amazonensis*, respectivement de l'ordre de 18 et 75 fois (75). Les transporteurs permettant l'incorporation de la molécule ont été caractérisés et pourraient jouer un rôle dans la résistance clinique à la pentamidine (74, 76). D'autres mécanismes sont décrits comme l'accumulation de pentamidine dans les mitochondries parasites ou l'efflux cellulaire.

#### • Paromomycine

La paromomycine (aminosidine) est un antibiotique de la classe des aminoglycosides qui a été développé dans les années 1960, qui possède une activité anti-bactérienne mais aussi anti-leishmanienne. Le mécanisme d'action sur les

leishmanies est peu connu mais il semblerait qu'il soit lié à une activité sur les ribosomes cytoplasmiques et mitochondriaux du parasite (77).

Cette molécule a été négligée jusqu'aux années 1980 où elle a été utilisée avec succès en traitement local des leishmanioses cutanées. Elle a ensuite été étudiée au Kenya et en Inde, seule ou en association avec les dérivés antimoniés (78, 79). La paromomycine a récemment été enregistrée en Inde pour le traitement de la leishmaniose viscérale.

#### \* *Activité clinique*

La paromomycine en association a démontré une supériorité face aux dérivés antimoniés seuls (80, 81). Deux études ont comparé les taux de guérison avec la paromomycine seule à 12, 16 et 20 mg/kg/jour pendant 20 jours et les dérivés antimoniés à 20 mg/kg/jour pendant 30 jours. Les taux de guérison sont respectivement compris entre 89 et 93 % et entre 86 et 97 % pour la paromomycine à 16 et 20 mg/kg/jour et à 63 % avec le dérivé antimonié seul (81, 82). Une autre étude démontre qu'il est possible de diminuer la durée du traitement de 30 à 20 voire 17 jours lorsqu'on associe la paromomycine aux antimoniés (83). Les posologies efficaces ont été recommandées en traitement de 21 jours, en première intention à Bihar en Inde (81, 82, 84). Les effets secondaires rencontrés sont peu nombreux avec quelques cas d'hypoacousie transitoire (1 seul cas définitif), quelques troubles gastro-intestinaux chez les patients recevant une combinaison. Aucune toxicité hépatique ou rénale n'a été décrite. Une étude comparative de Phase III a montré la non-infériorité de la paromomycine à 15 mg/kg/j pour 21 jours par rapport à l'amphotéricine B 1 mg/kg 1 jour sur 2 durant 30 jours (efficacité : 94,6% paromomycine; 98,8% amphotéricine B) (79).

Cliniquement, aucune résistance n'est décrite lors d'un traitement de leishmaniose viscérale; ceci est peut être dû à la courte période d'utilisation de cette molécule dans cette indication. Deux cas ont été décrits, lors d'un traitement prolongé (60 jours) de leishmaniose cutanée (85).

#### \* *Résistance du parasite (60) (Tableau I)*

La sensibilité *in vitro* des leishmanies a été étudiée sur modèle de macrophages murins. Les sensibilités, représentées par des doses létales 50, sont variables entre les différentes leishmanies. Pour *L. major* et *L. tropica* la DL<sub>50</sub> se situe entre 1 et 5 µM, pour *L. braziliensis* la DL<sub>50</sub> est de 12 µM, elle est de 39 µM pour *L. mexicana* et de 6 à 18 µM pour *L. donovani*. Un isolat indien de *L. donovani* s'est montré très résistant avec une DL<sub>50</sub> supérieure à 150 µM (86).

Les mécanismes de résistance bactériens aux aminoglycosides sont bien connus. Il s'agit d'une inhibition de la synthèse protéique par liaison et interférence avec les sous-unités 16S et 30S du ribosome. Chez *Leishmania*, la résistance paraît liée à une action sur les ribosomes, sur la paroi mitochondriale (77, 87) et à une diminution d'incorporation de l'antibiotique dans le parasite (88).

Le développement commercial de cette molécule arrêté jusqu'en 2002 a été relancé par le *Programme on Research & Training in Tropical Diseases* (TDR) de l'OMS et l'*Institute of One World Health* et a abouti à l'enregistrement du produit en Inde. Des essais sont également en cours en Afrique de l'Est grâce au « *Drugs for Neglected Diseases initiative* (DNDi) ([www.dndi.org](http://www.dndi.org)). Dernièrement, cette molécule a reçu le statut de « médicament orphelin » par la FDA aux Etats-Unis et par la EMEA en Europe. L'avantage majeur de cette molécule est le faible coût d'achat (10 à 20 US\$) pour traiter un adulte.

#### • *Miltefosine*

La miltefosine, un phospholipide alkylé initialement développé comme anti-cancéreux, est le premier anti-leishmanien par voie orale, mis sur le marché en Inde en mars 2002 (89, 90). L'activité anti-leishmanienne découverte au milieu des années 1980 a été confirmée *in vitro* et *in vivo* à la fin des années 1990. Après une absorption digestive de l'ordre de 90 %, l'action de la miltefosine est comparée à celles des autres analogues des phospholipides.

#### \* *Activité clinique (43, 91)*

La méta-analyse de 2005 reprend 6 études menées entre 1998 et 2000 (43). Une étude de phase II, menée sur plusieurs centres, a vérifié l'efficacité de cette molécule avec un taux de guérison de 95 % pour les 4 groupes testés. Sur 120 patients, 6 patients ont rechuté ; 3 étaient déjà résistants aux antimoniés et 3 n'avaient jamais été traités. La dose journalière estimée pour ces patients était de 1,7 mg/kg, ce qui semble insuffisant. La posologie recommandée depuis, est d'environ 2,5 mg/kg/jour avec possibilité d'augmenter sans dépasser 4,8 mg/kg/jour.

Les deux autres études de phase II ont confirmé cette efficacité clinique (94 % à 100 %) avec un traitement d'au moins 21 jours.

Dans une étude de phase III (92), il est noté chez l'adulte, des taux de guérison de 94 % avec des doses journalières de 50 ou 100 mg durant 4 semaines et chez l'enfant, des taux de guérison de 83 à 94 % pour un traitement de 4 semaines à la posologie de 2,5 mg/kg/jour.

Les études chez l'enfant (93, 94) sont peu nombreuses mais confirment déjà ces données, avec de très bons taux de guérison, y compris chez les patients non répondeurs aux antimoniés. La miltefosine semble être une bonne indication dans le traitement des leishmanioses viscérales de l'enfant. Au moins aussi efficace que l'amphotéricine B, elle s'administre par voie orale, elle est efficace chez les enfants résistants aux antimoniés et les effets indésirables sont mineurs par rapport à ceux de la pentamidine. Cette molécule testée dans le traitement des co-infections avec le VIH s'est avérée efficace dans 64 % des cas (95).

Pour être efficace, l'administration doit être quotidienne (96). Elle a une action rapide avec une apyrexie obtenue en moins de 7 jours et avec des parasitémiées spléniques négatives en 14 jours (91, 97). Si les essais de traitement court

Tableau II - Recommandations thérapeutiques pour la leishmaniose viscérale chez le patient immunocompétent.

Molécules	Posologies recommandées	Références
Stibogluconate de sodium.	20 mg/kg/jour 28 jours	(42, 83, 84, 118-122)
Amphotéricine B désoxycholate	1mg/kg en alternance un jour sur deux durant 30 jours	(45, 46, 122-125)
Amphotéricine B liposomale	2 mg/kg/jour un jour sur deux pendant 10 jours. 5 mg/kg/jour en une injection	(45, 122, 126, 127) (128, 129)
Miltefosine	USA : 3 mg/kg/jour, en 7 jours sur une période de 21 jours. 2.5 mg/kg/ jour soit 100 mg/jour durant 28 jours (poids > 50 kg) ou 50 mg/jour durant 28 jours (poids < 50 kg).	(65) (92-94, 98, 99, 130, 131)
Paromomycine	15 mg/kg/jour durant 21 jours	(79)
Pentamidine	Non recommandée	

(14 jours) se sont montrés moins efficaces avec un taux de guérison de 88,9 % et des rechutes au cinquième mois (98), ceux de 21 et 28 jours ont une efficacité similaire de l'ordre de 95%.

Les principaux effets notés sont des vomissements, une diarrhée dans 20 à 40 % des cas (91, 99). Une cytolysse hépatique est notée après une semaine de traitement dans 15 % des cas chez l'adulte (91) et dans 48 à 63 % des cas chez l'enfant (99) ; mais cède spontanément en 1 semaine. L'insuffisance rénale est notée dans 10 % des cas chez l'adulte et n'est pas notée chez l'enfant. Quelques patients ont développé des réactions allergiques de type rash cutané (4 sur 299).

Le risque majeur de cette molécule demeure son risque tératogène et fœtotoxique (100) mis en évidence expérimentalement chez le rat et le lapin. Les concentrations sériques à la fin du traitement et la demi-vie longue de cette molécule [(6 à 8 jours pour une dose unique (100, 101)] permettent de penser que les effets toxiques peuvent durer 2 mois après le traitement. Pour traiter une femme en âge de procréer une contraception est donc obligatoire pour au moins 3 mois.

Depuis 2002, le taux de rechutes multiplié par deux, peut s'expliquer par l'apparition de résistances liées à la demi-vie longue de la molécule et à une disponibilité accrue du produit (101, 102).

#### \* Résistance du parasite (Tableau I).

Les sensibilités, représentées par des doses létales 50, sont étudiées *in vitro* sur macrophages. Elles sont variables entre les différentes leishmanies avec une DL 50 de 0,04µg/mL à 8,7 µg/mL pour *L. donovani*.

Des isolats résistants (40 µg/mL) obtenus par cultures successives sur milieu avec inhibiteur (89) ont permis de démontrer un efflux de miltefosine par une P-glycoprotéine appartenant à la famille des ABC transporteurs et à une diminution de l'entrée de miltefosine dans le parasite par la modification de deux protéines transporteuses LdMT et LdRos3. Ces mutations sont stables, observées sur un seul gène et portées par deux allèles (103-106). L'apparition d'un clone résistant dans une région endémique, pourrait entraîner une diffusion rapide d'une résistance stable dans le temps et ainsi compromettre le devenir de la miltefosine.

#### • Imidazolés

Les imidazolés sont des inhibiteurs de la synthèse des stérols utilisés dans les infections fongiques. Leur utilisation dans le traitement de la leishmaniose remonte à 1981 (107, 108). Le mécanisme d'action est similaire à l'action antifongique, c'est-à-dire par inhibition d'une enzyme, la 14  $\alpha$  déméthylase, qui a pour action la déméthylation du 14  $\alpha$  méthylstérol en stérol. Le traitement induit une accumulation de 14  $\alpha$  méthylsterol qui fragilise la membrane parasitaire et entraîne la destruction du parasite.

#### \* Activité clinique

Peu d'études ont été menées sur le traitement de la leishmaniose avec les imidazolés.

Une étude sur le traitement de la leishmaniose cutanée a montré une sensibilité importante de *L. mexicana* (89 % de guérison) et une moins bonne efficacité sur *L. braziliensis* (39%) (108).

#### \* Résistance du parasite (Tableau I).

Aucune étude n'a été publiée sur la résistance des leishmanies vis à vis des imidazolés. Les résistances hypothétiques sont une extrapolation des résistances rencontrées chez *Candida* spp et chez *Trypanosoma cruzi*. Chez ce parasite, des résistances au fluconazole ont été créées expérimentalement (109).

#### • Sitamaquine

La sitamaquine est une 8 amino-quinoline dont l'activité anti-leishmanienne a été évaluée *in vitro* chez *L. tropica* et *L. donovani* (110, 111) et validée chez l'animal (30). Les études de phase I et II réalisées sont peu probantes. Au Kenya, une étude de phase II a montré un taux de guérison de 50 % lors d'un traitement de 1 mg/kg/jour durant 28 jours (112). Dans une étude brésilienne, la même posologie s'est avérée inefficace alors qu'à 2 mg/kg/jour durant 4 semaines le taux de guérison était de 67 % (113). Une étude de 2005 (114) confirme une excellente activité anti-leishmanienne à la posologie de 2 mg/kg/jour durant 28 jours.

Dans cette étude, les taux de guérison après 28 jours de traitement étaient respectivement de 92 % pour 1,75



mg/kg, 80 % pour 2 mg/kg, 82 % pour 2,5 mg/kg et 81 % pour 3 mg/kg. Il ne semble pas y avoir de relation directe dose-effet pour cette molécule. Les effets indésirables rencontrés sont des douleurs digestives (12 %) des céphalées (11 %) et de rares cas d'insuffisance rénale dans les groupes traités à 2,5 et 3 mg/kg.

Les connaissances actuelles concernant le mécanisme d'action, l'efficacité clinique et les effets indésirables sont faibles et nécessitent des études complémentaires. En raison des effets secondaires apparus lors d'études cliniques, le devenir de ce produit demeure à présent incertain.

## DISCUSSION

### Les indications thérapeutiques (59)

Le nombre de molécules utilisées dans le traitement de la leishmaniose viscérale est assez limité (Tableau II). Ces restrictions sont majorées par le coût élevé de certaines molécules.

- *Le premier protocole*, recommandé par l'OMS, utilise le stibogluconate de sodium (Pentostam®) et ses génériques (generic SSG) à la posologie de 20 mg/kg/jour durant 28 jours par voie intraveineuse. Il s'agit de la molécule de première intention en Afrique de l'Est et dans le Sud de l'Asie à l'exception de la région de Bihar en Inde. Le N-méthylglucamine (Glucantime®) est utilisé en première intention en Amérique Centrale, en Amérique du Sud et dans la région méditerranéenne. Son problème majeur, comme nous l'avons déjà souligné, est l'apparition de résistances.

- *La seconde molécule*, d'une excellente efficacité, est l'amphotéricine B désoxycholate administrée à raison de 1mg/kg/jour en alternance un jour sur deux durant 30 jours. Cette molécule s'utilise en première intention en Inde du fait des résistances aux antimoniés et en deuxième ligne comme traitement de secours dans les autres pays.

- *L'amphotéricine B* en formulation lipidique est employée à la posologie de 2 mg/kg/jour, 1 jour sur 2 durant 10 jours. Elle est très efficace et bien tolérée. Elle s'utilise en première intention dans les régions méditerranéennes et en seconde intention en Inde et au Kenya compte tenu de son prix élevé. L'OMS et MSF ont cependant accès à une molécule à bas prix. Dans les régions riches, de transmission zoonotique (bassin méditerranéen, Moyen Orient et Brésil), cette molécule est utilisée dans le traitement des patients co-infectés par le VIH et la leishmaniose viscérale.

- *La paromomycine* pourrait être utilisée plus largement après réalisation d'études complémentaires à la posologie de 15 mg/kg/jour en monothérapie et 12 mg/kg/jour en association aux antimoniés durant 21 jours. Cet antibiotique a l'avantage d'être peu coûteux mais présente l'inconvénient de devoir être administré par voie parentérale durant 3 semaines.

- *La pentamidine* n'est utilisée qu'exceptionnellement dans le traitement de la leishmaniose viscérale en raison des graves effets indésirables rencontrés. Elle s'administre à la posologie de 4 mg/kg/jour, 1 jour sur 2, durant 15 à 20 jours.

- *La miltefosine* est une molécule récemment mise sur le marché en Inde sous l'impulsion de l'OMS/TDR. Son efficacité et son mode d'administration par voie orale en font une molécule de choix utilisée dans le traitement à la posologie de 2,5 mg/kg/jour soit 100 mg/jour (pour un patient de plus de 50 kg) ou 50 mg/jour (pour un patient de moins de 50 kg) pendant 28 jours. La miltefosine est préconisée dans les programmes d'éradication en Inde, au Bangladesh et au Népal. La tératogénicité et la longue demi-vie de cette molécule sont des inconvénients majeurs contre-indiquant son emploi chez les femmes en âge de procréer sans contraception efficace. Environ un patient sur quatre est une femme ou une jeune fille en âge de procréer ; 2 % d'entre elles sont enceintes au moment du diagnostic et au moins 30 % des femmes ne peuvent garantir une contraception efficace pour les 3 mois après mise en route du traitement.

Les différentes stratégies thérapeutiques mises en place tiennent compte de l'efficacité clinique, de l'innocuité, de la voie d'administration, des résistances rencontrées mais aussi du coût de traitement. Dans une étude (59), le plus faible coût de traitement est associé aux dérivés antimoniés et le plus onéreux est l'amphotéricine sous forme liposomale, mais ceci ne tient pas compte de la résistance aux antimoniés. Dans les régions où le taux de guérison par les antimoniés est supérieur à 94 %, les antimoniés génériques doivent être utilisés. L'autre étude, réalisée en Inde, confirme le faible coût d'utilisation de la miltefosine et le coût plus élevé des antimoniés et de l'amphotéricine B dans les régions de résistances aux antimoniés (Tableau III) (115). Ceci s'explique par les échecs thérapeutiques et les durées de traitement plus longues dues aux rechutes.

Enfin, ces résultats financiers doivent être modérés par l'approche épidémiologique. La miltefosine, qui apparaît idéale, est une molécule d'administration orale facilitant les prises irrégulières, en ambulatoire et favorisant l'apparition de résistances.

Tableau III - Comparaison du coût, de l'efficacité et du rapport coût/efficacité (115).

Stratégies	Coût US \$	Efficacité Décès évités pour 1000 patients	Coût/Efficacité US \$/ Décès évités
Antimoniés	120,1	332	362,2
Miltefosine	111,1	339	327,9
Amphotéricine B désoxycholate	159,7	349	457
Ambisome®	537,5	331	1621,8

## Lutte contre l'apparition de résistances

L'apparition de résistances dans une population donnée dépend de la facilité avec laquelle un parasite devient résistant à une molécule et du potentiel de diffusion de cette résistance dans la population.

L'apparition de résistance à une molécule est liée directement à la thérapeutique employée et les facteurs majeurs sont représentés par le « volume » de molécule utilisée, la probabilité de développer une résistance après un traitement, la durée d'infection chez l'hôte et les mécanismes de défense de l'hôte (50). Sachant que la leishmaniose viscérale sévit à 90 % dans des foyers anthroponotiques, chez des populations pauvres, que les molécules utilisées sont pour la plupart anciennes, on comprend aisément que les résistances apparaissent dans ces foyers et qu'une politique de santé publique optimale doit être instaurée.

Une stratégie de lutte contre l'apparition de résistance doit associer :

- la surveillance des résistances en circulation en s'appuyant sur la collecte d'isolats et sur leurs analyses phénotypiques et moléculaires ;

- la surveillance des thérapeutiques utilisées. Elle est essentielle et repose sur une stratégie de type « Directly Observed Therapy » (DOT) comme celle préconisée pour la tuberculose. ;

- le contrôle du coût et de l'accès aux molécules. Action primordiale dans les zones endémiques. En Inde, l'inefficacité croissante des dérivés antimoniés, favorise l'utilisation inappropriée de la miltefosine dans le secteur privé. En 2005, une équipe indienne (102) a proposé que cette molécule ne soit plus en vente dans le secteur privé, et qu'elle devienne disponible gratuitement pour les structures de soins comme c'est le cas depuis de nombreuses années pour l'ivermectine dans le traitement de l'onchocercose en Afrique. Cette stratégie d'utilisation dans les pays pauvres permet de prolonger la durée d'utilisation des molécules efficaces ;

- l'utilisation de tests diagnostiques de terrain permettant de surveiller la réponse clinique ;

- les associations thérapeutiques. Elles sont essentielles dans les traitements anti-infectieux en permettant d'accroître l'efficacité par des effets synergiques ou additifs, de prévenir l'apparition de résistances (ex : apparition de résistances sous monothérapie par rifampicine dans la tuberculose), de diminuer les doses et ainsi réduire les effets indésirables et permettent d'élargir le spectre d'action. Des associations comme celle de l'allopurinol et stibogluconate de sodium (116), ou de la paromomycine et du stibogluconate de sodium (78, 82, 86) ont déjà été testées avec succès. BRYESON (101) a proposé d'utiliser un anti-leishmanien majeur avec une molécule de deuxième ligne comme c'est le cas pour le paludisme en Asie du Sud-est où la quinine est associée à la doxycycline ;

- la recherche de nouvelles molécules. Le but est de permettre aux cliniciens de disposer d'un arsenal thérapeutique varié. Le co-développement de la miltefosine par les

secteurs privé (Zentaris) et public (OMS/TDR), de la paromomycine par l'OMS/TDR, le DNDi et la fondation Gates sont des exemples à suivre. Les pays les plus touchés sont également les plus démunis dans le domaine de la recherche pharmaceutique.

---

## CONCLUSION

---

Un traitement médical efficace est le meilleur moyen pour lutter contre la leishmaniose viscérale !

Cette affirmation est exacte pour la leishmaniose zoonotique où le réservoir est animal parce que les moyens diagnostiques et thérapeutiques sont présents et parce que les résistances au traitement sont peu décrites.

Cependant, pour lutter contre la leishmaniose anthroponotique, l'approche « médicamenteuse » seule n'est pas suffisante. Cette pathologie est un véritable problème de santé publique au même titre que le VIH, la tuberculose ou le paludisme. Il existe en effet un risque permanent de résurgence et d'extension de cette parasitose. Une lutte efficace doit associer une politique de prévention et une politique de traitement complémentaire. Les systèmes d'éducation sanitaire et de surveillance épidémiologique sont primordiaux pour limiter l'expansion et réaliser un état des lieux.

La prévention de la transmission s'effectue en luttant de manière active sur le vecteur, afin de diminuer le contact humain-vecteur et en agissant sur le réservoir de parasites.

Depuis 2005, l'Inde, le Népal et le Bangladesh réalisent des traitements de masse pour diminuer le portage dans les régions hyperendémiques.

La protection active par vaccination n'est pas disponible à l'heure actuelle. Les leishmanies comme les plasmodies sont des parasites pour lesquels une vaccination demeure très difficile à mettre au point.

La politique de traitement quant à elle, doit débiter par un dépistage précoce des cas dans les régions fortement touchées. Ce dépistage n'est possible qu'avec des méthodes de terrain fiables permettant un diagnostic rapide. Le traitement doit reposer sur des politiques internationale et nationale du médicament permettant l'élaboration de protocoles et la mise sur le marché de molécules peu onéreuses reconnues d'utilité publique. A l'heure actuelle, il n'existe pas de politiques contraignantes permettant de développer une molécule à bas prix et d'instaurer un protocole standard. Seules l'OMS et certaines organisations non gouvernementales comme le DNDi, IOWH ou la fondation Bill et Melinda Gates et quelques laboratoires privés contribuent à développer de nouvelles molécules et à les mettre rapidement sur le marché en coopération avec les états les plus touchés (117). Les objectifs de cette démarche visant à transformer rapidement les résultats de la recherche en outils thérapeutiques et à contrôler la production et la prescription médicamenteuses sont de pouvoir traiter à bas prix, voire gratuitement, les patients avec des molécules efficaces, peu toxiques et de juguler l'apparition de résistances.

**RÉFÉRENCES**

- 1 - MARTY P, Del GIUDICE P, DESJEUX P - Leishmanioses : aspects épidémiologique, clinique et biologique. *Feuillets de Biologie* 2002 ; **43** : 31-8.
- 2 - DESJEUX P - Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004 ; **27** : 305-18.
- 3 - KAFETZIS DA - An overview of paediatric leishmaniasis. *J Postgrad Med* 2003 ; **49** : 31-9.
- 4 - ALVAR J, CANAVATE C, GUTIERREZ-SOLAR B *et al.* - *Leishmania* and human immunodeficiency virus coinfection: The first 10 years. *Clin Microbiol Rev* 1997 ; **10** : 298-319.
- 5 - HARRAT Z, BERROUANE Y, BEN ABDESSLAM S *et al.* - Visceral leishmaniasis in Algeria. Evolution of visceral leishmaniasis in the Grande Kabylie area (1985-1990). *Arch Inst Pasteur Alger* 1992 ; **58** : 255-72.
- 6 - HARRAT Z, ADDADI K, BELKAID M, Tabet-DERRAZ O - La leishmaniose viscérale en Algérie. Recensement des cas de leishmaniose viscérale (1985-1990). *Bull Soc Pathol Exot* 1992 ; **85** : 296-301.
- 7 - LEGER N, DEPAQUIT J - In « Les phlébotomes ». Paris, 1999.
- 8 - ROBERTS L, HANDMAN E, FOOTE S - Leishmaniasis. *BMJ* 2000 ; **321** : 801-4.
- 9 - Mc MAHON-PRATT D, ALEXANDER J - Does the *Leishmania major* paradigm of pathogenesis and protection hold for New World cutaneous leishmaniasis or the visceral disease? *Immunol Rev* 2004 ; **201** : 206-24.
- 10 - SACKS D, SHER A - Evasion of innate immunity by parasitic protozoa. *Nat Immunol* 2002 ; **3** : 1041-7.
- 11 - ENGWERDA CR, ATO M, KAYE PM - Macrophages, pathology and parasite persistence in experimental visceral leishmaniasis. *Trends Parasitol* 2004 ; **20** : 5424-30.
- 12 - YAMEY G, TORREELE E - The world's most neglected diseases. *BMJ* 2002 ; **325** : 176-7.
- 13 - BUATES S, MATLASHEWSKI G - General suppression of macrophage gene expression during *Leishmania donovani* infection. *J Immunol* 2001 ; **166** : 3416-22.
- 14 - RODRIGUEZ NE, CHANG HK, WILSON ME - Novel program of macrophage gene expression induced by phagocytosis of *Leishmania chagasi*. *Infect Immun* 2004 ; **72** : 2111-22.
- 15 - BERTHOLET S, DICKENSHEETS HL, SHEIKH F *et al.* - *Leishmania donovani*-induced expression of suppressor of cytokine signaling 3 in human macrophages: A novel mechanism for intracellular parasite suppression of activation. *Infect Immun* 2003 ; **71** : 2095-101.
- 16 - BRANDONISIO O, SPINELLI R, PEPE M - Dendritic cells in *Leishmania* infection. *Microbes Infect* 2004 ; **6** : 1402-9.
- 17 - GUIGUEMDE RT, SAWADOGO OS, BORIES C *et al.* - *Leishmania major* and HIV co-infection in Burkina Faso. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003 ; **97** : 168-9.
- 18 - BADARO R, JONES TC, LORENCO R *et al.* - A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. *J Infect Dis* 1986 ; **154** : 639-49.
- 19 - HO M, SIONGOK TK, LYERLY WH, SMITH DH - Prevalence and disease spectrum in a new focus of visceral leishmaniasis in Kenya. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1982 ; **76** : 741-6.
- 20 - ROSENTHAL E, MARTY P - Les leishmanioses viscérales. *La revue du praticien* 2004 ; **54** : 2211-5.
- 21 - Le FICHOUX Y, MARY C, MARTY P, KUBAR J - Diagnostic des leishmanioses. In «Dedet JP - Les leishmanioses». Ellipses ed, Paris, 1999.
- 22 - DEDET JP - Leishmanies, leishmanioses. Biologie, clinique et thérapeutique. *Encycl Med Chir, Maladies infectieuses*. Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, 2001. 8-506-A-10.
- 23 - de BAYSER L, ROBLOT P, RAMASSAMY A *et al.* - Hepatic fibrin-ring granulomas in giant cell arteritis. *Gastroenterology* 1993 ; **105** : 272-3.
- 24 - GUERIN PJ, OLLIARO P, SUNDAR S *et al.* - Visceral leishmaniasis: Current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *Lancet Infect Dis* 2002 ; **2** : 494-501.
- 25 - SUNDAR S, SAHU M, MEHTA H *et al.* - Noninvasive management of Indian visceral leishmaniasis: Clinical application of diagnosis by K39 antigen strip testing at a kala-azar referral unit. *Clin Infect Dis* 2002 ; **35** : 581-6.
- 26 - DAVIDSON RN - Practical guide for the treatment of leishmaniasis. *Drugs* 1998 ; **56** : 1009-18.
- 27 - SUNDAR S, BENJAMIN B - Diagnosis and treatment of Indian visceral leishmaniasis. *J Assoc Physicians India* 2003 ; **51** : 195-201.
- 28 - ZIJLSTRA EE, EL-HASSAN AM - Leishmaniasis in Sudan. Visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001 ; **95 Suppl 1** : 27-58.
- 29 - PAGLIANO P, ROSSI M, RESCIGNO C *et al.* - Mediterranean visceral leishmaniasis in HIV-negative adults: A retrospective analysis of 64 consecutive cases (1995-2001). *J Antimicrob Chemother* 2003 ; **52** : 264-8.
- 30 - LACHAUD L, DEREURE J, CHABBERT E *et al.* - Optimized PCR using patient blood samples for diagnosis and follow-up of visceral leishmaniasis, with special reference to AIDS patients. *J Clin Microbiol* 2000 ; **38** : 236-40.
- 31 - VEEKEN H, RITMEIJER K, SEAMAN J, DAVIDSON R - Comparison of an rK39 dipstick rapid test with direct agglutination test and splenic aspiration for the diagnosis of kala-azar in Sudan. *Trop Med Int Health* 2003 ; **8** : 164-7.
- 32 - BOELAERT M, RIJAL S, REGMI S *et al.* - A comparative study of the effectiveness of diagnostic tests for visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2004 ; **70** : 72-7.
- 33 - MINODIER P, NOEL G, BLANC P *et al.* - Management of cutaneous leishmaniasis in adults and children). *Med Trop* 2005 ; **65** : 487-95.
- 34 - WEISINGER JR, PINTO A, VELAZQUEZ GA *et al.* - Clinical and histological kidney involvement in human kala-azar. *Am J Trop Med Hyg* 1978 ; **27** : 357-9.
- 35 - BOELAERT M, LYNEN L, DESJEUX P, VAN der STUYFT P - Cost-effectiveness of competing diagnostic-therapeutic strategies for visceral leishmaniasis. *Bull World Health Organ* 1999 ; **77** : 667-74.
- 36 - MURRAY HW - Treatment of visceral leishmaniasis in 2004. *Am J Trop Med Hyg* 2004 ; **71** : 787-94.
- 37 - BERMAN JD, WADDELL D, HANSON BD - Biochemical mechanisms of the antileishmanial activity of sodium stibogluconate. *Antimicrob Agents Chemother* 1985 ; **27** : 916-20.
- 38 - BERMAN JD, GALLALEE JV, BEST JM - Sodium stibogluconate (Pentostam) inhibition of glucose catabolism via the glycolytic pathway, and fatty acid beta-oxidation in *Leishmania mexicana* amastigotes. *Biochem Pharmacol* 1987 ; **36** : 197-201.
- 39 - SERENO D, HOLZMULLER P, MANGOT I *et al.* - Antimonial-mediated DNA fragmentation in *Leishmania infantum* amastigotes. *Antimicrob Agents Chemother* 2001 ; **45** : 2064-9.
- 40 - SUDHANDIRAN G, SHAHA C - Antimonial-induced increase in intracellular Ca<sup>2+</sup> through non-selective cation channels in the host and the parasite is responsible for apoptosis of intracellular *Leishmania donovani* amastigotes. *J Biol Chem* 2003 ; **278** : 25120-32.
- 41 - SUNDAR S - Drug resistance in Indian visceral leishmaniasis. *Trop Med Int Health* 2001 ; **6** : 849-854.
- 42 - SUNDAR S, MORE DK, SINGH MK *et al.* - Failure of pentavalent antimony in visceral leishmaniasis in India: Report from the center of the Indian epidemic. *Clin Infect Dis* 2000 ; **31** : 1104-7.
- 43 - OLLIARO PL, GUERIN PJ, GERSTL S *et al.* - Treatment options for visceral leishmaniasis: A systematic review of clinical studies done in India, 1980-2004. *Lancet Infect Dis* 2005 ; **5** : 763-74.
- 44 - PETERS W - The treatment of kala-azar-new approaches to an old problem. *Indian J Med Res* 1981 ; **73 Suppl** : 1-18.
- 45 - SUNDAR S, MEHTA H, SURESH AV *et al.* - Amphotericin B treatment for Indian visceral leishmaniasis: Conventional versus lipid formulations. *Clin Infect Dis* 2004 ; **38** : 377-83.
- 46 - THAKUR CP, NARAYAN S - A comparative evaluation of amphotericin B and sodium antimony gluconate, as first-line drugs in the treatment of Indian visceral leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol* 2004 ; **98** : 129-38.

- 47 - LIRA R, SUNDAR S, MAKHARIA A *et al.* - Evidence that the high incidence of treatment failures in Indian kala-azar is due to the emergence of antimony-resistant strains of *Leishmania donovani*. *J Infect Dis* 1999 ; **180** : 564-7.
- 48 - ROJAS R, VALDERRAMA L, VALDERRAMA M *et al.* - Resistance to antimony and treatment failure in human *Leishmania* (Viannia) infection. *J Infect Dis* 2006 ; **193** : 1375-83.
- 49 - LAURENT T, RIJAL S, YARDLEY V *et al.* - Epidemiological dynamics of antimonial resistance in *Leishmania donovani*: Genotyping reveals a polyclonal population structure among naturally-resistant clinical isolates from Nepal. *Infect Genet Evol* 2007 ; **7** : 206-12.
- 50 - CROFT SL, SUNDAR S, FAIRLAMB AH - Drug resistance in leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev* 2006 ; **19** : 111-26.
- 51 - ASHUTOSH, SUNDAR S, GOYAL N - Molecular mechanisms of antimony resistance in *Leishmania*. *J Med Microbiol* 2007 ; **56** : 143-53.
- 52 - DECUYPERE S, RIJAL S, YARDLEY V *et al.* - Gene expression analysis of the mechanism of natural Sb(V) resistance in *Leishmania donovani* isolates from Nepal. *Antimicrob Agents Chemother* 2005 ; **49** : 4616-21.
- 53 - MARQUIS N, GOUBAL B, ROSEN BP *et al.* - Modulation in aquaglyceroporin AQP1 gene transcript levels in drug-resistant *Leishmania*. *Mol Microbiol* 2005 ; **57** : 1690-9.
- 54 - SINGH N. Drug resistance mechanisms in clinical isolates of *Leishmania donovani*. *Indian J Med Res* 2006 ; **123** : 411-22.
- 55 - KOTHARI H, KUMAR P, SUNDAR S, SINGH N - Possibility of membrane modification as a mechanism of antimony resistance in *Leishmania donovani*. *Parasitol Int* 2006 Dec 11.
- 56 - SINGH N, SINGH RT, SUNDAR S - Novel mechanism of drug resistance in kala azar field isolates. *J Infect Dis* 2003 ; **188** : 600-7.
- 57 - SUNDAR S, PAI K, KUMAR R *et al.* - Resistance to treatment in Kala-azar: Speciation of isolates from northeast India. *Am J Trop Med Hyg* 2001 ; **65** : 193-6.
- 58 - SUNDAR S, THAKUR BB, TANDON AK *et al.* - Clinicoepidemiological study of drug resistance in Indian kala-azar. *BMJ* 1994 ; **308** : 307.
- 59 - ALVAR J, CROFT S, OLLIARO P - Chemotherapy in the treatment and control of leishmaniasis. *Adv Parasitol* 2006 ; **61** : 223-74.
- 60 - SINGH RK, PANDEY HP, SUNDAR S - Visceral leishmaniasis (kala-azar): Challenges ahead. *Indian J Med Res* 2006 ; **123** : 331-44.
- 61 - BERMAN JD, GOAD LJ, BEACH DH, HOLZ GG, Jr - Effects of ketoconazole on sterol biosynthesis by *mexicana Leishmania mexicana* amastigotes in murine macrophage tumor cells. *Mol Biochem Parasitol* 1986 ; **20** : 85-92.
- 62 - CROFT SL, YARDLEY V - Chemotherapy of leishmaniasis. *Curr Pharm Des* 2002 ; **8** : 319-42.
- 63 - BERMAN JD, BADARO R, THAKUR CP *et al.* - Efficacy and safety of liposomal amphotericin B (AmBisome) for visceral leishmaniasis in endemic developing countries. *Bull World Health Organ* 1998 ; **76** : 25-32.
- 64 - BODHE PV, KOTWANI RN, KIRODIAN BG *et al.* - Dose-ranging studies on liposomal amphotericin B (L-AMP-LRC-1) in the treatment of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999 ; **93** : 314-8.
- 65 - MEYERHOFF A - U.S. Food and Drug Administration approval of AmBisome (liposomal amphotericin B) for treatment of visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 1999 ; **28** : 42-8 ; discussion 9-51.
- 66 - SUNDAR S, AGRAWAL G, RAI M *et al.* - Treatment of Indian visceral leishmaniasis with single or daily infusions of low dose liposomal amphotericin B: Randomised trial. *BMJ* 2001 ; **323** : 419-22.
- 67 - SUNDAR S, JHA TK, THAKUR CP *et al.* - Low-dose liposomal amphotericin B in refractory Indian visceral leishmaniasis: A multicenter study. *Am J Trop Med Hyg* 2002 ; **66** : 143-6.
- 68 - SUNDAR S, JHA TK, THAKUR CP *et al.* - Single-dose liposomal amphotericin B in the treatment of visceral leishmaniasis in India: A multicenter study. *Clin Infect Dis* 2003 ; **37** : 800-4.
- 69 - MUELLER M, RITMEIJER K, BALASEGARAM M *et al.* - Unresponsiveness to AmBisome in some Sudanese patients with kala-azar. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007 ; **101** : 19-24.
- 70 - SUNDAR S, MEHTA H, CHHABRA A *et al.* - Amphotericin B colloidal dispersion for the treatment of Indian visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 2006 ; **42** : 608-613.
- 71 - SUNDAR S, CHATTERJEE M. Visceral leishmaniasis - current therapeutic modalities. *Indian J Med Res* 2006 ; **123** : 345-52.
- 72 - MBONGO N, LOISEAU PM, BILLION MA, ROBERT-GERO M - Mechanism of amphotericin B resistance in *Leishmania donovani* promastigotes. *Antimicrob Agents Chemother* 1998 ; **42** : 352-357.
- 73 - POURSHAFIE M, MORAND S, VIRION A *et al.* - Cloning of S-adenosyl-L-methionine: C-24-Delta-sterol-methyltransferase (ERG6) from *Leishmania donovani* and characterization of mRNAs in wild-type and amphotericin B-Resistant promastigotes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 ; **48** : 2409-14.
- 74 - BRAY PG, BARRETT MP, WARD SA, DE KONING HP - Pentamidine uptake and resistance in pathogenic protozoa: Past, present and future. *Trends Parasitol* 2003 ; **19** : 232-9.
- 75 - BASSELIN M, DENISE H, COOMBS GH, BARRETT MP - Resistance to pentamidine in *Leishmania mexicana* involves exclusion of the drug from the mitochondrion. *Antimicrob Agents Chemother* 2002 ; **46** : 3731-8.
- 76 - COELHO AC, BEVERLEY SM, COTRIM PC - Functional genetic identification of PRP1, an ABC transporter superfamily member conferring pentamidine resistance in *Leishmania major*. *Mol Biochem Parasitol* 2003 ; **130** : 83-90.
- 77 - MAAROUF M, LAWRENCE F, CROFT SL, ROBERT-GERO M - Ribosomes of *Leishmania* are a target for the aminoglycosides. *Parasitol Res* 1995 ; **81** : 421-5.
- 78 - CHUNGE CN, OWATE J, PAMBA HO, DONNO L - Treatment of visceral leishmaniasis in Kenya by aminosidine alone or combined with sodium stibogluconate. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1990 ; **84** : 221-5.
- 79 - SUNDAR S, JHA TK, THAKUR CP *et al.* - Injectable paromomycin for visceral leishmaniasis in India. *N Engl J Med* 2007 ; **356** : 2571-81.
- 80 - THAKUR CP, OLLIARO P, GOTHOSKAR S *et al.* - Treatment of visceral leishmaniasis (kala-azar) with aminosidine (= paromomycin)-antimonial combinations, a pilot study in Bihar, India. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992 ; **86** : 615-6.
- 81 - JHA TK, OLLIARO P, THAKUR CP *et al.* - Randomised controlled trial of aminosidine (paromomycin) v sodium stibogluconate for treating visceral leishmaniasis in North Bihar, India. *BMJ* 1998 ; **316** : 1200-5.
- 82 - THAKUR CP, KANYOK TP, PANDEY AK *et al.* - Treatment of visceral leishmaniasis with injectable paromomycin (aminosidine). An open-label randomized phase-II clinical study. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000 ; **94** : 432-3.
- 83 - SEAMAN J, PRYCE D, SONDRUP HE *et al.* - Epidemic visceral leishmaniasis in Sudan: A randomized trial of aminosidine plus sodium stibogluconate versus sodium stibogluconate alone. *J Infect Dis* 1993 ; **168** : 715-20.
- 84 - THAKUR CP, KANYOK TP, PANDEY AK *et al.* - A prospective randomized, comparative, open-label trial of the safety and efficacy of paromomycin (aminosidine) plus sodium stibogluconate versus sodium stibogluconate alone for the treatment of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000 ; **94** : 429-31.
- 85 - TEKLEMARIAM S, HIWOT AG, FROMMEL D *et al.* - Aminosidine and its combination with sodium stibogluconate in the treatment of diffuse cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania aethiopsica*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994 ; **88** : 334-9.
- 86 - NEAL RA, ALLEN S, Mc COY N *et al.* - The sensitivity of *Leishmania* species to aminosidine. *J Antimicrob Chemother* 1995 ; **35** : 577-84.
- 87 - MAAROUF M, de KOUCHKOVSKY Y, BROWN S *et al.* - In vivo interference of paromomycin with mitochondrial activity of *Leishmania*. *Exp Cell Res* 1997 ; **232** : 339-48.
- 88 - MAAROUF M, ADELIN MT, SOLIGNAC M *et al.* - Development and characterization of paromomycin-resistant *Leishmania donovani* promastigotes. *Parasite* 1998 ; **5** : 167-73.
- 89 - SEIFERT K, MATU S, JAVIER PEREZ-VICTORIA F *et al.* - Characterisation of *Leishmania donovani* promastigotes resistant to hexadecylphosphocholine (miltefosine). *Int J Antimicrob Agents* 2003 ; **22** : 380-7.

- 90 - CROFT SL, ENGEL J - Miltefosine - Discovery of the antileishmanial activity of phospholipid derivatives. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006; **100 Suppl 1** : S4-8.
- 91 - SUNDAR S, JHA TK, THAKUR CP *et al.* - Oral miltefosine for the treatment of Indian visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006; **100 Suppl 1** : S26-33.
- 92 - SUNDAR S, JHA TK, THAKUR CP *et al.* - Oral miltefosine for Indian visceral leishmaniasis. *N Engl J Med* 2002; **347** : 1739-46.
- 93 - SUNDAR S, JHA TK, SINDERMANN H *et al.* - Oral miltefosine treatment in children with mild to moderate Indian visceral leishmaniasis. *Pediatr Infect Dis J* 2003; **22** : 434-8.
- 94 - BHATTACHARYA SK, JHA TK, SUNDAR S *et al.* - Efficacy and tolerability of miltefosine for childhood visceral leishmaniasis in India. *Clin Infect Dis* 2004; **38** : 217-21.
- 95 - SINDERMANN H, ENGEL KR, FISCHER C, BOMMER W - Oral miltefosine for leishmaniasis in immunocompromised patients: Compassionate use in 39 patients with HIV infection. *Clin Infect Dis* 2004; **39** : 1520-3.
- 96 - SUNDAR S, ROSENKAIMER F, MAKHARIA MK *et al.* - Trial of oral miltefosine for visceral leishmaniasis. *Lancet* 1998; **352** : 1821-3.
- 97 - De VRIES PJ, VAN der MEIDE WF, GODFRIED MH *et al.* - Quantification of the response to miltefosine treatment for visceral leishmaniasis by QT-NASBA. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006; **100** : 1183-6.
- 98 - SUNDAR S, MAKHARIA A, MORE DK *et al.* - Short-course of oral miltefosine for treatment of visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 2000; **31** : 1110-3.
- 99 - SINGH UK, PRASAD R, KUMAR R, JAISWAL BP - Miltefosine in children with visceral leishmaniasis. *Indian Pediatr* 2006; **43** : 1076-80.
- 100 - SINDERMANN H, ENGEL J - Development of miltefosine as an oral treatment for leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006; **100 Suppl 1** : S17-20.
- 101 - BRYCESON A - A policy for leishmaniasis with respect to the prevention and control of drug resistance. *Trop Med Int Health* 2001; **6** : 928-34.
- 102 - SUNDAR S, MURRAY HW - Availability of miltefosine for the treatment of kala-azar in India. *Bull World Health Organ* 2005; **83** : 394-5.
- 103 - PEREZ-VICTORIA FJ, SANCHEZ-CANETE MP, SEIFERT K *et al.* - Mechanisms of experimental resistance of *Leishmania* to miltefosine: Implications for clinical use. *Drug Resist Updat* 2006; **9** : 26-39.
- 104 - PEREZ-VICTORIA FJ, CASTANYS S, GAMARRO F - *Leishmania donovani* resistance to miltefosine involves a defective inward translocation of the drug. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47** : 2397-403.
- 105 - PEREZ-VICTORIA FJ, GAMARRO F, OUELLETTE M, CASTANYS S - Functional cloning of the miltefosine transporter. A novel P-type phospholipid translocase from *Leishmania* involved in drug resistance. *J Biol Chem* 2003; **278** : 49965-71.
- 106 - BJORKMAN J, NAGAEV I, BERG OG *et al.* - Effects of environment on compensatory mutations to ameliorate costs of antibiotic resistance. *Science* 2000; **287** : 1479-82.
- 107 - BERMAN JD - Activity of imidazoles against *Leishmania tropica* in human macrophage cultures. *Am J Trop Med Hyg* 1981; **30** : 566-9.
- 108 - NAVIN TR, ARANA BA, ARANA FE *et al.* - Placebo-controlled clinical trial of sodium stibogluconate (Pentostam) versus ketoconazole for treating cutaneous leishmaniasis in Guatemala. *J Infect Dis* 1992; **165** : 528-34.
- 109 - BUCKNER FS, WILSON AJ, WHITE TC, VAN VOORHIS WC - Induction of resistance to azole drugs in *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; **42** : 3245-50.
- 110 - NEAL RA, CROFT SL - An *in vitro* system for determining the activity of compounds against the intracellular amastigote form of *Leishmania donovani*. *J Antimicrob Chemother* 1984; **14** : 463-75.
- 111 - BERMAN JD, LEE LS - Activity of 8-aminoquinolines against *Leishmania tropica* within human macrophages *in vitro*. *Am J Trop Med Hyg* 1983; **32** : 753-9.
- 112 - SHERWOOD JA, GACHIHI GS, MUIGAI RK *et al.* - Phase 2 efficacy trial of an oral 8-aminoquinoline (WR6026) for treatment of visceral leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 1994; **19** : 1034-9.
- 113 - DIETZE R, CARVALHO SF, VALLI LC *et al.* - Phase 2 trial of WR6026, an orally administered 8-aminoquinoline, in the treatment of visceral leishmaniasis caused by *Leishmania chagasi*. *Am J Trop Med Hyg* 2001; **65** : 685-9.
- 114 - WASUNNA MK, RASHID JR, MBUI J *et al.* - A phase II dose-increasing study of sitamaquine for the treatment of visceral leishmaniasis in Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 2005; **73** : 871-6.
- 115 - VANLERBERGHE V, DIAP G, GUERIN PJ *et al.* - Drug policy for visceral leishmaniasis: A cost-effectiveness analysis. *Trop Med Int Health* 2007; **12** : 274-83.
- 116 - CHUNGE CN, GACHIHI G, MUIGAI R *et al.* - Visceral leishmaniasis unresponsive to antimonial drugs. III. Successful treatment using a combination of sodium stibogluconate plus allopurinol. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985; **79** : 715-8.
- 117 - GUTTERIDGE WE - TDR collaboration with the pharmaceutical industry. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2006; **100 Suppl 1** : S21-5.
- 118 - GRIEKSPoor A, SONDRP E, VOS T - Cost-effectiveness analysis of humanitarian relief interventions: Visceral leishmaniasis treatment in the Sudan. *Health Policy Plan* 1999; **14** : 70-6.
- 119 - VEEKEN H, RITMEIJER K, SEAMAN J, DAVIDSON R - A randomized comparison of branded sodium stibogluconate and generic sodium stibogluconate for the treatment of visceral leishmaniasis under field conditions in Sudan. *Trop Med Int Health* 2000; **5** : 312-7.
- 120 - RITMEIJER K, VEEKEN H, MELAKU Y *et al.* - Ethiopian visceral leishmaniasis: Generic and proprietary sodium stibogluconate are equivalent; HIV co-infected patients have a poor outcome. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001; **95** : 668-72.
- 121 - MURRAY HW - Clinical and experimental advances in treatment of visceral leishmaniasis. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45** : 2185-97.
- 122 - MURRAY HW - Treatment of visceral leishmaniasis (kala-azar): A decade of progress and future approaches. *Int J Infect Dis* 2000; **4** : 1158-77.
- 123 - SUNDAR S, RAI M - Advances in the treatment of leishmaniasis. *Curr Opin Infect Dis* 2002; **15** : 593-8.
- 124 - THAKUR CP, SINGH UK, HASSAN SM *et al.* - Amphotericin B deoxycholate treatment of visceral leishmaniasis with newer modes of administration and precautions: A study of 938 cases. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999; **93** : 319-23.
- 125 - SUNDAR S - Treatment of visceral leishmaniasis. *Med Microbiol Immunol* 2001; **190** : 89-92.
- 126 - SUNDAR S, AGRAWAL NK, SINHA PR *et al.* - Short-course, low-dose amphotericin B lipid complex therapy for visceral leishmaniasis unresponsive to antimony. *Ann Intern Med* 1997; **127** : 133-7.
- 127 - SUNDAR S, GUPTA LB, RASTOGI V *et al.* - Short-course, cost-effective treatment with amphotericin B-fat emulsion cures visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000; **94** : 200-4.
- 128 - SUNDAR S - Liposomal amphotericin B. *Lancet* 2001; **357** : 801-2.
- 129 - SUNDAR S, GOYAL AK, MORE DK *et al.* - Treatment of antimony-unresponsive Indian visceral leishmaniasis with ultra-short courses of amphotericin-B-lipid complex. *Ann Trop Med Parasitol* 1998; **92** : 755-64.
- 130 - SINGH UK, PRASAD R, MISHRA OP, JAISWAL BP - Miltefosine in children with visceral leishmaniasis: A prospective, multicentric, cross-sectional study. *Indian J Pediatr* 2006; **73** : 1077-80.
- 131 - BHATTACHARYA SK, SUR D, KARBWANG J - Childhood visceral leishmaniasis. *Indian J Med Res* 2006; **123** : 353-6.