

N° d'ordre : 3443

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche: Biotechnologie Végétale et microbienne, Biodiversité et Environnement(BioBio)
Structure de Recherche: Laboratoire de Biodiversité Écologie et Génome
Discipline: Biologie
Spécialité: Épidémiologie et Biotechnologie

Présentée et soutenue le : 13/03/2021 par :

Mohamed Mahmoud Ould Mohamed EL ALEM

Le titre de la thèse
Étude épidémiologique et moléculaire de la leishmaniose cutanée dans les régions de Souss-Massa et Drâa-Tafilalet

JURY

Zoubida TAGHY	PES, Faculté des sciences, Université Mohammed V - Rabat	Président
Abderrahim SADAK	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V - Rabat	Directeur de Thèse
Faiza SEBTI	Dr, Institut National D'hygiène- Rabat	Co-encadrant
Bouabid BADAoui	PH, Faculté des Sciences, Université Mohammed V - Rabat	Rapporteur/ Examineur
Hocein BAZAIRI	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V - Rabat	Rapporteur/ Examineur
Khalid HABBARI	PES, Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane - Béni Mellal	Rapporteur/ Examineur
Badre Eddine LMIMOUNI	PES, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V – Rabat	Examineur

Année Universitaire : 2019/2020

Dédicaces

*À mes grand-mères : **TOUFEILLA Mint Jmeil** et **Maryam Mint KAHTRY** pour tout l'amour que vous m'avez accordé, ceci est un témoignage de mes sincères reconnaissances.*

*À mes grand pères : **Med Mahmoud KHATRY** et **Taleb EL ALEM***

Pour qui les mots ne sauraient pas exprimer la reconnaissance et la gratitude pour les nombreux sacrifices et les efforts de grande haleine consentis pour mon éducation et pour l'amour que vous m'avez toujours porté. Que Dieux, le Tout Puissant, vous protège et vous donne longue vie,

*À Toi l'Etoile qui brillera éternellement dans mon cœur, ma mère : **Aminetou Mint KHATRY**, source de tendresse et d'amour pour tes soutiens tout le long de ma vie scolaire. A mon père, **Mohamed EL ALEM**, Ceci est un modeste témoignage de mon affection, mon amour et surtout ma gratitude pour tout ce que tu m'as appris.*

*À mes très chères Sœurs **Lalla** et **Mata** : en reconnaissance de votre amour, soutien moral et matériel, et encouragement. Recevez par ce travail l'expression de mon profond amour.*

*À mes Sœurs **Zahra veten** et **Hafsa veten**: Avec mes vœux de réussite et prospérité, je serai toujours présent pour vous soutenir.*

*À Mes Frères : **Bamba, Sidi, Abdallahi** et **Mohamed veten** c'est avec un immense plaisir que je vous dédie ce modeste travail en témoignage de notre amour fraternel.*

*À ma chère tante : **Mata Hourma** et mon cher oncle **Moustapha Hourma** je ne trouve pas les mots pour vous exprimer ma gratitude mais je vous dis tout simplement Merci d'avoir été toujours là pour le pire et pour le meilleur.*

*À mes chers **Maryam HAKKOUR**, **Asmae HMAMOUCHE**, **Bouchra EL MANSOURI**: Pour tous les moments que nous avons partagé durant ces années. Merci pour votre amitié qui m'a énormément aidé pour continuer.*

À mes amis du département de parasitologie: Je vous souhaite tous le bonheur et la réussite du monde.

Et À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, veuillez trouver ici l'expression de mon dévouement et de ma reconnaissance.

REMERCIEMENT

Le travail de recherche présenté dans cette thèse a été effectué au Laboratoire de Biodiversité Écologie et Génome de la Faculté des Sciences de Rabat sous la direction de Monsieur le professeur Abderrahim SADAK, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat. Les travaux ont été réalisés en collaboration avec le Laboratoire National de Référence des Leishmanioses (LNRL) relevant de l'INH sous la direction du Docteur SEBTI Faiza.

Qu'il me soit permis, tout d'abord, d'adresser mes vifs remerciements à **Mr Abderrahim SADAK** qui m'a encadré tout au long de cette thèse et qui m'a fait partager ses brillantes intuitions. Qu'il soit aussi remercié pour sa gentillesse, sa disponibilité permanente, son suivi, ses conseils judicieux et ses discussions qui m'ont beaucoup aidé au cours de mes recherches et pour les nombreux encouragements qu'il m'a prodigués.

Qu'il soit assuré de toute mon estime. Je présente mes vifs remerciements à **Mme Faiza SEBTI**, qui me fait l'honneur de me Co-encadrer dans cette thèse, pour l'aide précieuse et la patience dont elle a fait preuve, lors du déroulement de ce travail.

Je tiens à remercier vivement **Mme Zoubida TAGHY**, PES à la Faculté des sciences, Université Mohammed V – Rabat, qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

Je remercie également **Mr Bouabid BADAOU**, PH à la Faculté des sciences, Université Mohammed V – Rabat, qui m'a honoré en acceptant, aimablement de relire cette thèse et d'en être rapporteur/examineur de ma thèse.

Je remercie également **Mr Hocein BAZAIRI**, PES à la Faculté des sciences, Université Mohammed V – Rabat, qui m'a honoré en acceptant, aimablement de relire cette thèse et d'en être rapporteur/examineur de ma thèse.

Je remercie également **Mr Khalid HABBARI**, PES à la Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultan Moulay Slimane - Béni Mellal, qui m'a honoré en acceptant, aimablement de relire cette thèse et d'en être rapporteur/examineur de ma thèse.

Mes remerciements et ma gratitude vont aussi à **Mr Badre Eddine LMIMOUNI**, PES à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V - Rabat qui m'a fait l'honneur de juger mon travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère et profonde reconnaissance.

Je remercie également **Mr RHAJAOUI Mohamed** Directeur de l'Institut National d'Hygiène à Rabat de m'avoir autorisé à effectuer ce travail au sein de cet établissement.

Je remercie également tout le membre du Département de Parasitologie de l'Institut National d'hygiène pour leur sympathie et leur encouragement.

Je remercie profondément ma collègue Mlle **Maryam HAKKOUR** pour son aide précieuse sur toutes les étapes de réalisation de cette thèse au niveau du laboratoire.

Merci à tous les gens qui d'une façon ou d'une autre ont participé à la réalisation de ce travail : merci à toute l'équipe du Laboratoire National de Référence des leishmanioses.

Résumé

L'objectif de la présente étude est de caractériser les agents responsables de la leishmaniose cutanée (LC) et de déterminer les facteurs de risque de contracter cette maladie dans les régions de Souss-Massa et Drâa-Tafilalt, sur la base de la distribution spatiale des cas en fonction des facteurs environnementaux et d'autres facteurs tels que les facteurs socio-économiques et démographiques. Les résultats ont révélé que, parmi l'ensemble des variables introduites dans l'étude, le statut socioéconomique et les précipitations sont les plus forts prédicteurs associés au nombre des cas de LC. L'identification moléculaire de l'agent causal de la LC, par PCR-ITS1-RFLP, a révélé la présence de trois espèces de *Leishmania* (*L. major*, *L. tropica* et *L. infantum*) au niveau de ces régions. Notre étude a permis d'une part l'actualisation des données épidémiologique de la LC au niveau des régions de Souss-Massa et Drâa-Tafilalt et d'autre part, l'actualisation de la répartition des espèces de *Leishmania* au niveau de ces régions, ce qui permettra de mieux orienter les stratégies de lutte contre cette parasitose et de diminuer la prévalence de la leishmaniose cutanée.

Mots clés: Leishmaniose cutanée, *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum*, Régions.

Abstract

The main objectives of this study are to characterize the causative agents of cutaneous leishmaniasis (CL) and to determine the risk factors of contracting this disease in the regions of Souss-Massa and Drâa-Tafilalet, based on the spatial distribution of CL cases related to environmental factors and other factors such as socio-economic and demographic factors. The results showed that among all the variables introduced in the study, socioeconomic status and rainfall are the strongest predictors associated with the number of CL cases. Molecular identification of the causative agent of CL, by PCR-ITS1-RFLP, revealed the presence of three species of *Leishmania* (*L. major*, *L. tropica* and *L. infantum*) in these regions. Our study allowed, on the one hand, the updating of epidemiological data of the LC in the regions of Souss-Massa and Drâa-Tafilalt and on the other hand, the updating of the distribution of *Leishmania* species in these regions, which will make it possible to better orient the strategies control this parasite and to reduce the prevalence of CL.

Keywords: Cutaneous leishmaniasis, *L. tropica*, *L. major*, *L. infantum*, Regions.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو توصيف العوامل المسببة لداء الليشمانيات الجلدي وتحديد عوامل الخطر للإصابة بهذا المرض في منطقتي سوس ماسة ودرعة تافيلالت ، على أساس التوزيع المكاني للحالات حسب العوامل البيئية وعوامل أخرى مثل العوامل الاجتماعية والاقتصادية والديموغرافية. أظهرت النتائج أنه من بين جميع المتغيرات التي تم تقديمها في الدراسة ، فإن الوضع الاجتماعي والاقتصادي وهطول الأمطار هما أقوى المتنبئين المرتبطين بعدد حالات الليشمانا الجلدية . كشف التحديد الجزيئي للعامل المسبب لـ الليشمانا الجلدية بواسطة هذه التقنية المستخدمة في الدراسة عن وجود ثلاثة أنواع من الليشمانيات (الليشمانيا المدارية، ليشمانيا ماجور، وليشمانيا انفونطوم) في هذه المناطق. أتاحت دراستنا ، من ناحية ، تحديث البيانات الوبائية حول الليشمانا الجلدية في منطقتي سوس ماسة ودرعة تافيلالت ، ومن ناحية أخرى ، تحديث توزيع أنواع الليشمانيا في هذه المناطق. والذي قد يمكن من توجيه استراتيجيات مكافحة هذا الطفيلي بشكل أفضل وتقليل انتشاره.

الكلمات الدالة: الليشمانيا الجلدية، الليشمانيا المدارية، ليشمانيا ماجور، ليشمانيا انفونطوم، منطقة

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Taxonomie des leishmanies	9
Figure 2 :	Forme amastigote visible sur un frottis cutané	10
Figure 3 :	Forme promastigote de <i>Leishmania</i>	11
Figure 4 :	Phlebotomus papatasi femelle.....	13
Figure 5 :	Cycle de vie du phlébotome.....	14
Figure 6 :	Cycle de transmission des leishmanioses	21
Figure 7 :	Répartition et endémicité de la leishmaniose cutanée.	23
Figure 8 :	Répartition et endémicité de la leishmaniose viscérale.	24
Figure 9 :	Distribution géographique de la leishmaniose cutanée au Nord de l'Afrique.....	25
Figure 10 :	Répartition des espèces <i>Leishmania</i> au Maroc	29
Figure 11 :	Répartition des cas et des espèces de la leishmaniose cutanée au Maroc	322
Figure 12 :	Polymorphisme clinique des lésions cutanées de <i>L. major</i>	38
Figure 13 :	Lésion unique sèche et légèrement inflammatoire du visage causé par <i>L. tropica</i>	39
Figure 14 :	Lésion nodulaire causée par <i>L. Infantum</i>	40
Figure 15 :	Découpage administratif de la région de Souss-Massa	46
Figure 16 :	Découpage administratif de la région de Drâa-Tafilalet.....	47
Figure 17 :	Pluviométrie moyenne annuelle de la région Sous-Massa	50
Figure 18 :	Pluviométrie moyenne annuelle de la région Drâa Tafilalet	51
Figure 19 :	Taux d'accroissement de la population entre 2004 et 2014	54
Figure 20 :	Taux d'accroissement de la population au niveau de Drâa-Tafilalet entre 2004 et 2014	55
Figure 21 :	Taux de pauvreté des communes de Souss-Massa.....	56
Figure 22 :	Taux de pauvreté des communes de Drâa-Tafilalet	56
Figure 23 :	Répartition de la LC de 2000 à 2017 selon l'âge au niveau de la province de Taroudant.....	68
Figure 24 :	Répartition de la LC de 2000 à 2017 selon l'âge au niveau de la province de Tata.....	69
Figure 25 :	Taux d'incidence annuel de LC au niveau de province Tata de 2000 à 2017	70
Figure 26 :	Taux d'incidence annuel de LC au niveau de province Taroudant de 2000 à 2017.....	71
Figure 27 :	Taux d'incidence annuel de LC au niveau des provinces Agadir, Chtouka Ait Baha, Inezgane et Tiznit de 2000 à 2017	71
Figure 28 :	Holt-Winters-Valeurs prévisionnelles de LC dans la province de Taroudant 2017-2019.....	75
Figure 29 :	Distribution géographique et temporelle de cas de LC dans la province de Taroudant de 2000 à 2017	76
Figure 30 :	Distribution géographique et temporelle de cas de LC dans la province de Tata de 2000 à 2017	77
Figure 31 :	Gel ITS1-PCR / RFLP des lames positives provenant des provinces de Agadir, Taroudant, Chtouka Ait Baha, Inezgane et Tiznit	79

Figure 32 :	Situation géographique de la région Drâa-Tafilalet	80
Figure 33 :	Répartition de la LC de 2000 à 2017 selon l'âge au niveau de la province d'Errachidia	81
Figure 34 :	Répartition de la LC de 2000 à 2017 selon l'âge au niveau de la province d'Ouarzazate	82
Figure 35 :	Répartition de la LC de 2011 à 2017 selon l'âge au niveau de la province Tinghir	83
Figure 36 :	Répartition de la LC de 2011 à 2017 selon l'âge au niveau de la province Zagora.....	83
Figure 37 :	Distribution de la LC de 2000 à 2017 au niveau de la province d'Errachidia...	85
Figure 38 :	Répartition spatiale de la LC de 2000 à 2014 selon les secteurs de la province d'Errachidia	86
Figure 39 :	Distribution de la LC de 2000 à 2017 au niveau de la province d'Ouarzazate..	87
Figure 40 :	Répartition spatiale de la LC de 2002 à 2017 selon les secteurs d'Ouarzazate.	88
Figure 41 :	Distribution de la LC de 2011 à 2017 au niveau de la province de Tinghir	89
Figure 42 :	Répartition spatiale de la LC de 2011 à 2017 selon les secteurs de Tinghir	90
Figure 43 :	Distribution de la LC de 2000 à 2017 au niveau de la province de Zagora.....	91
Figure 44 :	Répartition spatiale de cas de la LC de 2011 à 2017 selon les secteurs de la province de Zagora.....	92
Figure 45 :	Application de la technique PCR- ITS1 sur des lames positives provenant des provinces étudiées	95
Figure 46 :	Application de l'analyse RFLP par l'enzyme MnII sur le produit PCR- ITS1 des lames positives provenant de la province d'Ouarzazate.....	97
Figure 47 :	Application de l'analyse RFLP par l'enzyme MnII sur le produit PCR- ITS1 des lames positives provenant de la province d'Ouarzazate.....	97
Figure 48 :	Gel d'électrophorèse de produits amplifiés de ITS1 PCR-RFLP provenant de différentes lames collectées	99
Figure 49 :	Caractères cliniques des cas de <i>Leishmania</i> cutanée révélés positifs par PCR	100
Figure 50 :	Application de l'analyse RFLP par l'enzyme MnII sur le produit PCR- ITS1 des lames positives provenant de la province de Tinghir.....	101
Figure 51:	Application de l'analyse RFLP par l'enzyme MnII sur le produit PCR- ITS1 des lames positives provenant de la province de Zagora.....	103

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :	Historique de la leishmaniose citée par Golvan	6
Tableau 2 :	Historique des leishmanioses au Maroc	7
Tableau 3 :	Les espèces de phlébotomes au Maroc	17
Tableau 4 :	Les espèces vectrices des leishmanies au Maroc.....	17
Tableau 5 :	Principaux réservoirs de différentes formes de leishmaniose	19
Tableau 6 :	Diagnostic différentiel de la leishmaniose cutanée.....	41
Tableau 7 :	Anti-leishmaniens utilisables et principaux effets secondaires en cas d'administration systémique.....	45
Tableau 8 :	Les composants du Mix d'amplification	63
Tableau 9 :	Programme d'amplification	64
Tableau 10 :	Composition du Master Mix pour la digestion haeiii et MnII	64
Tableau 11 :	Pourcentage des malades liés au type de dépistage	67
Tableau 12 :	Regression des cas de la LC en fonction des années au niveau des provinces de Sous-Massa	72
Tableau 13 :	Matrice de corrélation entre les cas de leishmaniose cutanée et les indicateurs environnementaux, démographiques et socioéconomiques.....	73
Tableau 14 :	Résultats de la régression linéaire spatiale entre le nombre total de cas de LC et les indicateurs socioéconomiques et environnementaux	74
Tableau 15 :	Résultats de l'analyse ITS1-PCR-RFLP de l'étude de la LC dans les secteurs les plus touchés	76
Tableau 16 :	Pourcentage des malades liés au type de dépistage	81
Tableau 17 :	Regression des cas de la LC en fonction des années au niveau de la province d'Ouarzazate	87
Tableau 18 :	Régression des cas de la LC en fonction des années au niveau de la province de Tinghir	89
Tableau 19 :	Régression des cas de la LC en fonction des années au niveau de la province de Zagora	91
Tableau 20 :	Résultats de la régression linéaire spatiale entre le nombre total de cas de l'et les indicateurs socio-économiques et environnementaux.....	94
Tableau 21 :	Résultats de l'analyse microscopique et moléculaire des lames examinées	95
Tableau 22 :	Résultat de l'étude moléculaire de la LC provenant des communes les plus touchées au niveau de la province d'Ouarzazate	96
Tableau 23 :	Résultats de l'étude moléculaire des lames des cercles les plus touchés de la province d'Errachidia.....	98
Tableau 24 :	Résultat de l'étude moléculaire de la LC provenant des communes les plus touchées au niveau de la province de Tinghir.....	102
Tableau 25:	Résultat de l'étude moléculaire de la LC provenant des communes les plus touchées au niveau de la province de Zagora.....	103

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
CEFLD	Haut Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte contre la Désertification
DELM	Direction de l'Epidémiologie et de Lutte contre les Maladies
DF	Degree of Freedom
F	Féminin
HCP	Haut Commissariat au Plan
INDH	l'Initiative Nationale pour le Développement Humain
ITS	Internal transcribed spacer
L	<i>Leishmania</i>
LC	Leishmaniose Cutanée
LCD	Leishmanioses Cutanées Diffuses
LCL	Leishmaniose Cutanée Localisées
LCM	Leishmaniose Cutané-Muqueuse
LNRL	Laboratoire National de Référence des Leishmanioses
LV	Leishmaniose Viscérale
M	Masculin
MI	Membres inférieurs
MS	Membres supérieurs
ONEEP	l'Office National de l'Electricité, électrification rurale
P	<i>Phlebotomus</i>
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SIAAP	Services d'Infrastructures et d'Actions Ambulatoires Provinciales
OMS	Organisation Mondiale de la santé

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
Première partie : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	5
1. Généralités sur la leishmaniose	5
1.1. Historique.....	5
2. Épidémiologie	8
2.1. Parasite.....	8
2.2. Vecteur	11
2.3. Réservoir	18
2.4. Cycle parasitaire	20
3. Distribution géographique	21
3.1. Distribution mondiale de la leishmaniose.....	22
3.2. Distribution de la leishmaniose au Nord de l'Afrique	24
4. Leishmanioses humaines au Maroc	28
4.1. Leishmaniose viscérale à <i>Leishmania infantum</i>	29
4.2. Leishmaniose cutanée	30
4.3. Données épidémiologiques de la leishmaniose cutanée au Maroc	32
5. Leishmaniose et VIH	33
6. Facteurs de risques.....	33
7. Aspect clinique de la leishmaniose	37
7.1. Leishmaniose viscérale	37
7.2. Leishmaniose cutanée	37
8. Diagnostic	40
8.2. Diagnostic clinique.....	40
8.3. Diagnostic immunologique	41
8.4. Diagnostic parasitologique.....	42
8.5. L'examen par la culture	42
8.6. Méthodes moléculaire par PCR.....	42
8.7. Diagnostic génétique	43
9. Traitement	44
Partie II : ZONE D'ÉTUDE	46
1. Cadre administratif.....	47
1.1. Région Souss-Massa.....	47

1.2. Région Drâa Tafilalet.....	47
2. Cadre géographique	48
2.1. Région Souss-Massa.....	48
2.2. Région Drâa Tafilalet.....	48
3. Cadre Climatique	49
3.1. Région Souss-Massa.....	49
3.2 Région de Drâa-Tafilalet	50
4. Réseau hydrique	51
4.1 Région Souss-Massa.....	51
4.2. Région Drâa-Tafilalet	52
5. Végétation	52
5.1. Au niveau de Souss-Massa.....	52
5.2. Au niveau de Drâa-Tafilalet	53
6. Population.....	53
6.1. La population de région Souss-Massa	53
6.2. La population de région Drâa-Tafilalet.....	54
7. Pauvreté et développement humain	55
Partie III : MATÉRIEL & MÉTHODES	57
1. Étude épidémiologique	57
1.1. Données du registre.....	58
1.2. Données épidémiologiques	58
1.3. Données socio-économiques	58
1.4. Données environnementales.....	59
2. Cartographie.....	59
3. Analyses Statistiques	59
3.1. Variables	59
3.2. Corrélations statistiques	60
3.3. Test kh^2	60
4. Diagnostic microscopique et moléculaire des leishmanies.....	60
4.1. Échantillonnage.....	61
4.2. Diagnostic microscopique	61
4.3. Diagnostic moléculaire.....	61
Partie IV : RÉSULTATS	66
Chapitre premier : RÉGION SOUSS-MASSA.....	67

1. Profils épidémiologique de la leishmaniose cutanée	67
1.1. Type de dépistage.....	67
1.2. Vulnérabilité liée à l'âge	68
1.3. Vulnérabilité liée au sexe	69
2. La répartition temporelle des cas de LC de 2000 à 2017.....	69
3. L'impact des facteurs environnementaux, socio-économiques et démographiques liés aux cas de LC	73
4. Répartition et l'évolution spatio-temporelle de la leishmaniose cutanée selon les provinces.....	75
4.1. Province de Taroudant	75
4.2. Province de Tata	77
5. L'identification moléculaire des espèces	78
5.1. Identification de l'espèce par méthode de Restriction Fragment Length Polymorphisme (RFLP).....	78
Chapitre II : RÉGION DRÂA-TAFILALET	80
1. Profils épidémiologique de la leishmaniose cutanée au niveau de la région Drâa-Tafilalet.....	80
1.1. Type de dépistage.....	80
1.2. Vulnérabilité liée à l'âge	81
1.3. Vulnérabilité liée au sexe	84
2. Répartition et l'évolution spatio-temporelle de la leishmaniose cutanée selon les provinces.....	84
2.1. Province Errachidia	84
2.2. Province Ouarzazate.....	87
2.3. Province de Tinghir	89
2.4. Province de Zagora	91
3. L'analyse des facteurs Socio-économiques, environnementaux et démographiques sur la distribution de LC	93
4. Identification Moléculaire des espèces	95
4.1. Identification de l'espèce par méthode de Restriction Fragment Length Polymorphisme (RFLP)	96
DISCUSSION GÉNÉRALE.....	104
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	114
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	116
ANNEXE I : Données sur la leishmaniose cutanée au Maroc	142

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Durant ces dernières années, de nombreuses maladies infectieuses notamment les maladies à transmission vectorielle, comme la leishmaniose, quel que soit leur champ d'apparition (cas sporadiques, cas groupés, épidémie, pandémie, infections communautaires ou nosocomiales), ont connu des situations d'émergence ou ré-émergence (Snowden *et al.*, 2008). Ces changements seraient liés aux modifications environnementales et à l'augmentation des facteurs de risque influençant les acteurs du cycle de ces maladies (Ashford, 2000 ; Desjeux, 2002).

La leishmaniose est une parasitose commune à l'homme et à l'animal, due à l'infestation de l'hôte par certains protozoaires flagellés du genre *Leishmania*. La maladie se transmet par la piqûre des insectes phlébotomes femelles des genres *Lutzomyia* et *Phlebotomus* (Dejeux, 1996, 2004). La leishmaniose se décline en trois formes principales : la leishmaniose cutanée (LC), la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM) et la leishmaniose viscérale (LV) (Famakan, 2005). Les trois formes sont dues à des espèces distinctes de parasites, chacune inféodée à des hôtes donnés, mammifères réservoirs et phlébotomes vecteurs. La dynamique du cycle parasitaire peut suivre deux voies de transmission différentes : un cycle zoonotique, dont le chien est le principal réservoir animal ; et un cycle strictement anthroponotique, où l'homme est le seul hôte, qui est généralement observé dans les zones urbaines peuplées.

Selon les estimations de l'organisation mondiale de la santé (OMS, 2019), environ 50 000 à 90 000 nouveaux cas de LV surviennent chaque année dans le monde et entre 700 000 et 1 000 000 de nouveaux cas par an de leishmaniose cutanée. Le nombre de décès dus à la leishmaniose viscérale est de 20 000 à 30 000 par an. Cette dernière se produit dans environ 98 pays répartis en Afrique, en Asie, en Europe et en Amérique du Nord et du Sud.

La leishmaniose cutanée (LC) est la forme la plus commune de cette maladie. Elle est causée à la fois par des espèces de *Leishmania* du Nouveau Monde et de l'Ancien Monde. En Afrique du Nord (Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye), la LC est très répandue et représente un sérieux problème de santé publique, bien que le fardeau soit moins important qu'en Égypte. Dans les pays du Maghreb, plus de 58 600 cas sont documentés chaque année (Alvar *et al.*, 2012). Au Maroc, la leishmaniose est connue depuis un peu plus d'un siècle ; le premier cas de kala-azar infantile a été suspecté en 1913 dans le nord du pays, dans la province de Tanger (Remlinger, 1921). Deux formes cliniques y sévissent à l'état endémique, la leishmaniose viscérale et la leishmaniose cutanée (due à *Leishmania tropica*, *Leishmania major* et à

Leishmania infantum). Ces affections posent actuellement un réel problème de santé publique, du fait de la recrudescence du nombre de cas et l'extension de la maladie à des régions jusque-là indemnes. La leishmaniose sévit pratiquement dans tout le pays : depuis les montagnes du Rif jusqu'aux palmeraies perarides des piémonts de l'Anti-Atlas (Rhajaoui, 2011).

La leishmaniose viscérale (LV) est connue depuis 1921 dans la province marocaine de Tanger (Remilinger, 1926; Rhajaoui, 2011). Cependant, elle n'a été classée parmi les maladies à déclaration obligatoire qu'en juin 1967 (Bulletin officiel, 1996). Elle se localise principalement dans le nord du Maroc, à savoir les régions du Rif et du pré-Rif (Al Hoceima, Tetouan, Chefchaouen, Taza, Taounate, Sidi kacem, Fès, Meknès et Nador) sans pour autant exclure les régions du centre qui connaissent actuellement une propagation remarquable de la maladie. Des cas sporadiques sont observés dans d'autres régions (Ministère de la santé, 2000), notamment dans le sud du pays (Mniouil *et al.*, 2016). La leishmaniose viscérale est causée par *L. infantum* zymodème MON 1, touchant principalement les enfants de moins de 10 ans (89 %) et le taux de létalité dans les hôpitaux est estimé à 2,6 % (MS, 2000). Les chiens constituent le principal réservoir hôte de *L. infantum* au Maroc, comme dans tout le bassin méditerranéen (Guessous-Idrissi *et al.*, 1997; Rami *et al.*, 2003) et jouent donc un rôle important dans le cycle de transmission de la LV. Deux espèces des phlébotomes sont incriminées dans la transmission de cette forme au Maroc, *Phlebotomus. perniciosus*, et *Phlebotomus ariasi* (Faraj *et al.*, 2012).

La leishmaniose cutanée zoonotique à *L. major*, qui était confinée exclusivement aux foyers du Sud de l'Anti-Atlas dans les provinces de Tata et le Ouarzazate jusqu'à la province de Oujda au Nord (Rioux *et al.*, 1986), a envahi désormais plusieurs autres provinces avec un caractère épidémique au Sud et à l'Est du pays à savoir les provinces d'Errachidia, Figuig, Jerada, Ouarzazate, Boulemane, Tinghir et Zagora (Rhajaoui *et al.*, 2007 ; Riyad *et al.*, 2013). Sa transmission est principalement rurale, mais elle peut être présente également dans les zones urbaines essentiellement dans les provinces d'Errachidia, Ouarzazate, et Tinghir.

En terme de chiffre, le nombre de cas de la LC due à *L. major* variait de 1 000 à 2 000 cas par an depuis 1997, à l'exception de la période d'accalmie notée de 1998 à 2001 durant laquelle le nombre de cas ne dépassait pas les 550 cas. L'année 2008 a été marquée par une importante augmentation des cas, pour atteindre les 3 000. Cette ascension a atteint un pic de 6444 cas en 2010. Par la suite, une nette diminution a été observée suite à l'instauration du plan national de riposte qui a été déclenché suite à l'augmentation excessive du nombre de cas de LC généralement due à *L. major*. Malgré ces efforts, une réémergence de cette forme a été notée,

de 2015 à 2016, dans certains foyers tels que Jerada, Ouarzazate, Tinghir et Errachidia (DELM, 2017).

La leishmaniose cutanée anthroponotique à *L. tropica* sévit dans les zones semi-arides du pays allant de la région d'Agadir à l'Ouest aux plateaux péri-Rifain de Taza à l'Est en passant par le versant Ouest de la chaîne de l'Atlas touchant le centre du pays dans les régions de du centre du pays (Al Haouz, Azilal, Chichaoua, Béni Mellal, Settat, Meknès, Fès) et au Nord du pays (Taounate, Sidi kacem, Sefrou, Chefchaouen) (MS, 2010). Sa transmission peut être aussi bien urbaine que rurale (Hmamouch *et al.*, 2014; Sebti *et al.*, 2015; El Alem *et al.*, 2018). Malgré les actions de lutte contre cette espèce considérée comme anthroponotique, une pérennité des cas est enregistrée dans la plupart des foyers à savoir ; Taza (Hakkour *et al.*, 2016), Moulay Yacoub, Fès (Rhajaoui *et al.*, 2004), Sefrou (Hmamouch *et al.*, 2014), Boulemane (Rhajaoui *et al.*, 2007), Essaouira (Ajaoud *et al.*, 2013), Chichaoua (Rhajaoui *et al.*, 2012), Azilal (Arroub *et al.*, 2012), Béni Mellal, Fquih Ben Saleh (Sebti *et al.*, 2015) et la province d'Errachidia (El Alem *et al.*, 2016). Au fil des années, la maladie a connu une large extension dans l'espace et à partir de l'année 2 000, des provinces ont connu une épidémie constante. En moyenne, 2 000 cas de LC ont été enregistrés depuis 2010, causés par *L. tropica*, sans diminution significative entre 2010 et 2017.

Pour une lutte efficace, il est nécessaire d'établir des données éco-épidémiologique et une cartographie de la répartition des espèces dans ces foyers émergents. Ces composantes sont majeures et aideront d'une part de comprendre les circonstances qui amènent à l'extension, l'émergence, la réémergence et à l'endémicité de la maladie, en identifiant les éventuels facteurs de risque "émergents" pouvant créer des situations épidémiologiques nouvelles ; et d'autre part, d'établir des données sur la répartition des espèces circulantes de leishmanies dans différentes provinces, afin de mettre en place des stratégies de lutte très ciblées contre la maladie.

Dans ce cadre, le présent travail constitue une combinaison entre des études rétrospectives et des investigations moléculaires dans les régions de Souss-Massa et Drâa-Tafilalet, pour identifier les espèces de *Leishmania* circulantes dans cette zone et pour déterminer les facteurs influençant la distribution de la leishmaniose.

Ceci a pour objectifs :

- Étudier le profil épidémiologique de la leishmaniose dans les régions de Souss-Massa et Drâa-Tafilalet à travers la démonstration du profil de la population touchée au niveau de chaque province en se basant sur le profil spatio-temporelle de la maladie.
- Étudier les facteurs démographiques, environnementaux et socio-économiques impactant la leishmaniose cutanée.
- Identifier par la technique de biologie moléculaire (PCR) les espèces de *Leishmania* circulant dans les régions de Souss-Massa et Drâa-Tafilalet.

Le but de cette thèse est d'actualiser les données existantes sur la répartition des espèces des leishmanies au niveau des régions de Souss-Massa et Drâa-Tafilal et d'étudier la situation générale de la leishmaniose cutanée au niveau des foyers d'étude. Les résultats vont aider à la prise de décision pour renforcer la surveillance et l'éradication de la maladie qui diffère selon les espèces trouvées.

Première partie : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur la leishmaniose

La leishmaniose est une parasitose commune à l'homme et à l'animal, due à l'infestation de l'hôte par différentes espèces protozoaires flagellés (*Kinetoplastidae*) du genre *Leishmania*. Ces dernières se propagent par les piqûres des insectes femelles infectés nommés phlébotomes (Dejeux, 2004). Selon les espèces du parasite, la leishmaniose se présente sous différentes formes, ses formes cliniques sont très diverses mais leur gravité et leur retentissement sur la santé humaine et animale diffèrent (Ashford, 2000). En effet, *Leishmania spp.* peuvent causer des ulcères de la peau et des nodules, connues sous le nom de leishmaniose cutanée (LC). Elle se manifeste par des lésions ulcéreuses, au niveau du site de la piqûre du phlébotome et qui peuvent grossir progressivement et ne pas guérir naturellement. Ces lésions apparaissent souvent sur les zones exposées du corps laissant des cicatrices définitives et des handicaps sévères (OMS, 2019). D'autres espèces endommagent les organes internes et provoquent la leishmaniose viscérale (LV) humaine, moins fréquente mais mortelle en cas de non traitement. Certaines espèces de leishmanies peuvent affecter les muqueuses et causer des lésions graves, appelée la Leishmaniose Cutané-Muqueuse (LCM) peu répandue mais mutilante.

1.1. Historique

L'histoire de la leishmaniose remonte au second ou au troisième millénaire avant notre ère, il y a peu de témoignages sur la présence de la leishmaniose dans l'histoire ancienne de l'humanité. Il existe des descriptions de lésions rappelant les plaies orientales sur des tablettes dans la bibliothèque du roi assyrien Ashurbanipal à partir du 7^e siècle avant notre ère (Manson, 1996). Une étude paléo-parasitologique de 42 momies égyptiennes provenant d'une tombe du Moyen Empire à Thèbes Ouest (2050-1650 avant notre ère) a révélé que l'ADN mitochondrial leishmanien était composé de quatre spécimens (Zink, 2006). Le séquençage direct du fragment d'ADN amplifié a révélé que les quatre momies étaient infectées par *L. donovani*, ce qui suggère que la LV était présente dans l'Égypte ancienne. La leishmaniose est également mentionnée dans le Papyrus Ebers, une collection de documents médicaux égyptiens antiques datant de 1500 avant notre ère (Maspero, 1910). Cette écriture rapporte une maladie de la peau, connue en anglais sous le nom de «Nile Pimple», qui se réfère supposément à LC. À l'aide d'une analyse immunologique, des macrophages infectés par *Leishmania* ont été détectés dans une momie péruvienne d'une fillette de 6 ans datant de 800 ans avant notre ère.

(Frías, 2013). En fait, les scientifiques arabes ont été les principaux historiens de la description de la LC à l'époque médiévale. En 930, le polymathe perse Rhazes (Abū Bakr Muhammad ibn Zakariyya al-Rāzī, 854–935) décrit la survenue de lésions cutanées dans la région de Bagdad (Edrissian, 2016). Cependant, le grand philosophe et médecin persan Ibn Sina a donné une première description précise de la plaie orientale. Il a décrit une ulcération cutanée connue sous le nom de plaie de Balkh dans le nord de l'Afghanistan, qui ressemble à des lésions cutanées sèches causées par *L. tropica* (Manson, 1996). Le Tableau 1 trace les événements marquants de l'histoire de la leishmaniose.

Tableau 1 : Histoire de la leishmaniose citée par Golvan (1983) et Dedet (1999)

Année	Événement
X ^e siècle	Al Boukhari, médecin arabe, décrit incontestablement l'affection cutanée, et Avicenne (mort en 1034) l'attribuait à une piqûre de moustique.
1882	Première description clinique moderne de l'affection cutanée par McNaught
1885	Cunningham reconnaît pour la première fois « des organismes parasitaires particuliers contenant des spores », qui sont en fait des macrophages parasités.
1898	En Ouzbékistan, le médecin militaire Borovsky mentionna un protozoaire dans des prélèvements d'ulcère, sans en déterminer le statut taxonomique.
1900	Découverte du parasite dans le frottis de rate d'un soldat mort de fièvre dum-dum en Inde par Sir William Leishman.
1903	Identification du même parasite dans une biopsie de rate par Charles Donovan. Le parasite fut nommé <i>Leishmania-Donovan</i> . Étude du parasite par Wright chez un enfant arménien vivant à Boston, le considère comme une microsporidie et lui attribue le nom de <i>Helcosomatropicum</i> . Les leishmanies sont également mises en évidence par Marchand dans la rate d'un sujet mort de kala-azar.
1908	Obtention de la première culture par Nicolle et Sicre et comparèrent les organismes de la peau avec ceux de la rate découverts en 1903. Ils conclurent : « La presque identité du point de vue morphologique du parasite de Leishman-Donovan est de celui de Wright n'est pas contestable. » Nicolle & Comte découvrent les mêmes protozoaires chez le chien, puis chez le cheval et le chat. Ils font ainsi de cette affection une maladie commune à l'homme et aux autres mammifères et ouvrent la voie aux recherches épidémiologiques.
1921	Les frères sergent et leurs collaborateurs établissent le rôle vecteur des phlébotomes en réussissant la transmission du « bouton d'Orient » par application de broyats de ces insectes sur des scarifications cutanées ;
1941	La transmission par la piqûre du phlébotome fut prouvée par Adler et Ber.

Au Maroc, la leishmaniose est connue depuis longtemps ; ses deux entités cliniques observées, viscérale et cutanée, sont largement répandues sur tout le territoire (Rioux, 1999). La première constatation de cas de Kala-azar a été réalisée par Remilinger en 1913 à Tanger, mais sa publication n'a été faite qu'en 1923 ; puis d'autres observations ont été rapportées à Meknès, Ouazzane, Rif et Arfoud (Remilinger, 1926). Le Tableau 2, résume les principales étapes de l'historique des leishmanioses au Maroc.

Tableau 2: Historique des leishmanioses au Maroc

Année	Auteurs	Travaux & Avancements
1914	Foley <i>et al.</i>	Notification de l'existence dans le sud marocain du bouton d'orient (LC) à l'état endémique
1922	Kippel et Monier-Vinard	Premier cas de la leishmaniose viscérale (LV) humaine à Meknès
1921	Remlinger (in Souhail, 1994)	Premier cas de LV à Tanger
1925	Leblanc (in Souhail, 1994)	Des cas de bouton d'Orient ont été rapportés à Figuig
1931	Colonieu	Des cas de bouton d'Orient ont été rapportés dans l'Atlas marocain
1934	Flys-Sainte-Marie	Enregistrement de cas de LV à Fès
1934	Blanc et Pietri	Enregistrement de cas de LV à Casablanca
1986	Rioux <i>et al.</i>	Poussées épidémiques au sud de l'Atlas dans les zones subsahariennes, dues à <i>L. major</i>
1970	Rioux <i>et al.</i> (in Rioux, 2001)	Situation des leishmanioses est devenue préoccupante au Maroc. Élaboration d'un programme d'étude franco-marocain pour analyser les différents foyers leishmaniens
1974	Cadi Soussi, <i>et al.</i> (in Seddik, 2007)	Étude de la répartition géographique des deux formes cliniques (LC et LV) des leishmanioses.
1977	Ministre de la	Programme de lutte contre les leishmanioses au Maroc. Séminaire national sur la surveillance et la lutte contre les

	santé	rongeurs.
1991	Agoumi <i>et al.</i>	Analyse de la situation épidémiologique au Maroc sur un travail de 216 cas entre 1957 et 1989
1993	Ministre de la santé	Préparation du programme national de lutte contre les leishmanioses établi par la Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies
De puis 1995	Arrêté ministériel n°683-95 (31mars 1995)	Décret des leishmanioses étant des maladies à déclaration obligatoire au Maroc

2. Épidémiologie

2.1.Parasite

2.1.1. Taxinomie

C'est un protozoaire flagellé de la famille des Kinétoplastidés du genre *Leishmania*, la place de ce genre d'après la classification de **Levine *et al.***, (1980) est la suivante :

Règne :	Protista Haeckel, 1866
Sous-Règne :	Protozoa Goldfuss, 1817 emend. Siebold, 1848.
Embranchement :	Sarcomastigophora Honigberg et Balamuth, 1963
Sous- Emb. :	Mastigophora Diesing, 1866
Classe :	Zoomastigophorea Calkins, 1909
Ordre :	Kinetoplastida Honigberg, 1963 emend. Vickerman, 1976
Sous-Ordre :	Trypanosomatina Kent, 1880
Famille :	Trypanosomatidae Doflein, 1901 emend. Grobbs, 1905
Genre :	<i>Leishmania</i> Ross, 1903

Le genre *leishmania* est subdivisé en deux sous genre en fonction de leurs emplacements dans l'intestin des phlébotomes : le sous genre *Leishmania* qui forme la section *Suprappylaria* et le sous genre *Viannia* qui appartient à la section *peripylaria* (Lainson et Shaw, 1987) (Figure 1).

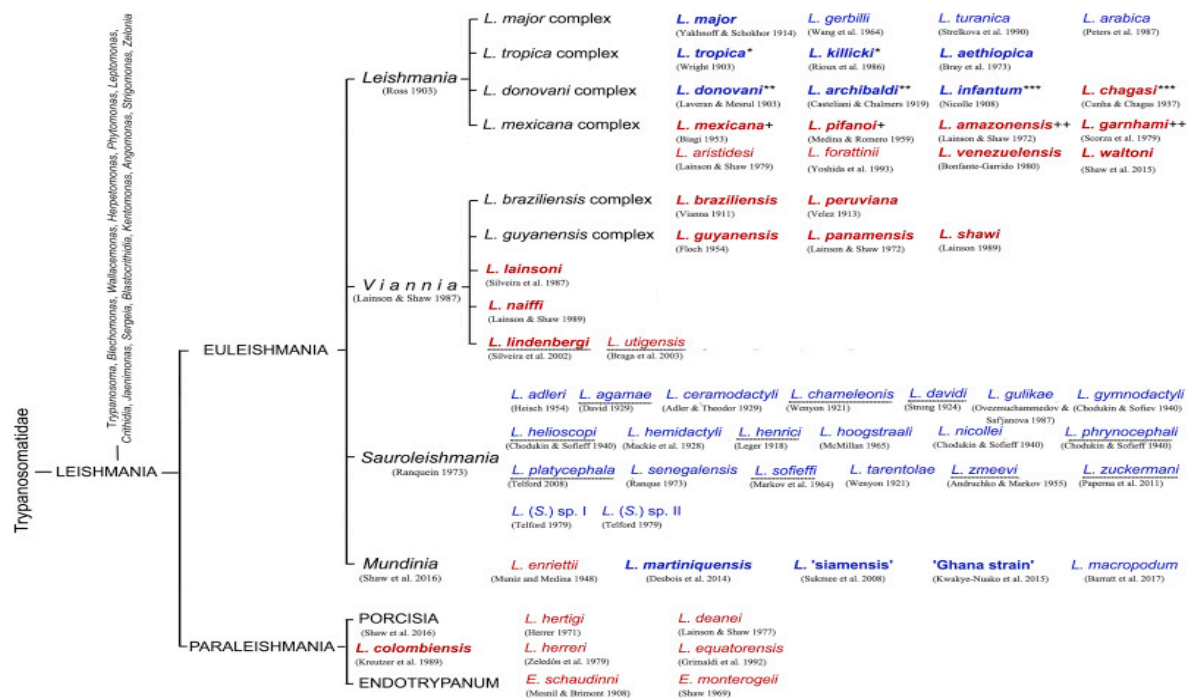


Figure 1: Taxonomie des leishmanies (Akhoundi *et al.*, 2017)

, +: Synonyme; un nombre différent de signes étoiles () et plus (+) signifie quel nom d'espèce est le synonyme pour quelle espèce d'origine ;Noms soulignés :pas de classification finale ;*L. 'siamensis'* et *L. martiniquensis* ont été également découverts dans le Nouveau Monde ; les noms *Leishmania* entre guillemets sont des noms sans description officielle :les espèces pathogènes pour l'homme sont écrites en gras ;les espèces de l'ancien et du Nouveau Monde sont surlignées en bleu et rouge respectivement.

Les caractères morphologiques très uniformes des espèces du genre *Leishmania* ne permettent pas de les distinguer les uns des autres. Ainsi, à l'intérieur des sous genres, l'identification présumptive repose sur des caractères extrinsèques (manifestations cliniques, répartition géographique, cycle épidémiologique ou caractéristiques culturelles du parasite). L'identification définitive au niveau spécifique est généralement effectuée par des méthodes biochimiques, par comparaison avec les souches de références (OMS, 1990).

De plus, avec le développement de nouveaux outils moléculaires, d'autres critères biochimiques et immunologiques ont permis d'arriver à un consensus pour classer ce genre "*Leishmania*" et ses espèces (Mendoza *et al.*, 2002). En effet, la technique du profil enzymatique (zymodème) est la méthode la plus utilisée (Rioux, 1986 ; Andrews *et al.*, 1988 ; Hart, 1989). La technique des anticorps monoclonaux est aussi appliquée à l'analyse et la classification des espèces et des sous-espèces de *Leishmania* du nouveau monde «les Amériques » et du vieux monde « l'Europe, l'Asie et l'Afrique » (Rioux, 1986 ; Hart, 1989). Cependant, toutes les espèces du genre *Leishmania* sont des parasites infectant les

mammifères (Ready, 2014). Par conséquent, beaucoup d'entre eux peuvent causer la leishmaniose humaine.

2.1.2. Morphologie

Le parasite est un protozoaire flagellé tissulaire qui présente au cours de son cycle deux stades évolutifs distincts : le stade promastigote, cette forme est issue de la forme amastigote aspirée par le phlébotome au cours d'un repas sanguin et le stade amastigote sans flagelle extériorisé, est intramacrophagique intracellulaire chez l'hôte vertébré. Ils se multiplient aux deux stades par division binaire (Dedet, 2001).

➤ **Forme amastigote**

C'est une forme ovoïde, mesurant 2 à 6 μm qui se trouve chez l'hôte définitif (Homme et autres mammifères). Elle se présente en microscopie optique, après coloration au May-Grünwald-Giemsa, sous forme de deux inclusions pourpres caractéristiques : avec un noyau sphérique et un kinétoplaste (partie spécialisée du compartiment mitochondrial qui contient l'ADN) au niveau duquel on peut voir inconstamment l'amorce d'un embryon de flagelle, le rhizoplaste intracellulaire (Figure 2).

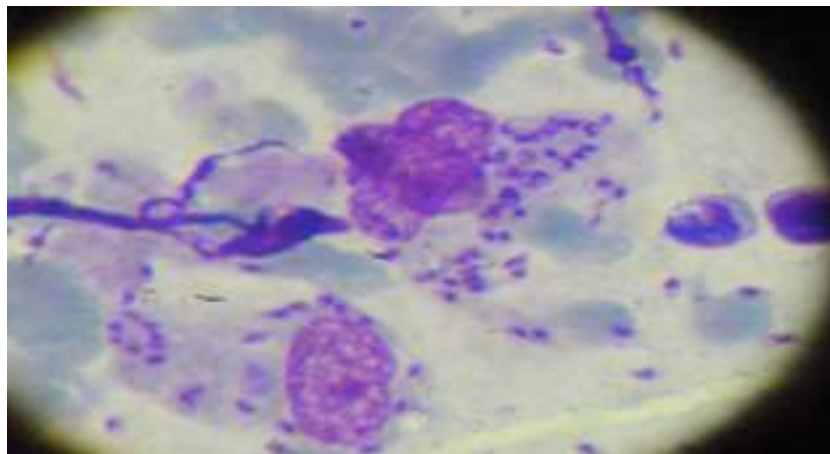


Figure 2 : Forme amastigote visible sur un frottis cutané (Département de parasitologie, INH 2018)
(Gr : x1 000 ; coloration au May- Grünwald Giemsa)

➤ **Forme promastigote**

Les formes promastigotes sont des formes allongées, qui se trouvent dans le tube digestif de l'hôte vecteur (phlébotome) mesurant 10 μm à 25 μm de longueur (Figure 3). Le noyau est central, le kinétoplaste est en position antérieure et le flagelle libre s'échappe à l'extrémité antérieure. Les flagelles qui émergent de la partie antérieure du corps possèdent une partie libre et lui confère une grande mobilité. Ils se multiplient aux deux stades par division binaire,

dans la ou les vacuoles parasitophores du cytoplasme des macrophages pour les amastigotes ; libérées ensuite par lyse du macrophage, les leishmanies sont phagocytées et évoluent dans d'autres macrophages.

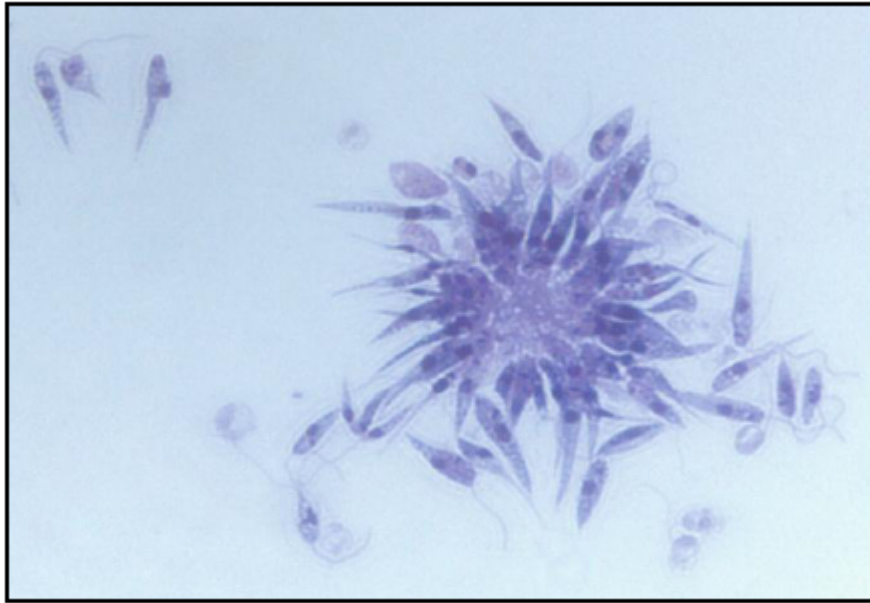


Figure 3: Forme promastigote de *Leishmania*(Michael *et al.*, 2013)
(Gr : x1 000 ; coloration au May- Grünwald Giemsa)

Les phlébotomes injectent la larve au stade promastigote, pendant le repas de sang. Les parasites qui atteignent la plaie de la piqûre sont phagocytés par les macrophages et se transforment en amastigotes. Les Leishmanies se multiplient dans les cellules infectées et atteignent différents tissus, suivant l'espèce de *Leishmania* qui est impliquée.

2.2.Vecteur

Les leishmanioses sont des maladies vectorielles, transmises par des insectes phlébotomes. Les phlébotomes sont des vecteurs des agents pathogènes, responsables des leishmanioses tant humaines qu'animales. La focalisation de ces infections dépend étroitement de la distribution de ces insectes. De plus, les vecteurs de la leishmaniose sont du phylum Arthropoda, de la classe des insectes, de l'ordre des *Diptera*, du sous ordre des Nématocères, de la famille des *Psychodidae* et du genre *Phlebotomus*. Sur environ 800 espèces actuellement décrites, une quarantaine d'entre elles sont vecteurs de *Leishmania* (Dedet, 2001).

Tous les phlébotomes ne sont pas vecteurs. Il existe un attachement entre certaines espèces de *Leishmania* et leurs vecteurs car les parasites doivent pouvoir se fixer à l'oesophage du vecteur pour éviter d'être digérés. Cette fixation est spécifique ce qui explique la spécificité entre le vecteur et le parasite. Aucun autre arthropode n'a, dans les conditions naturelles, été impliqué dans la transmission (Bourdoiseau et Franc 2008). Sur 81 espèces de mouches, au

moins 19 ont été confirmées comme vecteurs des différentes espèces de *Leishmania* (Killick-Kendrick, 1990).

2.2.1. Taxonomie

Les phlébotomes sont des Diptères, Nématocères de l'ordre des *Diptera*, appartenant à la famille des *Psychodidae* et de la sous-famille des *Phlebotominae*.

Les phlébotomes sont repartis en six genres : *Phlebotomus*, *Sergentomyia*, *Chinius* dans l'Ancien Monde (Seccombe *et al.*, 1993), *Lutzomyia*, *Wariliya* et *Brumptomyia* dans le Nouveau Monde (Lewis *et al.*, 1977).

Les trois genres *Phlebotomus*, *Lutzomyia* et *Sergentomyia* comportent des espèces hématophages (Killick-Kendrick, 1999), ils regroupent ainsi les espèces responsables de la transmission de la leishmaniose (Mukherjee *et al.*, 1997; Parvizi and Amirkhani, 2008; OMS, 2010; Senghoretal, 2011; Berdjane-Brouk *et al.*, 2012). Le genre *Phlebotomus* comprend 12 sous-genres : *Adlerius* Nitzulescu, 1931, *Anaphlebotomus* Theodor, 1948, *Australophlebotomus* Theodor, 1948, *Euphlebotomus* Theodor, 1948, *Idiophlebotomus* Quate et Fairchild, 1961, *Kasaulius* Lewis, 1982, *Larroussius* Nitzulescu, 1931, *Paraphlebotomus* Theodor, 1948, *Phlebotomus* Rondani, 1840, *Spelaeophlebotomus* Theodor 1948, *Synphlebotomus* Theodor 1948 et *Transphlebotomus* Artemiev & Neronov, 1984.

En se basant sur les arguments morphologiques, la taxonomie au niveau de certains spécimens reste controversée en raison de difficultés rencontrées lors de ses identifications. En effet, de nouvelles approches biochimiques et moléculaires se sont développées pour résoudre ce problème de classification des phlébotomes.

2.2.2. Morphologie

Les phlébotomes sont des diptères hématophages présentant un corps grêle et allongé de petite taille (2 à 5 mm) (Figure 4). De plus, le corps et les ailes ont un aspect « velu » au repos (Bussi  ras et Chermette 1991). Ils sont dotés de longues antennes peu poilues (identiques chez les deux sexes) (Rodhain et Perez 1985), alors que l'abdomen couvert de soies est formé de 10 segments ; son extrémité est arrondie chez les femelles ; chez le m  le, la présence d'un appareil génital externe très développé appelé hypopygium lui donne un aspect tronqué. Les femelles pondent entre quinze et cent œufs fusiformes, de 300 à 400   m de long, dont sortent des larves vermiformes. Les larves vivent dans la couche supérieure meuble du sol, le substrat des vieux murs, les décombres. L'évolution jusqu'à un imago se fait sur un à plusieurs mois, suivant les conditions environnementales (Bravermann, 1994).



Figure 4:Phlebotomus papatasi femelle (Scopoli, 2019)

2.2.3. Biologie et cycle de développement

Les phlébotomes sont des espèces hématophages, ils se nourrissent généralement sur des mammifères ou des oiseaux, parfois même sur des reptiles. Le repas sanguin est nécessaire pour assurer leurs cycles gonotrophiques. Chaque espèce de phlébotome possède une biologie complexe qui lui confère tous les aspects de la reproduction, du mode d'alimentation et des autres activités ayant un retentissement direct sur l'épidémiologie de la leishmaniose et la lutte antivectorielle.

Les phlébotomes présentent un cycle de vie holométabole, leurs oeufs, leurs larves et leurs nymphes se développent dans des microbiotopes humides riches en matières organiques ; ces stades ne sont pas aquatiques (OMS, 2010). Le stimulus qui provoque l'oviposition est le contact avec une surface humide, leurs oeufs se développeront ensuite en larves sur le sol, dans les terriers, les nids, la poussière des anfractuosités de rochers ou de vieux murs, les tas de débris végétaux, puis on pourra observer une pupe et enfin un imago (Figure 5) (Dedet, 1999). Le cycle de vie comprend obligatoirement l'oeuf, quatre stades larvaires selon l'espèce, une pupe et l'imago.

-L'oeuf : est ovoïde et mesure 300 à 400 μm de longueur. Il éclot au bout de 4 à 17 jours, libérant une larve de 1er stade pour des colonies de laboratoire (Killick-Kendrick, 1999).

-**La larve** : la phase larvaire est généralement sur le sol, dans les terriers, les nids, la poussière des anfractuosités de rochers ou de vieux murs, ces larves sont terricoles et sédentaires, se nourrissant de débris organiques divers (saprophagie et phytophagie) (Vaillant, 1970, Killick-Kendrick, 1999). Ainsi, ces larves sont sensibles à la dessiccation et se développent en milieu humide. Elle est vermiforme et eucéphale, mesurant au 4^e stade de son évolution 8 mm environs (OMS, 2010).

- **La nymphe** : La larve du 4^{ème} stade atteint le terme de sa croissance et en fin mue en nymphe. Le stade nymphal dure 6 à 15 jours dans un endroit faiblement humide et reste immobile avec l'extrémité élevée du corps. La nymphe est fixée sur son support par l'exuvie de la dépouille larvaire résultant de l'ultime mue, qui lui sert de support et lui permet de se maintenir fixée, verticalement, au substrat (OMS, 2010). Elle ne se nourrit pas et l'adulte émerge de l'exuvie nymphale.

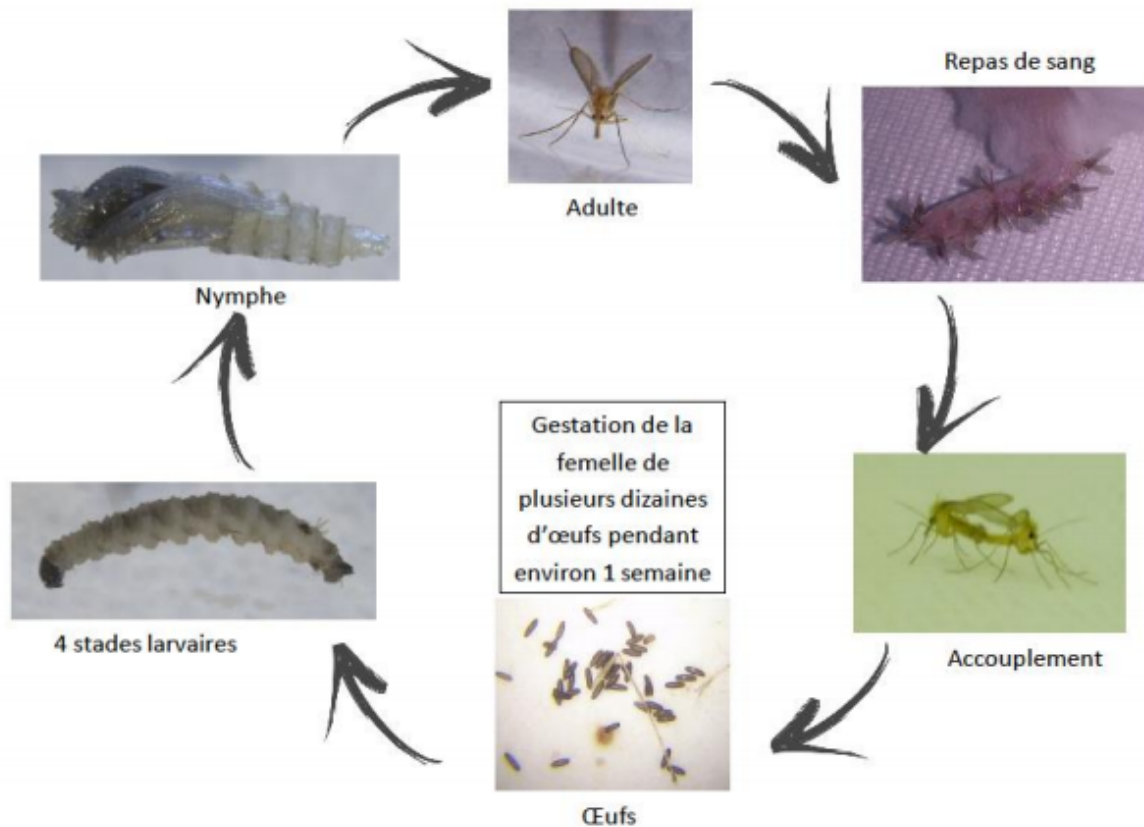


Figure 5: Cycle de vie du phlébotome (Prudhomme, 2015)

2.2.4. Critères d'identification des phlébotomes

Les mâles de *Phlebotomus perniciosus* possèdent des valves péniennes bifurquées à extrémités pointues. Ils peuvent prêter confusion avec *Phlebotomus longicuspis* qui possède un édéage à extrémité simple effilée plus ou moins incurvée. La différentiation entre ces deux espèces

affines est basée sur le nombre de soies médianes des coxites (Berchi *et al.*, 2007). *Phlebotomus perniciosus* présente généralement un nombre de soies inférieur à 18 alors que chez *Phlebotomus longicuspis* il est supérieur à ce nombre (Berchi *et al.*, 2007).

2.2.5. Écologie

Les phlébotomes ont une activité essentiellement nocturne et crépusculaire. Ils sont mauvais voiliers, leur portée de vol est faible sensible aux courants d'air, n'atteint pas généralement 1,5 km. Ils ne sortent de leur gîte de repos que les jours sans vent, se déplacent alors avec un vol sautillant, saccadé, proche du sol. Leur faible dispersion explique le fait que les maladies transmises par ces insectes sévissent sous forme de foyers souvent très délimités (Thérèse, 2002). En dehors de ses repas sanguins, la femelle peut survivre avec un régime floricole. Les mâles sont quant à eux exclusivement floricoles. L'accouplement intervient sans vol nuptial à proximité du gîte de repos. Durant la journée, les phlébotomes se cachent dans les endroits obscurs et abrités pour avoir leurs besoins de degré d'humidité et d'une température favorables. Certaines espèces sont nettement endophiles, cependant d'autres préfèrent l'extérieur (Depaquit et Leger, 2001). En terme d'écologie du vecteur, leurs habitats primitifs sont représentés par divers biotopes tels que les cavernes, les crevasses de rochers, les terriers de rongeurs, les creux dans les arbres et autres abris naturels de ce genre. Leur apparition, leur densité, leur période d'activité et leur disparition varient suivant la latitude, l'altitude, la saison et l'espèce en question (Abonnenc, 1972).

2.2.6. Phlébotomes au Maroc

Les phlébotomes au Maroc jouent un rôle majeur dans la transmission de la leishmaniose. En fait, plusieurs travaux ont été rapportés sur ces insectes et qui ont suscité la recherche dans ce domaine depuis les observations fragmentaires de Delanoé (1916) et Vialatte et Parrot (1920), Ristorcelli (1939, 1940, 1941, 1945, 1947), jusqu'au premier travail réalisé par Gaud en 1947 au niveau du Maroc. Par la suite, une synthèse a été réalisée sur la répartition régionale et la fréquence saisonnière des phlébotomes sur l'ensemble du territoire marocain (Gaud, 1954). Dès le début des années 1970, la diversité des phlébotomes commence à attirer l'attention d'une équipe de chercheurs franco-marocains. Dans cet objectif, Rioux et ses collaborateurs ont réalisé un inventaire pour analyser les différents foyers de la faune phlébotomienne en étudiant les corrélations vecteur-bioclimat (Rioux *et al.*, 1997 ; Rioux *et al.*, 1984). Les années suivantes, dans le Nord et le Sud du Maroc plusieurs études ont été

focalisées dans certaines régions et ont concerné chaque espèce à part. Au Nord du pays, Benabdennbi et ses collaborateurs ont étudié la variation morphologique et isoenzymatique des espèces *P. perniciosus* et *P. longicuspis* (Benabdennbi *et al.*, 1999). Par la suite, l'équipe de Gernaoui a réalisé une étude sur la répartition du sous genre *Larrousius* (*P. ariasi*, *P. perniciosus*, *P. mariae* et *P. longicuspis*) dans le haut et le moyen Atlas auprès de 34 localités dans les provinces de Marrakech, Al Haouz et Sous (Guernaoui *et al.*, 2005). En 2006, les données ont été actualisées dans la même zone d'étude, des études ont montré le lien entre la répartition des phlébotomes et l'altitude qui a prouvé la présence à densité élevée de *P. papatasi* à faible altitude et la dominance de *P. perniciosus* et *P. sergenti* à moyenne et haute altitude (Guernaoui *et al.*, 2006). En se basant sur ces travaux, en 2012 une autre étude a été menée pour réviser la distribution des phlébotomes au centre et au Sud du pays qui a révélé la présence de 7 espèces de phlébotomes et 4 de *Sergentomyia* (Faraj *et al.*, 2012). En 2013, Ajaoud et ses collaborateurs ont identifié la présence de neuf espèces dans la province d'Essaouira dont 7 appartenant au genre *Phlebotomus* et 2 au genre *Sergentomyia*. *P. sergenti* était l'espèce la plus dominante avec 76,67 % suivi par l'espèce *P. longicuspis* (11,51 %) (Ajaoud *et al.*, 2013). D'après les observations d'El Miri, dans la province de Sidi Kacem, la mise en évidence de cinq espèces vectrices des leishmanies: [*P. sergenti* (42,6 %), *P. longicuspis* (27,2 %), *P. papatasi* (13 %), *P. perniciosus* (2,8 %) et *P. ariasi* (0,2 %)] appartenant au genre *Phlebotomus* a été réalisée, cette étude révélant que le genre *Sergentomyia* a été représenté par une seule espèce *S. minuta* (14,2 %) (El miri *et al.*, 2013).

Les phlébotomes décrits au Maroc appartiennent à deux genres : *Phlebotomus* et *Sergentomyia* (MS, 2010). Actuellement, la liste des phlébotomes du Maroc contient 22 espèces dont neuf appartiennent au genre *Sergentomyia* et treize au genre *Phlebotomus* (Tableau 3).

Tableau 3: Les espèces de phlébotomes au Maroc (MS, 1997)

G/ <i>Phlebotomus</i>	G/ <i>Sergentomyia</i>
<i>P. (Phlebotomus) bergeroti</i> Parrot, 1943	<i>S. (Parrotomyia) Africana</i> Newstead, 1912
<i>P. (P.) papatasi</i> Scopoli, 1786	<i>S. (P.) lewisi</i> Parrot, 1948
<i>P. (Paraphlebotomus) alexandri</i> Sinton, 1928	<i>S. (Sergentomyia) antennata</i> Newstead, 1912
<i>P. (Para.) chabaudi</i> Croset, Abonnenc et Rioux, 1970	<i>S. (S.) fallax</i> Parrot, 1921
<i>P. (Para.) kazeruni</i> Theodor et Mesghali, 1964	<i>S. (S.) minuta</i> Rondani, 1843
<i>P. (Para.) sergenti</i> Parrot, 1917	<i>S. (S.) schwetzi</i> Adler, Theodor and Parrot, 1929
<i>P. (Larroussius) ariasi</i> Tonnoir, 1921	<i>S. (Sintonius) christophersi</i> Sinton, 1927
<i>P. (L.) chadlii</i> Rioux, Juminer et Gibily 1966	<i>S. (S.) clydei</i> Sinton, 1928
<i>P. (L.) langeroni</i> Nitzulescu, 1930	<i>S. (Grassomyia) dreyfussi</i> Parrot, 1933
<i>P. (L.) longicuspis</i> Nitzulescu, 1930	
<i>P. (L.) mariae</i> Rioux, Croset, Léger et Bailly-Choumara 1974 (femelle inconnue)	
<i>P. (L.) perfiliewi</i> Parrot, 1930	
<i>P. (L.) perniciosus</i> Newstead, 1911	

Les espèces vectrices des leishmanies au Maroc sont représentées par le tableau 4.

Tableau 4: Les espèces vectrices des leishmanies au Maroc (Ministère de la santé, 2010)

Phlébotomes	Leishmanies
<i>Phlebotomus sergenti</i>	<i>Leishmania tropica</i>
<i>Phlebotomus papatasi</i>	<i>Leishmania major</i>
<i>Phlebotomus perniciosus</i>	<i>Leishmania infantum</i>
<i>Phlebotomus longicuspis</i>	
<i>Phlebotomus ariasi</i>	

2.3.Réservoir

La notion de réservoir désigne une espèce qui assure le maintien d'une population d'agents pathogènes dans des conditions naturelles et capable de conserver durant de longues périodes un parasite, et à partir duquel ce parasite peut être transmis à un individu sensible. L'homme est directement impliqué, en tant qu'hôte réservoir.

2.3.1. Hôtes réservoirs domestiques

L'homme est directement impliqué, en tant qu'hôte réservoir dans deux formes de la maladie : la leishmaniose viscérale provoquée par *L. donovani* et la leishmaniose cutanée provoquée par *L. tropica*.

Le chien constitue l'un des principaux réservoirs de *L. infantum* et *L. chagasi* (OMS, 1990). Il est parfois parasité par d'autres espèces de leishmanies, mais dans ce cas, son rôle est probablement accidentel (Derreure *et al.*, 1991). Récemment, en Égypte et en Arabie saoudite, *L. major* a été isolée chez le chien qui serait dans ce cas, plutôt un hôte accidentel que réservoir de l'infection (Peters *et al.*, 1985 ; Elbihari *et al.*, 1987 ; Morsy *et al.*, 1987). Cependant, l'isolement de cette souche (MON-102 et MON-113) à partir des cas sporadiques du chien suggère que ce mammifère (chien) pourrait être impliqué comme hôte réservoir secondaire dans le cycle de vie de *L. tropica*. Néanmoins, les quelques cas sporadiques viscérotropes ne confirment pas que le chien est l'hôte principal et le cycle de vie est zoonotique (Pratlong *et al.*, 1991 ; Derreure *et al.*, 1991). Cet animal reste l'unique réservoir connu de *L. peruviana* (OMS, 1984 ; Lumbreras et Guerra, 1985). De même il est le réservoir synanthropique de *L. brasiliensis* dans les zones sub-urbaines d'Amérique du Sud (Brésil essentiellement) (OMS, 1984 ; Aguilar *et al.*, 1990 ; Gomes *et al.*, 1990). Récemment, une étude mexicaine a montré que certaines chauves-souris remplissent au moins l'un des critères pour être considérées comme des réservoirs potentiels pour *L. mexicana* (Berzunza-Cruz *et al.*, 2015). Dunan *et al.* (1989) ont signalé la présence chez le chat (*Felis felis*) de *Leishmania* dans des foyers de leishmaniose canine. De plus, des travaux expérimentaux ont démontré la réceptivité du chat au parasite inoculé par voie intraveineuse existe, sans que l'animal présente de signes cliniques (Kirkpatrick *et al.*, 1984).

2.3.2. Hôtes réservoirs sauvages

Un certain nombre de canidés sauvages : renard (genre *Vulpus*), chacal (*Canis aureus*), loup (*Canis lupus*) et chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*) sont parasités par *L. infantum*, aussi bien dans l'ancien que dans le nouveau monde. La grande gerbille (*Rhombomys opimus*), constitue l'hôte réservoir primaire de *L. major* dans les steppes de l'Asie centrale. Le

rongeur *Psammomys obesus*, est également réservoir de *L. major* dans l'Asie occidentale et en Afrique du nord. Au Maroc, c'est le *Meriones shawi* qui est le réservoir de *L. major* (Rioux *et al.*, 1986).

Par ailleurs, le rat noir (*Rattus rattus*) pourrait être impliqué comme réservoir naturel de *L. infantum* dans certains foyers méditerranéens (Petrovic *et al.*, 1975 ; Morsy *et al.*, 1982 ; Gradoni *et al.*, 1983). Parmi les réservoirs sauvages présents dans le nouveau monde, on trouve, entre autres, les paresseux (réservoirs de *L. braziliensis*), les primates et marsupiaux sont fortement soupçonnés d'intervenir dans le maintien de *L. mexicana* (Deane et Grimaldi, 1985 ; Zeledon, 1985) et aussi les chauves-souris (Dedet, 1993) (Tableau 5).

Tableau 5: Principaux réservoirs de différentes formes de leishmaniose (González, 2015)

Leishmaniose Cutanée		
Forme épidémiologique	Espèces <i>Leishmania</i>	Réservoir
Ancien Monde		
Anthroponotique	<i>L. tropica</i>	Homme
Zoonotique	<i>L. major</i>	Rongeurs
Zoonotique	<i>L. aethiopica</i>	Hyraxes
Zoonotique	<i>L. infantum</i>	Chiens
Nouveau Monde		
Zoonotique	<i>L. mexicana</i>	Rodents
Zoonotique	<i>L. amazonensis</i>	Canidés, Singes, Marsupiaux Rongeurs,
Zoonotique	<i>L. braziliensis.</i>	Edentates, opossums, rongeurs et les chiens
Zoonotique	<i>L. panamensis</i>	Paresseux, Marsupiaux, Rongeurs
Zoonotique	<i>L. guyanensis</i>	Paresseux, édentés, Marsupiaux

Anthroponotique	<i>L. peruviana</i>	Homme, Chiens?
Leishmaniose Viscérale		
Forme épidémiologique	Espèces <i>Leishmania</i>	Reservoir
Ancien Monde		
Anthroponotique	<i>L. donovani</i>	Homme
Zoonotique	<i>L. infantum</i>	Chiens
Nouveau Monde		
Zoonotique	<i>L. infantum</i> (= <i>L. chagasi</i>)	Chiens, Marsupiaux

2.4.Cycle parasitaire

Le cycle de transmission est résumé dans la figure 6, c'est au cours du repas sanguin pris sur un mammifère infecté que le phlébotome absorbe les leishmanies sous la forme amastigote intracellulaire. Après ingestion, la rupture des cellules hôtes survient et les amastigotes sont libérées. Le repas sanguin est rapidement entouré par la membrane péritrophique sécrétée par les cellules intestinales abdominales du phlébotome (Shlein, 1991).

Douze heures après l'ingestion qui suivent le repas sanguin, une division très active dans l'estomac abdominal du phlébotome (Molyneux, 1983). Ils sont transformés en une forme dite «promastigote procyclique» après destruction du facteur inhibant de cette transformation par les enzymes protéolytiques sécrétées par l'insecte. Au bout de 3-4 jours, les promastigotes s'échappent de la membrane péritrophique et migrent vers l'estomac thoracique pour le sous genre *Leishmania* et vers le pylore pour le sous genre *Vianna* (Molyneux, 1983) ; où elles s'attachent, par leurs flagelles, aux microvillosités intestinales (Sacks, 2001). Il y a ensuite séparation en deux lignées : des formes promastigotes metacycliques infestantes, très mobiles, et des formes « altruistes », fixées sur la paroi intestinale du vecteur, lesquelles faciliteraient la régurgitation de formes metacycliques lors du repas sanguin suivant. Selon les conditions de température, la durée du cycle chez le phlébotome est fluctuée entre 4 à 7 jours. D'autres facteurs favorisent la transmission de la maladie lors la prise répétée de leur repas sanguin ce qui peut engendrer de multiplication des piqûres et donc l'augmentation des risques de transmission, les leishmanies sont alors probablement libérées et déposées passivement au niveau de la plaie de piqûre (Rodhain et Perez, 1985).

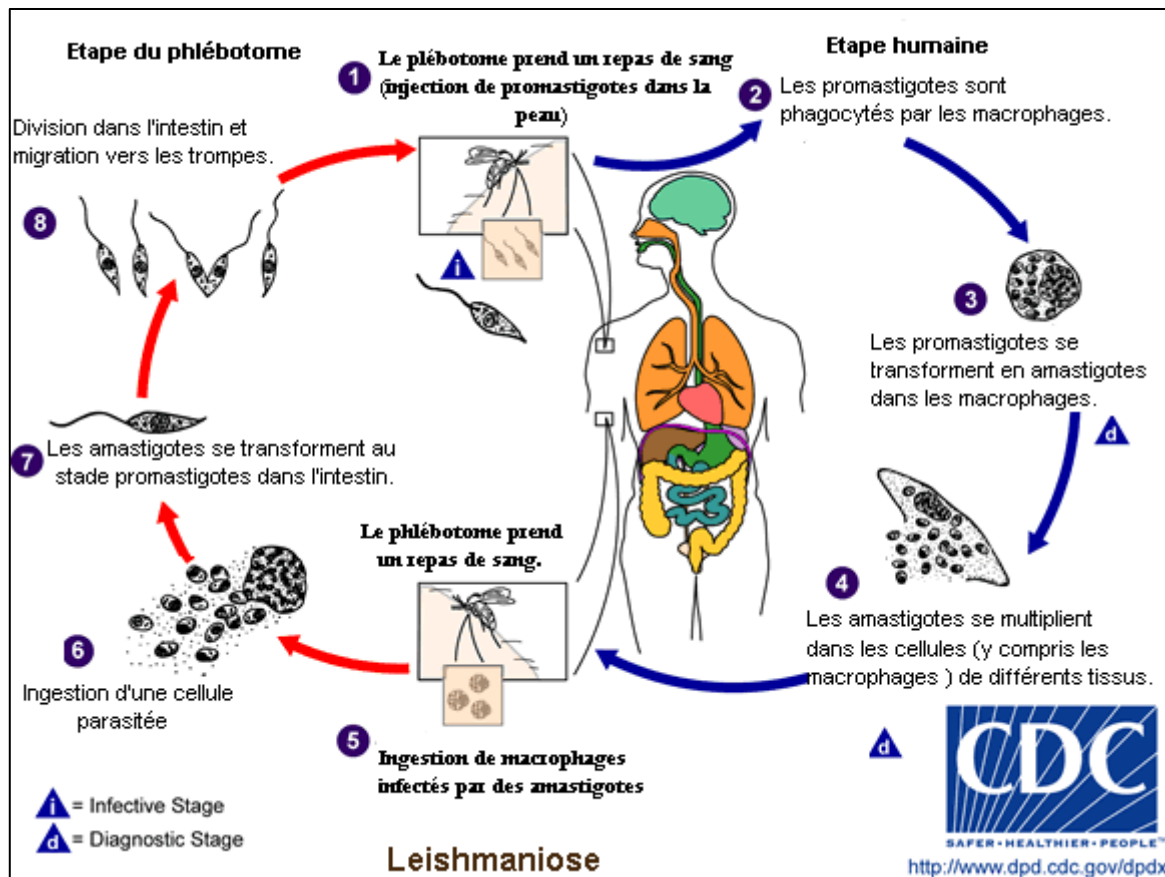


Figure 6: Cycle de transmission des leishmanioses (CDC, 2019)

1-Le phlébotome injecte les promastigotes (formes infectantes) durant le repas sanguin. 2-Les promastigotes sont phagocytés par les macrophages et 3-se transforment en amastigotes. 4-Les amastigotes se multiplient dans les cellules infectées et infectent différents tissus, en fonction (en partie) de l'espèce de leishmanie. Ceci est à l'origine des différentes manifestations cliniques des leishmanioses. (5,6) Le phlébotome s'infecte en prenant un repas sanguin sur un hôte infecté (il ingère les macrophages infectés par des amastigotes). 7-Dans l'intestin du phlébotome, le parasite se différencie en promastigotes, qui se 8- multiplient et migrent vers les glandes salivaires et les trompes.

3. Distribution géographique

La leishmaniose est une maladie infectieuse négligée, à transmission vectorielle qui sévit dans les pays les plus pauvres et les populations les plus vulnérables ayant un accès difficile aux services de santé. Ils ont une large distribution mondiale et la plupart des cas se produisent en Afrique, en Asie et dans les Amériques. Selon les estimations de l'OMS 2018, 200 918 nouveaux cas de LC et 22 233 nouveaux cas de LV ont été signalés pour l'année 2016 (OMS, 2018), les leishmanioses constituent un groupe de maladies parasitaires à transmission vectorielle qui touchent environ le nombre de personnes souffrant de leishmaniose est estimé entre 12 et 15 millions. Chaque année, environ 2 millions de nouveaux cas de leishmaniose se produisent, dont environ 50 000 à 90 000 nouveaux cas sont ceux infectés par la leishmaniose viscérale et entre 700 000 et 1 000 000 de nouveaux cas par la LC. Selon les rapports de

l'OMS, plus des deux tiers des nouveaux cas de leishmaniose cutanée en 2015 sont survenus dans six pays, dont le Brésil, la Colombie, l'Afghanistan et l'Iran (OMS, 2018). À l'échelle mondiale, la leishmaniose viscérale à *Leishmania donovani* (sous-continent indien et Afrique de l'Est) est au moins 100 fois plus fréquente que la leishmaniose viscérale à *L. infantum* (Bassin méditerranéen, Moyen Orient, Nord-Est brésilien, et sporadiquement en Asie, en Afrique et dans le reste de l'Amérique latine (OMS, 2010). La leishmaniose cutanée est plus largement distribuée. L'Afghanistan, l'Algérie, la Colombie, le Brésil, l'Iran, la Syrie, l'Ethiopie, le nord du Soudan, le Costa Rica et le Pérou sont les pays avec les cas enregistrés les plus élevés. Ensemble, ces pays représentent 70 à 75 % de l'incidence globale estimée de la LC (Alvar *et al.*, 2012). En ce qui concerne la leishmaniose muco-cutanée, Plus de 90 % des cas de leishmaniose muco-cutanée surviennent au Brésil, dans l'État plurinational de Bolivie et au Pérou (OMS, 2018). En 2016, la charge de la LV était mieux répartie parmi les Régions de l'OMS comparativement à celle de la LC, avec 30 % des cas de LV notifiés par la Région africaine, 30 % par la Région de l'Asie du Sud-Est, 22 % par la Région de la Méditerranée orientale et 15 % par la Région des Amériques, la Région européenne et la Région du Pacifique occidental n'ont notifié respectivement que 2 % et 1 % des cas dans le monde (OMS, 2018).

3.1. Distribution mondiale de la leishmaniose

Selon l'OMS, différentes formes de leishmaniose ont été signalées dans 89 pays et plus de 350 millions de personnes sont à risque (OMS, 2018). En réalité, tous les continents sont touchés par LC. Cependant, à l'Océanie le premier signalement de leishmaniose cutanée a été fait par Rose *et al.*, en 2004, chez les kangourous ce qui soulève la possibilité de transmission de LC à l'homme (Rose *et al.*, 2004). La maladie est déclarée en Europe du sud, dans de nombreux pays d'Afrique, du Moyen-Orient, d'Asie, d'Amérique centrale et d'Amérique de sud.

3.1.1. Répartition de la leishmaniose cutanée

C'est la forme la plus fréquente, qui provoque des lésions cutanées. Environ 95 % des cas de LC surviennent dans les Amériques, dans le bassin méditerranéen, au Moyen-Orient et en Asie centrale. En 2015, plus des deux tiers des cas ont été enregistrés dans les 6 pays suivants : l'Afghanistan, l'Algérie, le Brésil, la Colombie, la République arabe syrienne et la République islamique d'Iran. On estime qu'il y a entre 700 000 et 1 million de nouveaux cas chaque année dans le monde (OMS, 2018)(Figure 7). Elle est causée à la fois par des espèces de *Leishmania* différentes du Nouveau Monde et de l'Ancien Monde. Certaines leishmanies

sont propres au continent américain, tandis que d'autres ont été plus probablement importées de l'Ancien Monde (Momen *et al.*, 1993). Au niveau de l'ancien Monde, elle est causée par six espèces à savoir : *L. major*, *L. tropica*, *L. infantum*, *L. aethiopica*, *L. donovani* et *L. killicki* (OMS, 1990). Alors que dans le nouveau Monde, elle est causée par des espèces de *Leishmania* qui sont phylogénétiquement distinctes (Handman, 2001). En fait, une similitude a été retrouvée entre les isoenzymes de la *L. chagasi* en Amérique centrale et du sud et celles de *L. infantum* dans la région méditerranéenne et en Asie.

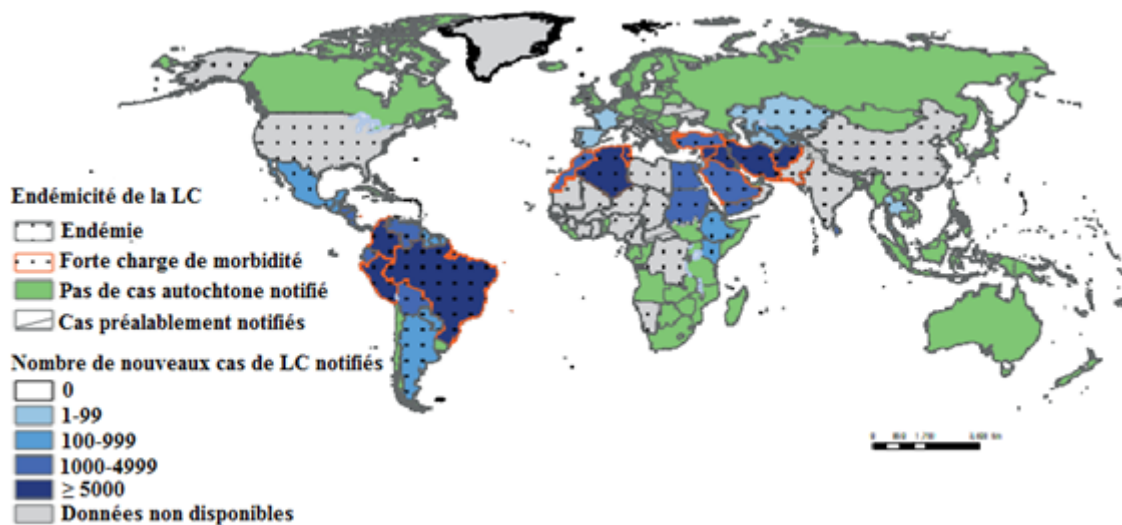
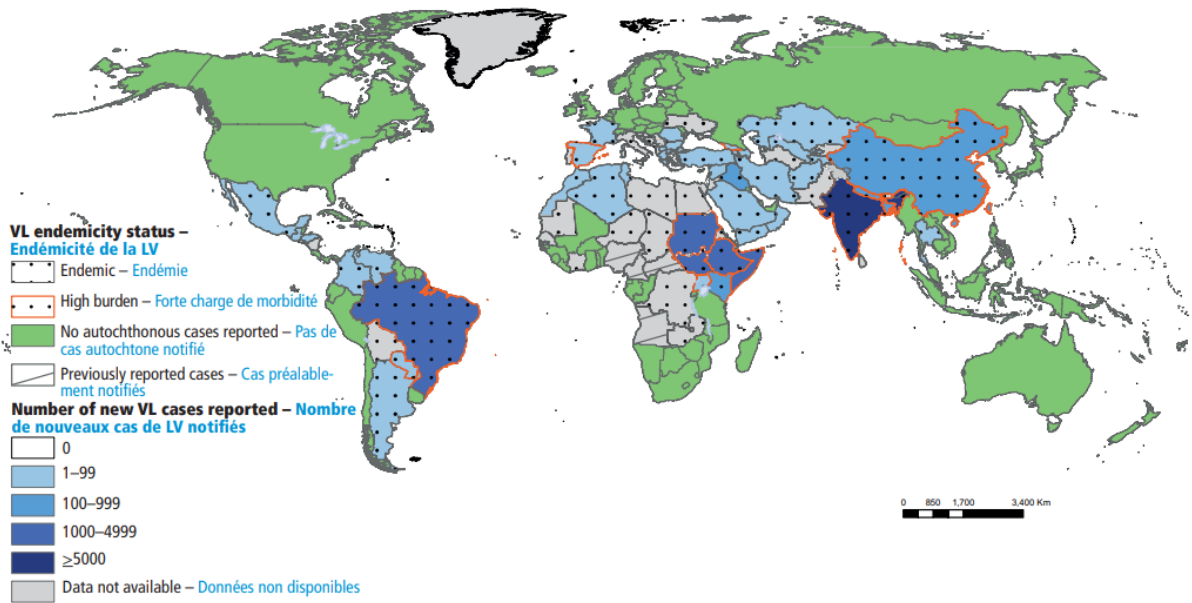


Figure 7: Répartition et endémicité de la leishmaniose cutanée (OMS, 2017).

3.1.2. Répartition de la leishmaniose viscérale

La leishmaniose viscérale (LV, également appelée kala-azar) est mortelle en l'absence de traitement. La plupart des cas sont enregistrés au Brésil, en Afrique de l'Est et Asie du Sud-Est. Selon les estimations, de 50 000 à 90 000 nouveaux cas de LV surviennent chaque année. En 2015, plus de 90% des cas notifiés à l'OMS se sont produits dans 7 pays : Brésil, Éthiopie, Inde, Kenya, Somalie, Soudan et Soudan du Sud (OMS, 2018). La LV est causée essentiellement par deux espèces *L. infantum* et *L. donovani* sevi au niveau de l'ancien monde. La LV due à *L. infantum* s'étend de l'Afrique occidentale jusqu'au Nord-Est de la Chine, mais elle touche en particulier la région méditerranéenne (Martinez *et al.*, 2013). Alors que la LV due à *L. donovani* se localise dans le sud de l'Europe et l'Ouest de l'Asie (Ashford *et al.*, 1999) (Figure 8).



3.2. Distribution de la leishmaniose au Nord de l'Afrique

l'Afrique du Nord est parmi les régions les plus touchées par la leishmaniose à l'exception de l'Égypte pour des raisons de sous-déclaration et manque d'informations épidémiologiques (Alvar *et al.*, 2012). En effet, les espèces responsables de la LC en Afrique du Nord sont : *L. major*, *L. tropica*, *L. killicki* et *L. infantum* (Aoun *et al.*, 2014 ; Jaouadi *et al.*, 2012) (Figure 9). La LV dans les pays d'Afrique du Nord, est décrite depuis le début du 20^e siècle. Le premier cas a été décrit en 1904 par Laveran et Cathoire chez un enfant de La Goulette, Tunisie (Nicolle, 1908). Actuellement, la LV est émergente et représente un vrai problème de santé publique en Algérie, au Maroc et en Tunisie en raison du taux de létalité estimé entre 5 et 8 % (même chez les patients traités), et de l'impact économique lié aux coûts de traitement et de l'hospitalisation (Aounet *et al.*, 2009).

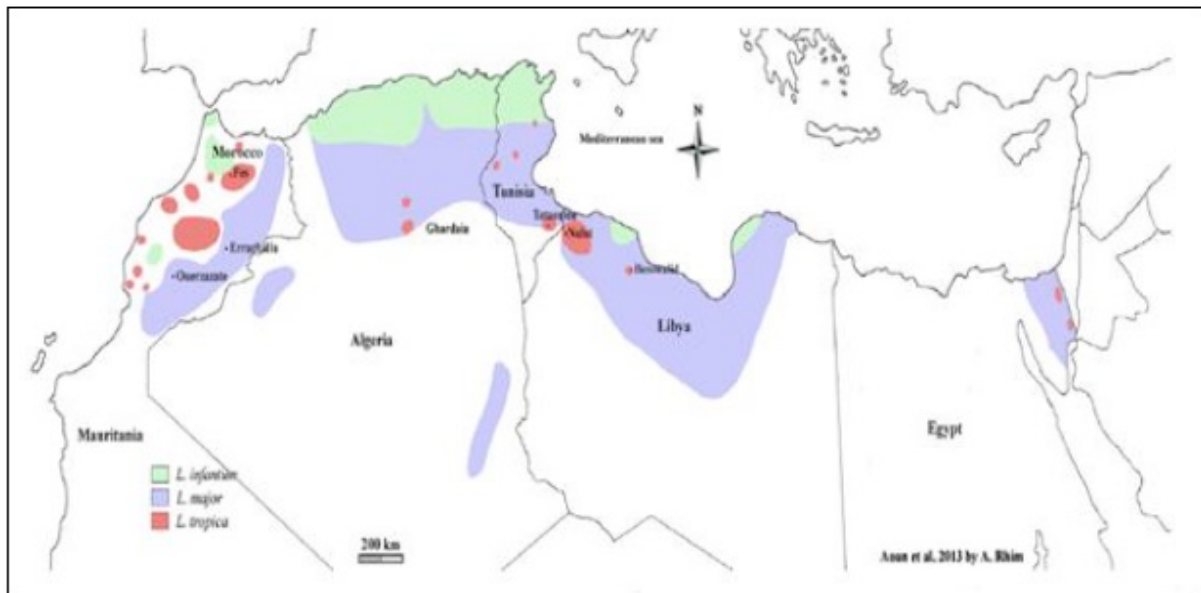


Figure 9: Distribution géographique de la leishmaniose cutanée au Nord de l'Afrique
(Aoun *et al.*, 2014)

En Égypte, la LC a été signalée pour la première fois dans le nord du Sinaï par Mansour et ses collaborateurs en 1987 ; selon l'analyse isoenzymatique, la LC est causée par *L. major* (Mansour *et al.* 1989). Une autre étude épidémiologique longitudinale de LC menée entre la période de juillet 1989 et juin 1991 au niveau du nord-est du désert du Sinaï a révélé que *L. major* était la seule espèce de *Leishmania* isolée chez l'homme, et dont le rongeur *Gerbillus pyramidum* était le réservoir responsable (Fryauff *et al.*, 1993). Généralement il existe peu de cas de LCZ en Égypte. Une étude a révélé la présence d'un isolat de *Zymodeme* London 70 chez trois individus examinés (Hamadto *et al.* 2003).

La leishmaniose viscérale due à *L. infantum* n'a été confirmée en Égypte qu'en 1983. Il s'agit principalement d'une maladie des populations rurales, mais dans certaines régions, la transmission urbaine existe (Awadalla *et al.*, 1987). En revanche, la LV due à *L. donovani* est moins fréquente et est généralement importée du Soudan (Mohareb *et al.*, 1996). Les vecteurs avérés ou suspectés de LV à *L. infantum* sont *P. ariasi*, *P. longicuspis*, *P. perniciosus*, *P. perfiliewi* et *P. langeroni* (Regional Disease Vector Ecology Profile, Afrique du Nord, 2000).

En Libye la LC est répandue dans la région nord-ouest elle due à *L. major* et *L. tropica* MON- 8 (El-Buni *et al.*, 2000 ; Aounet *et al.*, 2006 ; Bounoua *et al.*, 2013). Le premier cas a été signalé en 1930 (Onorato, 1931). Par la suite, quarante autres cas ont été déclarés à Nalut, près de la frontière tunisienne (Kadiki et Ashraf, 1971). La plupart des cas de LC ont été enregistrés à l'ouest et au sud-ouest de Tripoli essentiellement dans les villes et les zones

rurales d'activité agricole (El-Buni *et al.*, 2000). Des espèces de phlébotomes (*P. papatasi* *P. sergenti*) ont été retrouvées en Libye dans la région de Yafran, Des rongeurs sauvages, dont *Meriones libycus*, *M. shawi* et *Gerbillus gerbillus*, ont été trouvés dans la zone étudiée et ont été considérés comme des réservoirs de LC en Lybie (El-Buni *et al.*, 2000).

La leishmaniose viscérale est un problème de santé publique important en Libye, mais jusqu'en 1992, sa prévalence exacte était inconnue (Mehabresh et El-Mauhoub, 1992).

En Tunisie trois formes clinico-épidémiologiques de leishmaniose cutanée sont présentes : leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) ; à caractères épidémique au centre et au sud-ouest); leishmaniose cutanée sporadique (LCS; sévit au nord) et la leishmaniose cutanée chronique (LCC; se localise essentiellement à Tataouine, dans le sud-est) (Kallel *et al.*, 2005). La leishmaniose cutanée zoonotique est due à *L. major* pour LCZ, à *L. infantum* pour la LCS et à *L. tropica* pour la LCC (Kharfi *et al.*, 2003).

Des études récentes de Ghrab *et al.* (2006) sur des vecteurs de leishmaniose ont montré la prédominance des espèces du sous-genre *Larrousius* dans les foyers nord. *P. papatasi* était une espèce dominante dans les foyers LCZ. Dans les foyers du sud-est de LC due à *L. killicki*, *P. sergenti* était l'espèce dominante à côté de *P. perniciosus*, tandis que dans les foyers centraux où *L. killicki* est émergent, *P. perniciosus* était l'espèce dominante dans certains sites alors qu'il est très rare dans les autres. Ainsi, le sous-genre *Paraphlebotomus* était toujours présent en Tunisie avec une plus grande abondance de *P. alexandri* que de *P. sergenti*. Les rongeurs *Psammomys obesus* et *Meriones spp.* servent d'hôtes réservoirs de *L. Major* (Ghrab *et al.*, 2006).

La LCZ en Tunisie est caractérisée par un polymorphisme clinique (Masmoudi *et al.*, 2007). Les formes classiques les plus répandues sont la forme ulcéreuse et la forme en croûte. Ainsi, d'autres formes cliniques ont été observées ; lupoïde, loco-régionale (forme sporotrichoïde, papules satellites). Certaines formes atypiques peuvent être trouvées, dues à la variation des réponses immunitaires de l'hôte et à la souche parasitaire impliquée.

Une étude récente par PCR a révélé les trois premiers cas documentés de leishmaniose cutanée anthroponotique due à *L. killicki* dans des sites extérieurs au foyer original de Tataouine, dans le sud-est de la Tunisie. Trois souches ont été isolées chez trois patients de Gafsa, Sidi Bouzid et Seliana, ce qui indique une extension de la gamme de ce parasite vers le centre et le nord de la Tunisie (Haouas *et al.*, 2005).

Les activités humaines telles que les modifications de l'environnement, la réinstallation de populations non immunisées ou le développement de projets agro-industriels, les activités

militaires, l'urbanisation, ont des effets directs sur l'incidence accrue de LCZ (Kamarianakis *et al.*, 2007). De plus, les modifications environnementales, telles que la construction de barrages, peuvent modifier la température et l'humidité du sol et de la végétation, ce qui peut entraîner des modifications de la composition et de la densité des espèces de phlébotomes, ainsi que des modifications des populations des espèces de rongeurs. Ainsi, les populations non immunisées facilitent l'apparition de la leishmaniose (Kamarianakis *et al.*, 2007).

La LV est principalement infantile et touche les enfants de moins de 13 ans. Le premier cas de LV en Tunisie a été signalé par Laveran et Cathoire en 1904 (Laveran et Cathoire, 1904). Elle est causée par *L. infantum* et son cycle de transmission de ce parasite est zoonotique mais pas bien élucidé. L'identification isoenzymatique du parasite isolé a révélé trois zymodèmes d'un seul taxon de *L. Infantum* (MON-1, MON-24 et MON-80) (Haouas *et al.*, 2012). Le chien, principal réservoir de *L. infantum*, a été identifié récemment comme réservoir du zymodème MON-1 et véhiculé par *P. perniciosus* comme un vecteur potentiel (Ben Ismail, 1993 ; Benikhlef *et al.*, 2009 ; Haouas *et al.*, 2012). Géographiquement, la LV est principalement distribuée dans les stades bioclimatiques humides, sub-humides et semi-arides du pays (Bouratbine *et al.*, 1998 ; Haouas *et al.*, 2012).

En Algérie, la LC est connue de longue date sous le nom de clou de Biskra ou Hab essana, elle a été décrite par Hamel en 1860 (Sergent, 1923). L'Algérie compte parmi les pays les plus touchés dans le monde par cette maladie, avec 54 145 cas déclarés entre 2000-2005 et une extension géographique en tache d'huile avec apparition de nouveaux foyers (Achour, 2008). Deux formes de LC sont endémiques en Algérie. La LCZ par *L. major* est répandue dans les steppes du nord du Sahara tandis que la LC sporadique causée par *L. infantum* est présente dans le nord du littoral (Benikhlef *et al.*, 2004). Le principal agent responsable de la forme sporadique est le zymodème MON-24 de *L. infantum*. Il a été isolé du vecteur de phlébotomes *P. perfiliewi* et le principal réservoir est le chien (Benikhlef *et al.*, 2004).

La leishmaniose viscérale est signalée en Algérie depuis le début du XX^e siècle (Lemaire, 1911). En Algérie, la LV est causée par *Leishmania infantum* et les chiens considérée comme le principal réservoir du parasite (Abranches *et al.*, 1991 ; Solano-Gallego *et al.*, 2001). Elle est due à *L. infantum* zymodème MON-1, véhiculé par deux espèces de phlébotome, *Phlebotomus perniciosus* et *P. longicuspis* (Izri *et al.*, 1990 ; Killick-Kendrick, 1990). Ainsi, les zymodèmes MON-33, MON-34 et MON-78 ont également été signalés dans très peu de cas de LV (Harrat *et al.*, 1999). La répartition géographique de LV couvre toutes les régions humides et sub-humides du nord du pays (Addadi et Dedet, 1979). La maladie

touche principalement les enfants de moins de 5 ans, la plupart appartenant à des familles pauvres résidant en zone rurale (Belazzouget *al.*, 1985 ; Harratet *al.*, 1992).

4. Leishmanioses humaines au Maroc

Au Maroc, comme dans la plupart des pays touchés, les leishmanioses constituent un vrai problème de santé publique (Mahjour *et al.*, 1992). La leishmaniose viscérale et les trois formes de leishmaniose cutanée (leishmaniose à *Leishmania. tropica*, à *Leishmania major* et à *Leishmania infantum*) sont toutes décrites au Maroc depuis la fin du XIX^e siècle. Suite à la diffusion continue de la maladie, le problème est devenu l'une des priorités du ministère de la santé (Rami 2003 et Rhajaoui 2009). En 2009, une étude a montré la présence d'une nouvelle forme clinique causée par *L. infantum* cutanée pour la première fois au niveau de la province de Taounate (Rhajaoui, 2009). Au Maroc, les leishmanioses sont des maladies diverses : anthroponotique pour *L. tropica* qui est fortement endémique et zoonotique pour *L. major* et *L. infantum* (Laamrani, 2000). Les réservoirs sont des rongeurs pour *L. major* et des Canidés pour *L. infantum*.

La répartition géographique selon les étages bioclimatiques montre une distribution de *L. major* dans les régions sahariennes, *L. tropica* dans les zones arides, semi-arides et humide et *L. infantum* dans le nord et les régions centrales et sub-humides (Figure 10).

D'après les études antérieures réalisées (LNRL, 2019), la leishmaniose peut être illustrée en deux formes noso-cliniques dans le royaume, à savoir :

- La Leishmaniose Viscérale (LV)
- La Leishmaniose Cutanée (LC)

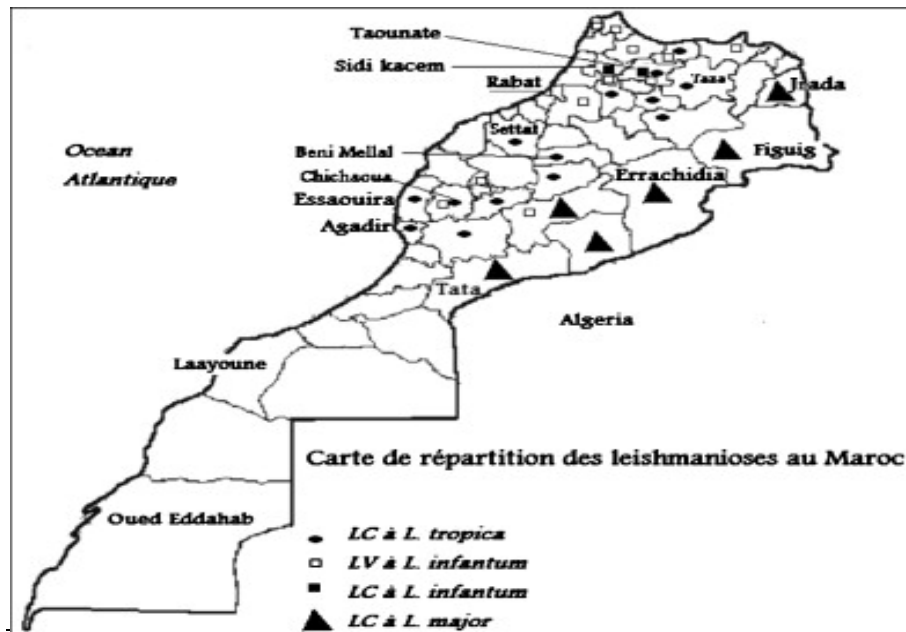


Figure 10: Répartition des espèces *Leishmania* au Maroc (Rhajaoui, 2011)

4.1. Leishmaniose viscérale à *Leishmania infantum*

La leishmaniose viscérale humaine (infantile) est plus fréquente au Maroc. La première observation de la LV humaine a été signalée en 1922 par Kippel et Monier-Vinard à Meknès. Les études réalisées dans les années suivantes, ont montré une grande affection au niveau du pays. Elle est surtout localisée dans les régions du Nord : Tanger (Remlinger, 1921 ; Souhail, 1994), mais des cas sporadiques de LV ont été observés dans d'autres régions notamment au Sud (Dereure *et al*, 1986 ; DELM, 2000). Récemment, à travers les travaux et les rapports réalisés par les différents acteurs de santé publique on a constaté que cette forme endémique se localise essentiellement dans les régions du Rif et de pré-Rif (Al Hoceima, Tetouan, Chefchaouen, Taza, Taounate, Sidi Kacem, Fès, Meknès et Nador). De plus, au cours des deux dernières décennies, la situation épidémiologique de la LV a considérablement changé. Elle a acquis un statut de plus en plus épidémique avec l'expansion géographique dans des zones auparavant indemnes de plusieurs provinces du Maroc. De 1990 à 2014, 56 provinces sur 75 ont signalé au moins un cas de LV (Mniouil, 2016). Géographiquement, la forme de la LV est répandue dans tout le pays (Mniouil, 2016). L'agent responsable est *Leishmania infantum* MON-1, comme agent étiologique commun des LV au pourtour méditerranéen (Rioux et Risipail, 1984).

Cette zoonose, dont le chien est le réservoir, est transmise par trois vecteurs suspectés appartenant au sous-genre *Larroussius* ; *P. Perniciosus* et le *P. ariasi* dans les stations

humides et sub-humides au Nord du pays et *P. longicuspis* dans le sud du pays (Dereure *et al.*, 1986).

4.2. Leishmaniose cutanée

La LC humaine est fortement endémique au territoire marocain. Elle est subdivisée en 3 entités bio-épidémiologiquement différentes : *L. major*, *L. tropica* et *L. infantum*. Cette complexité bio-épidémiologique se reflète dans la diversité des formes de leishmaniose cutanée : les trois espèces sont toutes présentes de façon distinctes, par leurs prévalences, leurs distributions et leurs cycles de transmission.

4.2.1. Leishmaniose cutanée à *Leishmaniatropica*

C'est une anthroponose due à *L. tropica* MON-102 dont le vecteur prouvé est *P. sergenti* et le réservoir est l'Homme (Guilvard *et al.*, 1991 ; Rami 2003). L'épidémiologie de la leishmaniose cutanée due à *L. tropica* au Maroc est bien plus complexe, et moins bien comprise, que celle de la leishmaniose viscérale et de la leishmaniose cutanée zoonotique (OMS, 2010). Les premières constations de cette anthroponose due à *L. tropica* ont été faites par Marty *et al* en 1989 à Nice, suite au diagnostic d'un enfant marocain ayant séjourné à Tanant dans la province d'Azilal (Marty *et al.*, 1989). Au fil des années, le Maroc a connu des poussées épidémiques leishmaniennes dues à *L. tropica*. En fait, la majorité des cas humains sont localisés au niveau des foyers d'Azilal (Arroubet *et al.*, 2016), Essaouira (Pratlong *et al.*, 1991), Taza (Guessous, 1999; Hakkour, 2016), Zouagha MyYacoub dans la région de Fès (Rhajaoui *et al.*, 2004; Fellah *et al.*, 2007), Sefrou (Hmamouch, 2014), Boulemane (Hmamouch, 2017), El Haouz (Ramaoui, 2006 ; Ramaoui *et al.*, 2008 ; Boussaa *et al.*, 2009) et au foyer de Chichaoua (Guernaoui *et al.*, 2005 et 2006 ; Bacaër et Guernaoui, 2006; Rhajaoui *et al.*, 2012).

Récemment, de nouveaux foyers actifs de *L. tropica* ont été identifiés dans les zones périurbaines ou même dans les localités rurales, ce qui témoigne d'une extension massive de *L. tropica* vers des régions limitrophes indemnes où les facteurs de risque sont fortement présents. De plus, l'étude biochimique enzymatique de *L. tropica* a révélé la présence de plusieurs zymodèmes : (***L. tropica* MON-102, MON-107, MON-112, MON-113, MON-122 et MON-123**), à partir des souches isolées chez l'homme, le chien et le vecteur ce qui signifie un polymorphisme de zymodèmes chez *L. tropica* (Pratlong *et al.*, 1991).

4.2.2. Leishmaniose cutanée à *L. major*

Leishmania major est le principal agent étiologique de la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ). Au Maroc, on sait que LCZ existe depuis plus d'un siècle dans les vastes régions arides pré-sahariennes depuis 1914 (Rioux, 1986). Elle est devenue épidémique depuis 1976, avec de violentes flambées (OMS, 1993). Au fil des années, la LCZ a commencé à s'installer dans un macro-foyer avec un caractère épidémique, elle s'étendait de la côte atlantique au Sud de l'Anti-Atlas jusqu'à la région d'Oujda passant par les zones sahariennes au Sud du Haut et de l'Anti-Atlas et à l'Est du Moyen Atlas (Rhajaoui *et al.*, 2007 ; DELM, 2007). Pratiquement, elle se localise dans six provinces à savoir les provinces d'Errachidia, Figuig, Jerada, Ouarzazate, Boulemane, Tinghir et Zagora (Rhajaoui *et al.*, 2007 ; Riyad *et al.*, 2013).

La condition bio-écologique contrôle la dynamique de transmission de la maladie. En effet, la LCZ évolue sous forme d'épidémies localisées dont la majorité des cas sont dépistés entre la fin de l'automne et la fin de l'hiver. En moyenne, le nombre de cas de LCZ variait de 1 000 à 2 000 cas par an. Le nombre de cas de LCZ persiste avec une recrudescence au cours des années 1990 et 1991, suivie d'une légère accalmie, puis une réapparition de la maladie sous forme endémoépidémique notée en 1998 à 2001 dont le nombre de cas ne dépassait pas les 550 cas. Par la suite, en 2008 la situation de LCZ a connu une poussée épidémique durant laquelle le nombre de cas a atteint 3 000 cas. Cette ascension a continué pour atteindre un pic de 6 444 cas en 2010. Suite au lancement du plan national de riposte contre la LC, une nette diminution des cas a été constatée en 2014 (DELM, 2014). Actuellement, et depuis 2015, la situation épidémiologique a connu une réémergence de cette forme dans certains foyers tels que Jerada, Ouarzazate, Tinghir et Errachidia (DELM, 2015). Ceci a été dû à la difficulté des actions de lutte contre la LC. En outre, Le cycle épidémiologique, de cette forme dite rurale, s'appuie sur la présence dans ses sites de répartition, d'un rongeur commensal, *Meriones shawi* grandis, alors que l'espèce de phlébotome vectrice est le *P. papatasi* (Rioux *et al.*, 1982). L'analyse enzymatique des souches isolées a prouvé que l'isolat de *L. major* MON-25 est le seul zymodème de cette espèce qui se focalise au Maroc (Maazoun *et al.*, 1986).

4.2.3. Leishmaniose cutanée à *L. infantum*

C'est une forme sporadique montrant des lésions uniques, ulcéro-croûteuses ou lupoïdes, évoluant pendant au moins 2 ans. Rioux et ses collaborateurs ont signalé le premier cas marocain dans le Rif Central et précisément à Taounate en 1995. La seule variante dermatrope rapportée au Maroc est le zymodème MON-24 (Rioux *et al.*, 1996). Cette variante a également été isolée chez un chien domestique (Benikhlef *et al.*, 2004). Le ministère de la

santé considère toujours que les LC dues à *L. infantum* évoluent sporadiquement. Or, leurs cycles de transmission ne sont pas bien élucidés (Chaara *et al.*, 2014) ; elles sont le plus souvent associées aux foyers de *L. tropica* (Haralambous *et al.*, 2007). De plus, Les études moléculaires réalisées au LNRL, entre 2014 et 2015 ont révélé la présence de plus en plus de cas dans les provinces d'Ouazzane, Sidi Kacem (El Miri *et al.*, 2016), Fès, Moulay Yacoub et Taza (Hakkour *et al.*, 2016), Tangier-Tetouan-Al Hoceima (Hakkour *et al.*, 2019).

4.3. Données épidémiologiques de la leishmaniose cutanée au Maroc

Au cours de ces dernières années, la situation épidémiologique des leishmanioses a pris une allure de plus en plus épidémique avec une extension géographique vers des zones auparavant indemnes. Selon les données épidémiologiques de douze régions du pays cité ci-dessous, les cas de LC déclarés au cours du période 2000 à 2017 étaient soit appartenant à l'espèce *L. tropica* ou *L. major*. Ces déclarations se basaient sur le diagnostic direct microscopique et la clinique. La région représentant la plus forte proportion du pays d'endémie pour la LC était la région de Drâa-Tafilalet (proportion de 76 %), suivie de la région de Marrakech-Safi (20 %), région Fès-Meknès (18 %), région Béni Mellal-khénifra (15 %), et la région oriental (10 %) (Figure 11 ; Annexe I).

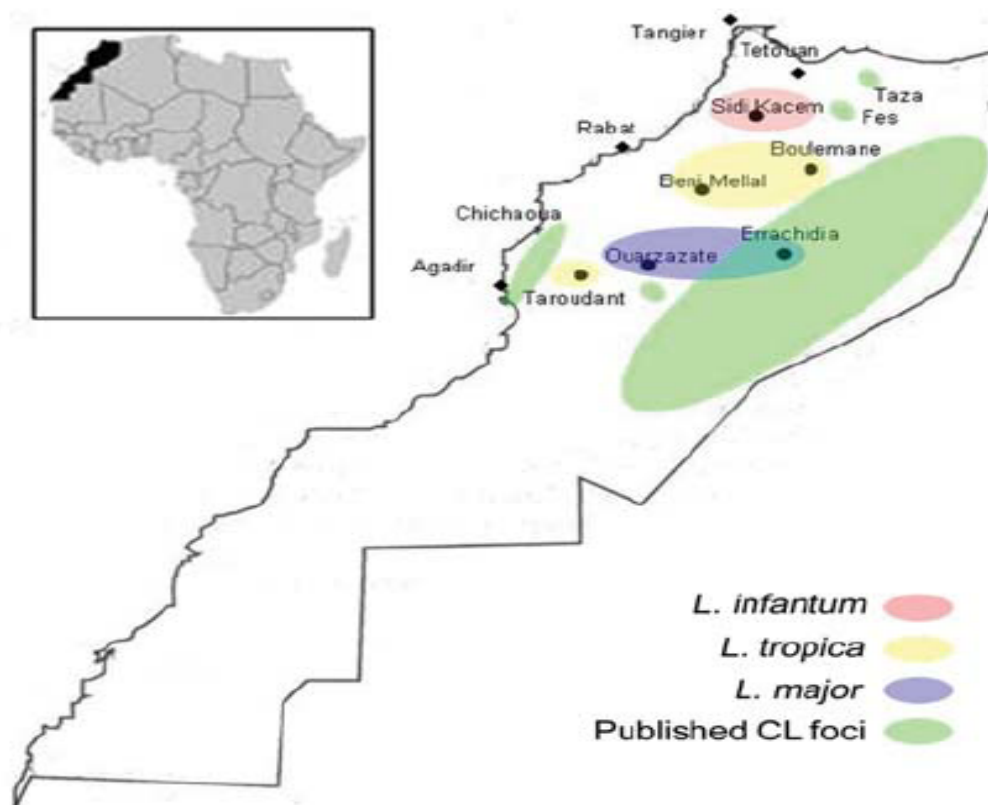


Figure 11: répartition des cas et des espèces de la leishmaniose cutanée au Maroc
(Rhajaoui, 2007)

5. Leishmaniose et VIH

La co-infection VIH-*Leishmania* est une forme compliquée majeure de la maladie, qui a été systématiquement sous-déclarée dans de nombreuses zones d'endémie (OMS, 2007) et pour laquelle des directives cliniques insuffisantes ont été établies (Diro *et al.*, 2015). L'infection opportuniste par *Leishmania* sévit dans les zones d'endémie où l'homme est la seule source d'infection pour le phlébotome vecteur, en raison de la présence et de l'abondance des leishmanies dans leur sang périphérique, ceci constitue un facteur de risque individuel qui favorise la propagation de la maladie (UNAIDS, 1998 ; Desjeux et Alvar, 2003). La LV est considérée comme maladie opportuniste chez les patients infectés par VIH. Cependant, l'infection par le VIH augmente de 100 à 2300 fois le risque de développer une LV, ceci conduit presque toujours, en absence de traitement, à une impasse mortelle (Sanchez *et al.*, 2004 ; Alvar *et al.*, 2008, Diro *et al.*, 2014).

La co-infection LV/VIH est apparue en 1980 dans le Sud de l'Europe et s'est étendue dans le sud Asie du sud et dans la Corne de l'Afrique (Sanchez *et al.*, 2004 ; Alvar *et al.*, 2008). Elle touche 35 pays à travers le monde ; 70 % des cas de la LV chez les adultes infectés par le VIH existe en Europe de sud-ouest à savoir la France, l'Italie, Portugal et l'Espagne (Ezra *et al.*, 2010). Au Maroc, malgré le nombre important de cas diagnostiqués de la LV et du VIH, le premier cas autochtone de la co-infection *Leishmania infantum*-VIH a été signalé dans la région Marrakech-Safi (Echchakery, 2017).

6. Facteurs de risques

Les leishmanioses sont des maladies infectieuses émergentes complexes pour plusieurs raisons, à savoir, la multiplicité des cycles parasitaires, la diversification des espèces parasites, réservoirs et vecteurs ainsi que leurs interactions avec l'environnement. Selon l'OMS (2015), les facteurs tels que le changement climatique, l'évolution des agents pathogènes, l'aggravation de la lutte contre les vecteurs ainsi que les changements sociodémographiques et environnementaux, dans le contexte de la croissance de la population et de l'urbanisation incontrôlée et souvent rapide, peuvent faciliter et aggraver la propagation géographique de cette maladie. Ainsi, la prévalence élevée de la leishmaniose dans le monde est principalement imputable à l'augmentation de plusieurs facteurs de risque clairement liés à l'homme, tels que la forte migration, la déforestation, l'urbanisation et l'immunodépression. Cependant, l'environnement et les mouvements de population entraînent probablement des modifications du nombre, du porteur malade, de la densité des vecteurs et des réservoirs et,

par conséquent, peuvent augmenter l'exposition humaine aux phlébotomes infectés (Assimina *et al.*, 2008).

Généralement, cette maladie affecte la communauté rurale pauvre et l'épidémie se produit pendant les saisons de récolte (Bashaye, 2009). Au cours de la saison des récoltes, un grand nombre d'agriculteurs ou des travailleurs dans le domaine agricole des régions montagneuses se déplacent vers les zones endémiques pour la récolte des cultures. Ceci conduit à la propagation de la leishmaniose viscérale, ce qui entraîne une forte morbidité et mortalité (Desta, 2005).

➤ **Socio-économiques**

La leishmaniose est généralement plus fréquente dans les zones rurales que dans les zones urbaines ; mais on la trouve à la périphérie de certaines villes. L'un des principaux facteurs de risque est le phénomène de la pauvreté. La leishmaniose tend à affecter les populations les plus pauvres et marginales (Boelaert *et al.*, 2009), en particulier les personnes proches des ressources en eau, vivant dans des maisons humides et situées à proximité des déchets accumulés, des égouts et des fermes d'élevage. Aussi, les populations de bidonville vivant dans des maisons sous-développées présentent un risque de leishmaniose, à cause de la boue, des salles de chaume ou des murs fissurés (Bern *et al.*, 2010 ; Hasker *et al.*, 2012). Généralement, les personnes pauvres du milieu rural sont souvent touchées par cette maladie en raison de la diminution de niveau de vie, de leur malnutrition, du système immunitaire faible et pour certains du mode de vie nomade.

➤ **Mouvement de la population et l'urbanisation**

La leishmaniose représente une menace particulière pour les populations urbaines, surtout pour les pays à revenu faible et intermédiaire qui enregistrent des taux d'urbanisation rapides. Les fortes densités de population et le manque de logement et d'assainissement adéquats favorisent la reproduction des vecteurs dans les conteneurs et les débris que l'on trouve habituellement près des maisons. L'un des principaux facteurs de risque est le phénomène mondial de l'urbanisation, étroitement liée à la forte augmentation de la migration (OMS, 2002). Pour des raisons socio-économiques, démographiques, culturelles, religieuses, politiques et environnementales, un nombre croissant de personnes ont été contraintes d'abandonner leur village pour aller vivre à la périphérie des villes, dans les banlieues pauvres (OMS, 2002). Dans les zones urbaines des pays en développement, les constructions humaines se sont constituées de telle façon qu'elles ont entraîné l'expansion rapide de grandes

agglomérations urbaines où l'habitat et l'assainissement sont inadéquats, ce qui favorise la propagation de maladies transmissibles telles que la leishmaniose. En effet, l'urbanisation et la migration des zones rurales vers les villes périurbaines avec un logement et des conditions sanitaires inadéquates ont entraîné une augmentation des épidémies de leishmaniose dans différentes parties du monde (Desjeux, 2001).

Selon l'OMS (2002), l'urbanisation va de pair avec une mobilité accrue à l'échelle mondiale. En tant que facteur de risque, elle affecte chacune des entités éco-épidémiologiques de la leishmaniose, trois d'entre elles en particulier : la leishmaniose cutanée zoonotique, la leishmaniose cutanée anthroponotique et la leishmaniose viscérale zoonotique. En région tropicale et subtropicale, la population urbaine peut entrer en contact avec un cycle sylvatique déjà existant dans les régions rurales voisines, à la suite d'une urbanisation rapide et anarchique. L'incidence annuelle atteint des milliers de cas par suite de la très grande proximité de la forêt où la leishmaniose cutanée est zoonotique. Dans nombre de villages et de villes, on signale un taux d'infection supérieur quand les établissements humains sont en bordure de la forêt à portée du cycle sylvatique. Le taux de transmission baisse rapidement au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la forêt, la capacité de vol des phlébotomes étant limitée (Oliveira *et al.*, 2001).

Dans certains pays de l'Ancien Monde, la non planification de l'urbanisation a fait entrer des populations urbaines dans les cycles zoonotiques de la leishmaniose cutanée et entrainer des épidémies (Oliveira *et al.*, 2001).

Au Maroc, Au cours des cinq dernières années, l'effet de l'urbanisation a été observé pour la leishmaniose. En effet, la situation épidémiologique de la LC a considérablement changé. Il a acquis un statut de plus en plus épidémique avec une expansion géographique dans des zones péri-urbains auparavant indemnes dans plusieurs provinces du sud-est du Maroc (Kahime, 2016).

Le manque d'accès aux centre de soins retarde le diagnostic et le traitement appropriés aussi le coût élevé du diagnostic et le traitement de la leishmaniose aggrave l'appauvrissement et renforce le cercle vicieux de la maladie et de la pauvreté (Alvar *et al.*, 2006).

Une étude de 2006 qui a examiné l'impact économique de la LV au Népal a constaté que le coût moyen du traitement de la LV était supérieur au revenu annuel du ménage par habitant (Rijal *et al.*, 2006). Il a été également constaté que les coûts directs, c'est-à-dire les coûts directement liés au traitement (tels que les frais de consultation, le paiement des tests de laboratoire et des médicaments) représentaient 53 % des coûts totaux, tandis que les coûts

indirects résultaient principalement de la perte de gains en raison de la maladie (Rijal *et al.*, 2006). Certaines familles, ont contracté des emprunts d'intérêt élevé ou vendu une partie de leur bétail pour payer un traitement. Bien que les services de soins de santé soient généralement fournis gratuitement dans les pays en développement, l'impact socioéconomique de leishmaniose pour ces ménages concernés reste supportable en raison de leur prise en charge (Adhikari *et al.*, 2009).

Au Maroc, les soins médicaux pour les patients atteints de leishmaniose sont fournis gratuitement et comprennent les coûts directs associés à la maladie, tels que le diagnostic, les médicaments, les soins de santé primaires et les frais d'hospitalisation. Cependant, les coûts indirects tels que la perte d'emploi et l'impact sur l'individu, la famille et la société, ainsi que les coûts intangibles associés à la stigmatisation n'ont jamais été estimés.

➤ **Risques des changements climatiques**

La répartition géographique de la leishmaniose est liée aux conditions environnementales qui peuvent influencer la distribution et la densité du vecteur (phlébotome) et de l'hôte réservoir (Dedet, 2001). En effet, les conditions climatiques influencent directement la répartition des leishmanioses à travers, les éléments de son cycle de transmission (vecteur, réservoir) mais aussi indirectement à travers les sécheresses, les famines et les inondations entraînant des déplacements et migrations massives, la malnutrition ou encore affaiblissement de l'immunité des populations. Le facteur limitant dans le cycle de la leishmaniose est donc le vecteur, dont les caractéristiques écologiques limitent l'extension. Des études réalisées sur *P. perniciosus* et *P. ariasi* montrent que ces espèces sont endo-exophiles et ont une capacité de dispersion limitée. Leur distribution est liée à de nombreux facteurs environnementaux, dont la végétation, l'altitude et le climat (hygrométrie, vent, température) (Rioux, 1969).

Des études récentes ont montré que la répartition géographique et l'abondance des vecteurs et des réservoirs de la leishmaniose sont directement ou indirectement influencées par des facteurs environnementaux (paramètres météorologiques, changements de la végétation et de la topographie) (Patz *et al.*, 2008 ; OMS, 2010).

Il est bien entendu que la leishmaniose est fortement liée directement à la température et à l'humidité, en l'effet la température agit sur la survie, le développement, et l'activité des phlébotomes (OMS, 2010 ; Hlavacova *et al.*, 2013), ou indirectement par l'effet de l'environnement sur l'abondance saisonnière des espèces vectrices (Lawyer et Perkins, 2000).

Effectivement, la distribution mondiale des phlébotomes est limitée aux zones qui ont au moins un mois avec une température moyenne de 20 °C (Lawyer et Perkins, 2000). En dessous de 10 °C, les phlébotomes doivent entrer dans un état de dormance pour survivre à l'hiver, réduisant ainsi la population reproductrice (Medlock *et al.*, 2014). Les phlébotomes sont sensibles aux changements brusques de température et préfèrent généralement les zones présentant une petite différence de températures maximales et minimales. À mesure que les températures augmentent, cela accélère la maturation du parasite *Leishmania* et augmente également le risque d'infection. Cependant, si les conditions climatiques sont trop chaudes et sèches, le taux de survie des vecteurs diminue et la maladie peut disparaître de certaines régions (Lawyer et Perkins, 2000 ; Medlock *et al.*, 2014). Des études actuelles dans différentes parties du monde montrent que dans les endroits où la température a augmenté, en raison des changements climatiques, la prévalence de la LC a augmenté plusieurs fois (Bounoua *et al.*, 2013).

En plus d'une température appropriée, une humidité suffisante dans l'environnement est requise pour la croissance des phlébotomes, car l'humidité est un facteur important pour la survie des œufs (Lawyer et Perkins, 2000). Cependant, les pics de précipitations peuvent entraîner une réduction du nombre des vecteurs car les précipitations excessives réduisent la quantité de sites de repos appropriés pour les insectes adultes et limitent l'activité de vol des adultes, ainsi que la mort des œufs (Lawyer et Perkins, 2000 ; Medlock *et al.*, 2014).

7. Aspect clinique de la leishmaniose

Selon les espèces impliquées, l'expression clinique de la leishmaniose peut être viscérale avec fièvre, anémie et splénomégalie ou cutanée.

7.1. Leishmaniose viscérale

Généralement, la leishmaniose viscérale touche les organes humains profonds (rate, foie, moelle osseuse), où le parasite cible, les cellules réticulo-endothéliales (Sabri, 1994). Cette forme, dite infantile, touche essentiellement les enfants et peut, en l'absence de traitement, entraîner la mort (Desjeux 2004).

7.2. Leishmaniose cutanée

C'est la forme la plus courante, elle est endémique dans 87 pays dans le monde entier avec 50-75 % de tous les nouveaux cas de leishmaniose, et selon les estimations, le nombre de nouveaux cas par an est de 500 000 à 1 000 000. Les pays de la région méditerranéenne représentent environ 57 % de la charge totale de la maladie (OMS, 2018). Il s'agit d'une

infection cutanée de la peau sans extension vers les organes profonds. Suite à la localisation et la durée de la lésion, les manifestations dermatologiques cliniques varient de nodule, papule à ulcère associé ou non à une lymphangite nodulaire. Actuellement, trois formes cliniques de LC sont connues à savoir ; la leishmaniose cutanée localisée (LCL), la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM), et la leishmaniose cutanée diffuse (LCD).

7.2.1. LC due à *Leishmania major*

L. major est connue pour causer des lésions cutanées localisées (LCL). La manifestation clinique classique de la lésion provoquée par ce parasite est de type « humide » dite rurale, avec un nodule infiltré, creusé ulcéreux au centre et recouvert d'une croûte. Les lésions sont souvent gravement enflammées, ulcérées et guérissent spontanément en deux à huit mois. Souvent, ces lésions sont multiples, pour cette forme de la LC l'évolution de lésion est souvent lente et peut laisser de grandes cicatrices, défigurantes ou invalidantes. Sa période d'incubation est souvent inférieure à quatre mois (OMS, 2010).

En outre, un polymorphisme de cette forme ulcéreuse classique a été observé (Rioux *et al.*, 1986a; Ysmail-Dahlouk *et al.*, 1994; El-Buniet *et al.*, 1997; Rhajaoui *et al.*, 2007; Zait et Hamrioui, 2009; Er-Rami, 2012; Abdellatif *et al.*, 2013). Ce polymorphisme a été signalé en Tunisie avec 11 formes cliniques différentes (végétative, impétiginoïde, érysipéloïde, nécrotique, verruqueuse, érythémato-squameuse, lupôïde, sporotrichoïde, papuleuse, eczéma et récidivans) (Masmoudi *et al.*, 2005, 2006, 2008) (Figure 12).



Figure 12: Polymorphisme clinique des lésions cutanées de *L. major* (Chaara *et al.*, 2014)
(a) ulcéro-croûteuse (b) nodulaire, (c) ulcéreuse, (d) érythémato-squameuse et (e) nodulo-papuleuse.

7.2.2. LC due à *Leishmania tropica*

Cliniquement, *L. tropica* provoque une lésion LCL unique dite sèche, lupoïde, petite de diamètre de 2 cm, auto-cicatrisante, généralement, elle se localise au niveau des parties découvertes du corps, principalement sur le visage et les autres organes (Marty *et al.*, 1989; Chiheb *et al.*, 1999) (Figure 13). La durée d'incubation est longue et peut atteindre un an ou parfois deux ans (OMS, 2010). Aussi, un polymorphisme multiple de cette forme cutanée a également été observé (Geussous-Idrissi *et al.*, 1997; Rhajaoui *et al.*, 2007).



Figure 13: Lésion unique sèche et légèrement inflammatoire du visage causé par *L. tropica*(Aoun et Bouratbine, 2014)

7.2.3. LCL due à *Leishmania infantum*

Cliniquement cette forme sporadique est caractérisée par une petite lésion ulcérée sur le visage qui dure jusqu'à trois ans (Chaffai *et al.*, 1988; Rioux *et al.*, 1996; Bachi, 2006). En plus de cet aspect classique, un polymorphisme clinique a été observé en Tunisie, au Maroc et en Algérie avec des lésions érythémateuses, papulonodulaires, nodulaires et muqueuses (Belhadj *et al.*, 2003; Kallel *et al.*, 2005; Rhajaoui *et al.*, 2007; Benmously -Mlika *et al.*, 2008; Zait *et al.*, 2009)(Figure 14).



Figure 14: Lésion nodulaire causée par *L. infantum*(Chaara *et al.*, 2014)

8. Diagnostic

L'examen clinique des cas suspects, le diagnostic parasitologique et l'immunodiagnostic sont les méthodes de routine disponibles pour le diagnostic de la leishmaniose. La détection du parasite est la seule voie pour confirmer la maladie d'une manière concluante (Molyneux et Ashford, 1983). Cependant, le diagnostic biologique peut faire appel à une recherche cytologique ou histologique de leishmanies et une PCR sur prélèvements lésionnels.

8.2. Diagnostic clinique

Il est basé essentiellement sur l'observation des symptômes généraux et spécifiques présentés par le patient. Le tableau clinique est souvent protéiforme et il ne faut donc pas se baser sur une liste réduite de symptômes. En effet, la LV et LC pose des problèmes de diagnostic clinique différentiel, en raison de ses diverses observations cliniques (Magill *et al.*, 2005). Les caractéristiques cliniques de la leishmaniose tégumentaire sont diverses, selon les espèces de *Leishmania* impliquées et les facteurs de l'hôte, y compris le statut immunitaire. Cependant, l'évolution initiale de la lésion est similaire au site de la piqûre d'insecte. Après une période d'incubation de 2 semaines à 3 mois, une petite papule ou nodule érythémateux qui démange apparaît, parfois précédée ou accompagnée d'une hypertrophie drainante des ganglions lymphatiques (Walton *et al.*, 1987 ; Machado *et al.*, 2002) . Le diagnostic clinique est difficile pour les formes viscérales, qui simulent une hémopathie maligne. Les observations cliniques sont associées à des éléments épidémiologiques. Le lien épidémiologique entre les individus dans une zone endémique est évident, Il constitue une information importante pour le diagnostic clinique des personnes vivant dans des zones non endémiques qui ont passé un certain temps dans des zones endémiques pour la leishmaniose (Tableau6).

Tableau 6: Diagnostic différentiel de la leishmaniose cutanée (Handler *et al.*, 2015)

Diagnostic différentiel de LC		
Infectieuse	Tumeurs malignes pouvant imiter la LC	Autres
Ecthyma	Carcinome basocellulaire	Xanthomatuberosum
Furoncle	Carcinome épidermoïde	Sarcoïdose
Escarboucle	Lymphome	Pyodermagangrenosum
Sporotrichose		Morsure d'insecte
Blastomycose nord-américaine		
Paracoccidiomycose		
Tuberculose cutanée		
Gomme syphilitique		
Pian		
Infection à Prototheca		
Condylomaacuminata		
<i>Lupus vulgaris</i>		
Lèpre tuberculeuse		
Myiase cutanée furonculaire		
<i>Tungiasis</i>		

8.3. Diagnostic immunologique

Il est utile essentiellement en cas de leishmaniose viscérale. La leishmaniose viscérale s'accompagne d'une réponse immunitaire humorale, avec apparition de titres élevés d'anticorps sériques, qui peuvent toutefois faire défaut chez l'immunodéprimé. Les leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses sont peu expressives sur le plan sérologique. Les techniques présentent une excellente sensibilité mais une spécificité variable. Les techniques immunologiques les plus utilisées sont l'ELISA, et d'hémagglutination. L'immunoempreinte (western blot) est la technique la plus sensible (SFM, 2015). Aucun outil sérologique n'est disponible pour le diagnostic de routine du LC. Cependant, les réponses des anticorps chez les patients atteints de LC ont tendance à être faibles dans les formes localisées, ce qui ne favorise pas l'utilisation systématique de telles techniques immunologiques (Goto *et al.*, 2010 ; Kar (1995).

8.4. Diagnostic parasitologique

C'est un examen plus spécifique pour le diagnostic de leishmaniose, il repose essentiellement sur la mise en évidence de parasite.

8.4.1. Prélèvement cutané

Le prélèvement se déroule selon les étapes suivantes : la lésion cutanée est soigneusement désinfectée après avoir enlevé les croûtes qui la recouvrent. Ensuite, la lésion subit un raclage par le biais d'un vaccinostyle stérile et à usage unique. Enfin, le produit de raclage ainsi réalisé et le recueil des sérosités serviront à la réalisation des frottis cutanés (OMS, 2014).

8.4.2. Examen microscopique

L'examen microscopique est une technique de mise en évidence du parasite qui apporte le diagnostic de certitude. Les matériels biologiques utilisés sont notamment le frottis de moelle osseuse ou l'étalement sur lame de grattage cutané coloré au May-Grünwald Giemsa. Après la coloration des frottis, les parasites de leishmania sont recherchés au microscope optique au grossissement (objectifx100) en utilisant l'huile à immersion. Les formes amastigotes de *Leishmania* sont observées libres ou intracellulaires, dans les cellules phagocytaires, macrophages. En effet, l'efficacité de l'examen varie selon la forme clinique et diminue avec l'ancienneté des lésions (Murray *et al.*, 2005 ; Del Giudice *et al.*, 1998). La sensibilité de l'examen direct varie ; l'étude de Reithingeren 2007 a montré que la sensibilité de l'examen direct est de l'ordre de 89,3 %. Les qualités intrinsèques de cet examen sont très liées à l'expérience du lecteur.

8.5. L'examen par la culture

Le milieu utilisé pour la culture est le milieu Novy-Mac Neal- Nicolle (NNN). La culture sur ce milieu permet la croissance des formes promastigotes à partir des grattages cutanés, des ponctions ou des biopsies, ainsi la souche isolée est utilisée à des fins scientifiques. C'est une technique longue, qui dure entre une et trois semaines et est utilisée principalement par les laboratoires de recherche (Murray, 2005 ; Chouih, 2009).

8.6. Méthodes moléculaire par PCR

Au cours des dernières années, plusieurs méthodes basées sur la PCR, y compris les dosages par PCR en temps réel, ont été développées pour la détection, la quantification et

l'identification des espèces de *Leishmania*, améliorant ainsi le diagnostic moléculaire de la LC (Moreira *et al.*, 2017). La PCR entemps réel permet de déterminer la charge parasitaire, et d'assurer le suivi des patients pendant et après traitement, ce qui permet de prévoir les récives (Francino, 2006 ; Manna, 2008). La PCR sur le prélèvement lésionnel est considérée comme l'outil de laboratoire le plus sensible pour le diagnostic de LC.

8.6.1. Identification des espèces de *Leishmania*

L'identification des espèces fait appel à des techniques biochimiques (électrophorèse des isoenzymes, qui reste la technique de référence) et moléculaires (PCR-RFLP, PCR, PCR en temps réel, *Loop Mediated Isothermal Amplification* [LAMP], *Nucleic Acid Sequence Based Amplification* [NASBA]) (Reithinger *et al.*, 2007). Cependant, l'électrophorèse enzymatique multi-locus (MLEE) est considérée depuis de nombreuses années comme l'étalon-or du typage des espèces de *Leishmania* (Ochsenreither *et al.*, 2006, Van der Auwera *et al.*, 2014). Dans ce contexte, plusieurs essais de typage d'espèces des leishmanies ont fait l'objet d'études publiées récemment (Van der Auwera, 2015). L'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) est une technique basée sur la PCR dans laquelle le produit d'amplification de l'ADN est digéré avec un ou plusieurs enzymes de restriction (endonucléases) et les fragments de restriction sont ensuite analysés par électrophorèse (Van der Auwera, 2015 ; Rotureau *et al.*, 2006). Avant l'avènement des protocoles de PCR, les espèces de *Leishmania* étaient identifiées en se basant sur des techniques enzymatiques telles que multi-locus-enzyme-electrophoresis (MLEE) et multilocussequencetyping (MLST). Plusieurs techniques ont été utilisées en combinaison à savoir : le dosage d'ADN kinétoplaste (ADNk) en combinaison avec l'analyse RFLP, ainsi la PCR basée sur les amorces Heat-Shock- Protein 70 (HSP70) en combinaison avec l'analyse RFLP et le séquençage. Le typage parasitaire basé sur le séquençage HSP70 a montré un accord parfait avec MLEE (Van der Auwera, 2013). Avec l'apparition de techniques de séquençage beaucoup moins coûteuses, cela pourrait devenir à l'avenir la norme de référence pour l'identification des espèces de *Leishmania*. Contrairement à MLEE, les méthodes basées sur la PCR peuvent être appliquées directement aux échantillons cliniques et ne nécessitent pas d'isolement / culture (Bennis, 2017).

8.7. Diagnostic génétique

Actuellement, des méthodes de typage alternatives sont en cours de développement, en particulier, basées sur les caractéristiques génétiques du parasite. Les méthodes basées sur la

PCR en combinaison avec l'analyse ou le séquençage du polymorphisme de longueur des fragments de restriction permettent une discrimination correcte des espèces. Au cours de la dernière décennie, plusieurs gènes cibles ont été identifiés à cet effet. Une cible largement utilisée est le gène du mini-exon, qui est impliqué dans le processus de trans-épissage de l'ARN messenger nucléaire, et est présent sous forme de copies répétées en tandem de 100 à 200 par génome nucléaire. Chaque répétition se compose de trois parties principales qui font du mini-exon un excellent marqueur de génotypage (Marfurt *et al.*, 2003). Marfurt et ses collègues (Marfurt *et al.*, 2003) ont développé une technologie de typage largement utilisée comprenant un test PCR amplifiant toutes les séquences de mini-exons dans une seule réaction en utilisant des amorces universelles, permettant une discrimination préliminaire entre les principaux complexes (c.-à-d. les complexes de l'Ancien et le Nouveau Monde de *Leishmania*, et Nouveau Monde de *Viannia*) en raison de la variabilité des tailles des produits d'amplification. Le schéma de génotypage par mini-exon PCR-RFLP a été validé avec des souches de référence de l'OMS cultivées de *Leishmania* et des isolats cultivés de patients (Marfurt *et al.*, 2003). Cette méthodologie est désormais largement utilisée comme un outil à haute résolution, sensible et spécifique qui peut identifier toutes les espèces de *Leishmania* cliniquement pertinentes (Hodiamont *et al.*, 2014 ; Kent *et al.*, 2013 ; Imani *et al.*, 2014). Les gènes candidats alternatifs pour le typage sont les gènes HSP70, hexokinase et phosphoglucomutase pour plusieurs espèces de l'Ancien Monde (Marfurt *et al.*, 2003) et les régions du gène HSP70 pour les espèces du Nouveau Monde (Graca *et al.*, 2012, Fraga *et al.*, 2012). Les outils d'identification des espèces basés sur HSP70 sont potentiellement applicables à l'échelle mondiale dans différents contextes cliniques et d'échantillonnage, et ils pourraient devenir la méthode de référence pour l'identification des espèces de *Leishmania* dans les échantillons cliniques (Montalvo *et al.*, 2012).

9. Traitement

Suite à l'absence de vaccin efficace pour prévenir la LC les options thérapeutiques disponibles sont limitées. Cependant, pendant des décennies le traitement de première intention repose sur l'utilisation d'antimoniote de méglumine ou de stibogluconate de sodium, lesquels étaient en général bien tolérés et efficaces. Ils sont leishmanicides par inhibition des enzymes de glycolyse et d'oxydation des acides gras des leishmanies. L'existence d'effets secondaires toxiques, ainsi que l'apparition de *Leishmania* résistantes ont conduit à l'utilisation d'autres traitements en seconde ligne ou pour des

catégories spécifiques de patients: amphotéricine B liposomale (AmBisome®), paromomycine (Paromomycin®) et miltéfosine (Impavido®) (Den Boer *et al.*, 2011).

Après des années d'utilisation empirique de ces produits, une mise à jour récente des traitements et leur voie d'administration de LC a été résumée par Buffet *et al.* (2010) le tableau 7 désigne les médicaments les plus utilisés pour la LC et bien connus pour leurs effets secondaires.

Tableau 7: Anti-leishmaniens utilisables et principaux effets secondaires en cas d'administration systémique (Buffet *et al.*, 2010)

Famille	Molécule	Spécialité	Cible d'action	Principaux effets secondaires ^a
Polyène	Amphotéricine B désoxycholate	Fungizone®	Altération membranaire par fixation à l'ergostérol	Toxicité rénale (Fungizone® >>> AmBisome®), hypokaliémie, fièvre, frissons, nausées, vomissements
	Amphotéricine B liposomale	AmBisome®		
Dérivé pentavalent	Antimoniote de méglumine	Glucantime®	Synthèse de l'ATP lors des métabolismes bioénergétiques (glycolyse, métabolisme	Toxicités cardiaque, hématologique, hépatique et rénale, asthénie, anorexie, céphalées, nausées, vomissements, myalgies, arthralgies, DRESS ^b
Hexadecyl-phosphocholine	Miltéfosine	Impavido®	Cytostatique	Téatogénicité, diarrhées (50 % des cas), nausées, vomissements, intolérances rénale ou hépatique
Diamidine	Iséthionate de pentamidine	Pentacarinat®	Synthèse de l'ADN	Toxicités rénale et hématologique, troubles du métabolisme glucidique (hypoglycémie jusqu'au diabète définitif) et troubles électrocardiographiques
Azole	Fluconazole	Triflucan®	Synthèse de l'ergostérol	Bonne tolérance générale, nausées, flatulences, douleurs abdominales, diarrhées, rashes
Anti-ischémique et anti-TNF	Pentoxifylline	Torental®	Anti-TNFα	Troubles digestifs (rares) Allergie, flush, hypotension

^b DRESS : Syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse (Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms).

Partie II : ZONE D'ÉTUDE

Depuis 2015 le Maroc se dote d'un nouveau découpage territorial ; Il compte désormais 12 régions selon le Décret n°2.15.10 du 20 février 2015, fixant le nombre des régions, leurs noms, leurs Chefs-lieux et les préfectures et provinces les composant, publié au Bulletin Officiel n° 6340 du 05 Mars 2015 (HCP, 2015). Les provinces d'Agadir Ida-Ou-Tanane, Inezgane-Aït Melloul, Chtouka-Aït Baha, Taroudannt, Tiznit, Tata sont regroupées à la région de **Souss-Massa**. Alors-que les provinces d'Errachidia, Ouarzazate, Midelt, Tinghir et Zagora sont nommées **Drâa-Tafilalet** selon le nouveaudécoupage administratif du royaume (HCP, 2015)(Figure 15et16).Ces deux régions auparavant étaient groupées en une seule région appelée **Souss-Massa-Drâa**, et se localisant au centre du royaume et s'étendant sur une superficie de 72 506 km², soit 10 % du territoire national, Elle était composée de sept provinces : **Agadir, Inzgane Aït Melloul, Chtouka Aït Baha, Taroudant, Tiznit, Ouarzazate et Zagora**

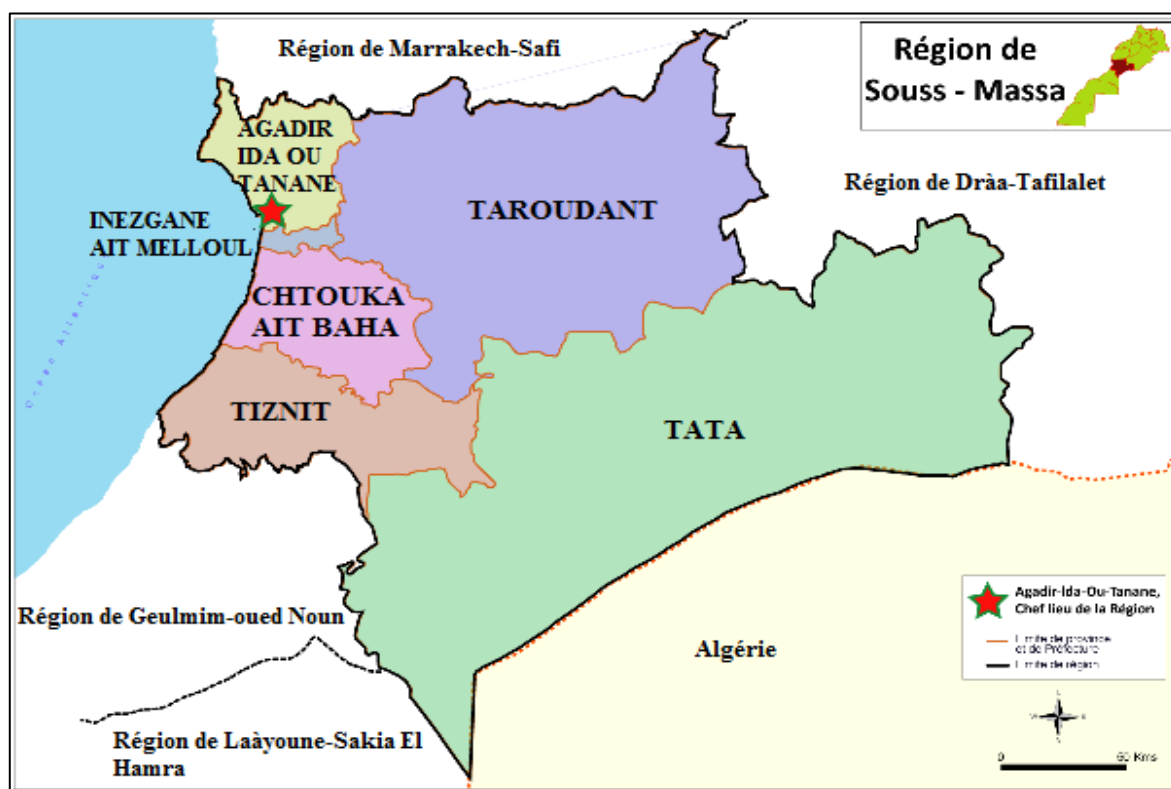


Figure 15: Découpage administratif de la région de Souss-Massa (HCP, 2015)

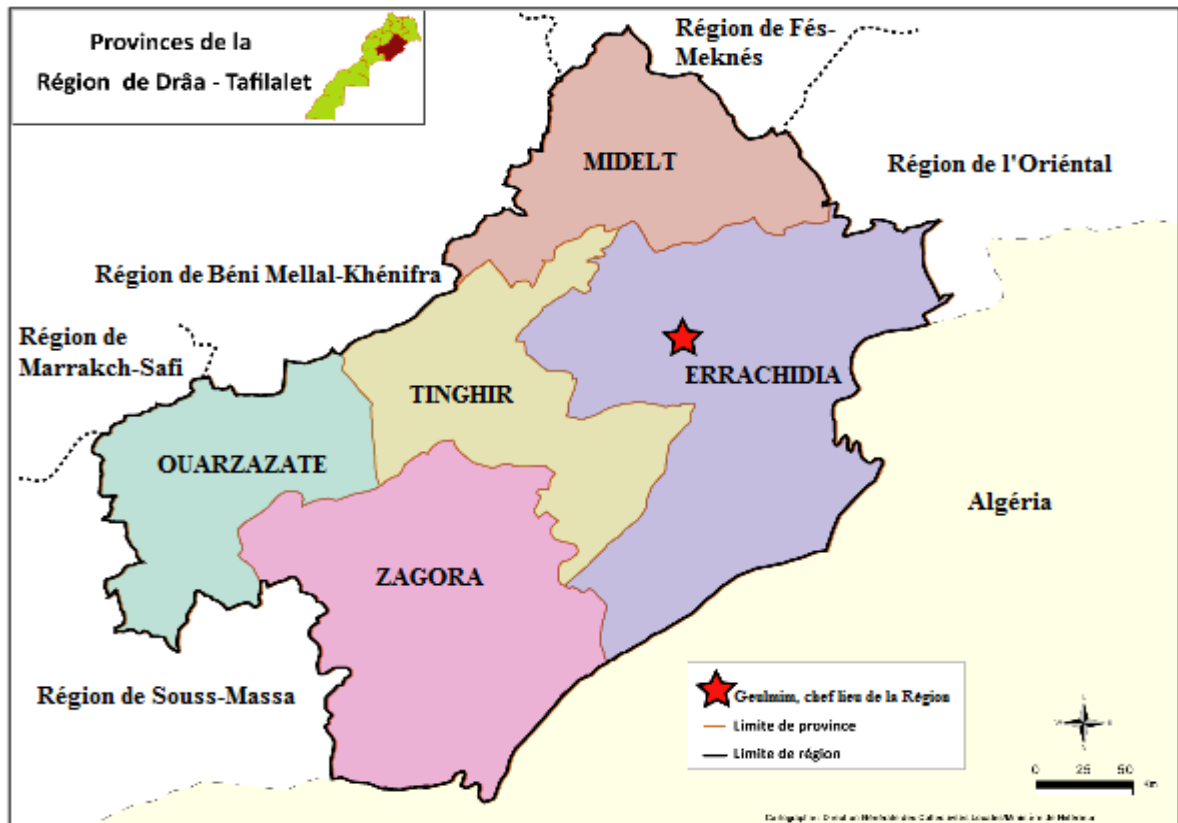


Figure 16: Découpage administratif de la région de Drâa-Tafilalet (HCP, 2015)

1. Cadre administratif

1.1. Région Souss-Massa

La région de **Souss-Massa** est parmi 12 régions du Maroc et s'étend sur une superficie de 53 789 km² et compte 2 676 847 habitants (RGPH, 2014), soit une densité de 49,8 habitants au km² et une superficie de 7,57 % du territoire national. Elle est limitée au Nord par la région de Marrakech-Safi, à l'Est par la région de Beni Mellal-Khénifra, au Sud-Est par la région de Drâa-Tafilalet, au Sud par les régions de Guelmim-Oued Noun et Lâayoune-Sakia el Hamra et à l'Ouest par l'Océan Atlantique. Cette région est formée de 2 préfectures : Agadir Ida Outanane et Inezgane Ait Melloul et de 4 provinces : Chtouka Ait Baha, Tiznit, Taroudannt et Tata. Le nombre de communes est de 175 dont 21 urbaines et 154 rurales soit à peu près 12 % de l'ensemble des communes à l'échelon national.

1.2. Région Drâa Tafilalet

La région de **Drâa-Tafilalet** dite zone oasienne dont 46 % de la superficie des zones oasiennes marocaines, s'étend sur une superficie de 88 836 Km², soit 12,5 % du territoire national. Les communes oasiennes de la région occupent 78 290 km² de la superficie. Cette région est limitée au Nord par la région de Fès- Meknès et la région de Beni Mellal-Khénifra, à l'Est par

la région de l'Oriental et l'Algérie, à l'Ouest par la région de Marrakech-Safi et la région de Souss-Massa et au Sud par l'Algérie. La région compte 1 635 008 habitants dont 34,30 % sont urbains, taux nettement inférieur au taux national (60,36 %) ; la densité est de 18,4 habitants au km², très inférieure par rapport à la moyenne nationale (47,6 hab/km²) (RGPH 2014).

2. Cadre géographique

2.1. Région Souss-Massa

Cette région est composée de plusieurs domaines géographiques distincts : la bordure sud occidentale du Haut Atlas, la bordure nord-occidentale de l'Anti-Atlas, entre les deux la moitié occidentale de la plaine du Souss, prolongée vers le sud par la plaine des Chtouka. Elle se situe dans la zone présaharienne au sud du Maroc et sous forme d'un large bassin encadré par des unités topographiques bien identifiées, constituées de plaines (Souss, Chtouka-Massa) et de montagnes (Haut Atlas au Nord et Anti Atlas au Centre et à l'Est). Cette région est caractérisée par une diversité géographique :

Des chaînes de montagnes composées du Haut Atlas et l'Anti-Atlas qui divisent la région en deux grandes vallées : la vallée du Souss-Massa constituée par les plaines du Souss, de Chtouka et de Massa, et la partie ouest de vallée du Drâa.

Des plaines composées principalement des plaines du Souss et Chtouka localisées dans la partie ouest de la région et où l'activité agricole est particulièrement bien développée.

Des oasis, dans la zone Sud de la région et qui constituent un prolongement des oasis de la vallée de Drâa.

Du désert renfermant des formes de relief spécifiques, le Djebel Ouarkiz et le Djebel Bani, la Hamada de Drâa ainsi que de vastes plaines caillouteuses appelées Ergs et Regs dominées par des versants des oueds.

2.2. Région Drâa Tafilalet

La région **Drâa-Tafilalet** s'étend sur des unités géographiques distinctes et quise situe à la lisière du Sahara. Elle regroupe les unités géographiques des « Dir » de l'Anti-Atlas, la vallée du Drâa, la vallée de l'Oued Ziz, et le Tafilalet. Il s'agit d'un immense couloir pré-désertique, formé de deux grands ensembles :

- **Le Bassin du Drâa**, il correspond au haut bassin de l'Oued Drâa situé en amont du barrage Mansour Eddahbi et à la moyenne vallée du Draa irriguée à partir de ce barrage jusqu'au niveau de M'hamid.

- **Le Bassin du Ziz- Rhéris**, correspond aux bassins versants des deux oueds Ziz et Rhéris. Il est limité au Nord par le bassin de la Moulouya, au Nord-Ouest par le bassin de l'Oum-Rbia, l'Ouest par le bassin du Drâa, l'Est par le bassin de Guir et au Sud par l'Algérie. Cette unité est située en grande partie dans la province d'Errachidia. Seul le haut Todgha en amont de Tinjdad, fait partie de la Province de Ouarzazate.

3. Cadre Climatique

3.1. Région Souss-Massa

Le climat est à la fois aride à semi-aride le relief, la côte océanique et le Sahara, dont l'intensité de l'aridité augmente au fur et à mesure que l'on se déplace vers la plaine(Figure 17). De plus, le nord de la région, où domine l'Atlas, est caractérisé par un climat humide, à semi-aride. En progressant vers la plaine, qui occupe le contrebas du relief de l'Atlas ainsi que les bassins de Souss et de Massa, on retrouve un climat aride. Enfin, la partie sud et sud-est de la région qui compose le côté nord dominé par un climat désertique. La pluviométrie moyenne dans le bassin du Souss-Massa est de 280 mm dans la vallée de l'oued Souss et de 265 mm dans la vallée de l'oued Massa, elle peut même atteindre les 800 mm dans les zones montagneuses du Haut –Atlas. La présence de la mer atténue les écarts de température ; elle varie de 11 °C à 27 °C avec une moyenne de 19 °C. L'ensoleillement est de l'ordre de 3 000 heures /an.

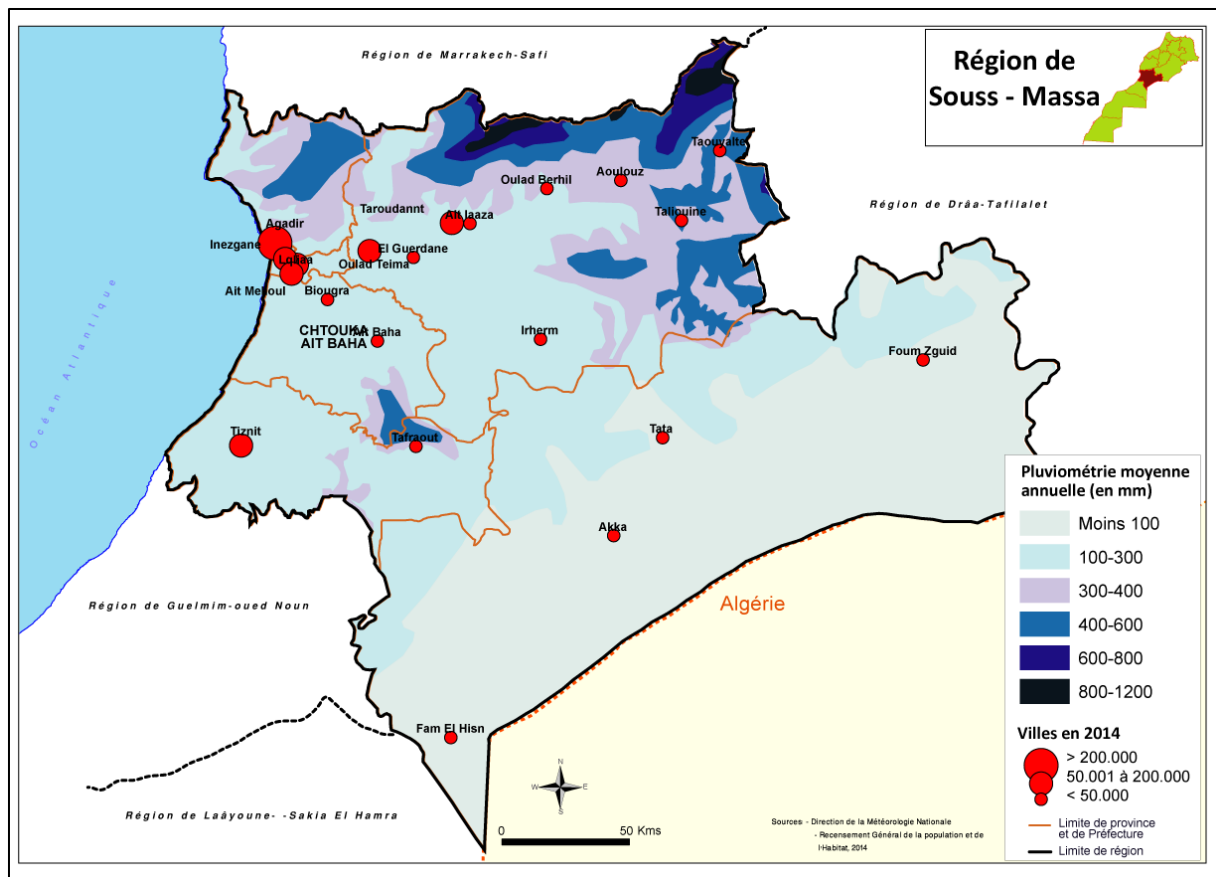


Figure 17: Pluviométrie moyenne annuelle de la région Sous-Massa (HCP, 2015)

3.2 Région de Drâa-Tafilalet

Le climat de Drâa Tafilalet est à prédominance semi-désertique, compte tenu de sa situation géographique (Figure 18), les principaux traits de ses caractères climatiques sont :

- Un écart thermique important entre les températures très élevées de l'été (42 °C comme moyenne) et celles très basses de l'hiver (-0,5 °C comme moyenne).
- Des précipitations faibles et réparties de façon irrégulières dans le temps et dans l'espace. La majorité du territoire reçoit moins de 100 mm de pluie par an.
- L'évaporation forte, de l'ordre de 2 000 à 3 000 mm/an.
- Des vents enregistrant des vitesses supérieures à 57,6 km/h au mois de mai, juin, juillet et août.

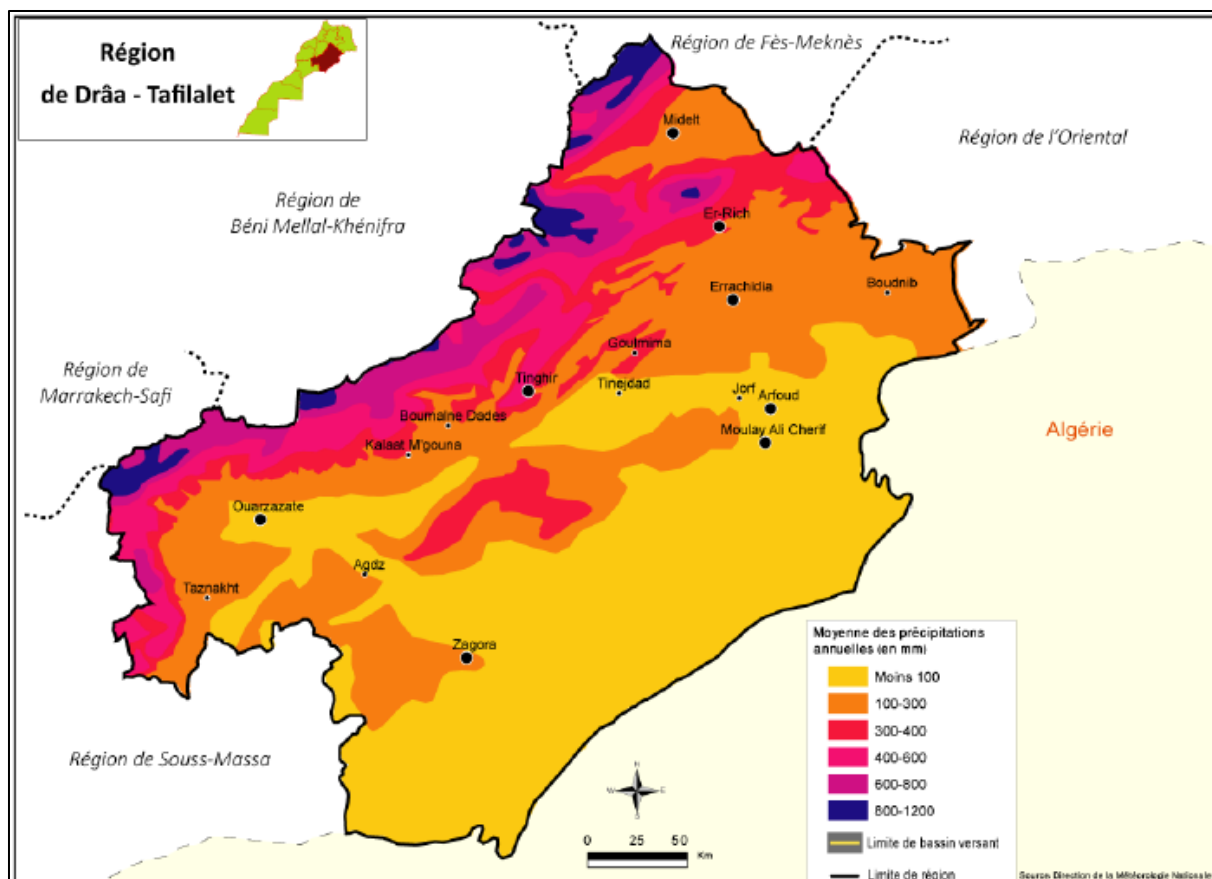


Figure 18: Pluviométrie moyenne annuelle de la région Drâa Tafilalet (HCP, 2015)

4. Réseau hydrique

4.1 Région Souss-Massa

Le réseau hydrographique est réparti entre quarts bassins versants, drainés par quatre principaux cours d'eau :

- Les bassins côtiers des oueds Tamraght et Tamri (2 600 km²).
- Le bassin de l'oued Souss (16 200 km²) ;
- Les bassins de Massa et de Chtouka (6 280 km²) ;
- Le bassin de Tiznit (820 Km²).

Il est également caractérisé par l'importance des Oueds Souss, Massa, Dadès, Drâa et de leurs affluents respectifs (l'Office National de l'Electricité, électrification rurale ONEEP, 2014). Le réseau hydrographique est caractérisé par la présence d'importants oueds notamment :

- Oued Souss qui prend sa source dans le Haut Atlas ;
- Oued Massa qui prend sa source dans l'Anti-Atlas ;
- Oued Drâa

La région dispose d'une capacité de stockage importante autour d'un milliard de m³ d'eau, à travers notamment ses deux grands barrages, le barrage Dkhila, et le barrage Youssef Ibn

Tachfineavec une production d'eau superficielle en 2012 de 34 849 603 m³ et 6 087 304 m³ respectivement (ONEEP, 2014).

4.2. RégionDrâa-Tafilalet

La région Drâa-Tafilalet est une zone présaharienne, où les ressources en eau sont composées des eaux de ruissellement que véhiculent des oueds qui prennent leur origine dans le Haut Atlas, et des eaux souterraines qui sont réparties dans plusieurs bassins hydrogéologiques (HCP, 2015).

Les eaux superficielles : le réseau hydrographique est composé par quatre systèmes qui prennent leur naissance dans le Haut Atlas, et l'Anti Atlas pour le Maider, les systèmes sont :

- Système Drâa,
- Système Ziz,
- Système Ghéris
- Système Guir,

Ces systèmes de mobilisation de l'eau par gravité, plus écologique et en harmonie avec la nature, est une méthode de mobilisation durable qui permet d'utiliser l'eau des nappes avec efficacité.

Au niveau des Barrages, des stratégies d'aménagement des ressources en eau entrepris ont été adoptées depuis l'indépendance pour la satisfaction des besoins en eau potable et agricole et ont permis de mobiliser environ 50 % du potentiel disponible. En plus de la réalisation des grands barrages Hassan Addakhil et Mansour Eddahbi, de petits barrages sont fonctionnels aussi (Akkrouz, Achbarou, Akka N'oussikis, Itzar, Boutaariht, Douiss, Taghdout ...).

5. Végétation

5.1. Au niveau de Souss-Massa

La forêt constitue une véritable barrière naturelle contre la désertification, l'érosion hydrique et éolienne et les tempêtes de sable, en plus de son rôle majeur aux niveaux social et économique. La région de Souss-Massa possède une flore forestière, riche du fait de sa position, qui étend sur une superficie de 1 164 360 hectares, (dont près de 79 % sont des feuillues naturelles) ce qui représente 13 % du total national contre 19,1 % en 1997. La forêt couvre environ 22 % du territoire régional dont 47% se trouve dans la province de Taroudant et 37 % dans la province de Tata. Ainsi cette région possède une diversité forestière régionale (arganier, jujubier, chêne vert, thuya, pins et genévriers), les arbres les plus répandus dans la

région sont l'arganier (63 % de la superficie forestière régionale), l'olivier, le thuya de berbérie et le chêne vert (Haut Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte contre la Désertification, 2014).

5.2. Au niveau de Drâa-Tafilalet

La région Drâa-Tafilalet se caractérise par une formation forestière à base de chêne vert de cèdre, de pin d'Alep, de genévrier rouge ; auxquels s'ajoute une gamme d'espèces arbustives et herbacées telles que *Beberis*, *Espanica*, *Thymus*, qui s'adaptent à la vie saharienne (Haut Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte contre la Désertification (CEFLD), 2014). Vue sa position très vulnérable devant un ensemble de facteurs exogènes notamment les conditions climatiques et autres, le domaine forestier régional est moins diversifié. Cependant, les efforts de reboisement entrepris par la CEFLD ont permis à la région de représenter, en termes de superficies reboisées, 3 % de superficie totale nationale, la province de Midelt en concentre 63 %.

6. Population

6.1. La population de région Souss-Massa

La population de la région de Souss-Massa, selon le recensement général de la population et de l'habitat (RGPH) de 2014, est estimée à 4 267 847 habitants, avec un taux de croissance annuel de 13,18 % entre 2004 et 2014 et un taux d'accroissement annuel moyen équivalent à la moyenne nationale (1,42 %). La part de la population de la région représente 8 % de la population nationale. Le poids démographique de la région, positionne celle-ci au sixième rang en termes d'effectifs et la fécondité y est relativement faible (2,0). En effet, l'accroissement démographique de la population urbaine de la région est attribué en plus de la fécondité naturelle, à l'extension des périmètres urbains des grandes villes, à l'émergence de nouveaux centres urbains et aussi à la migration des ruraux vers les villes (Figure 19).

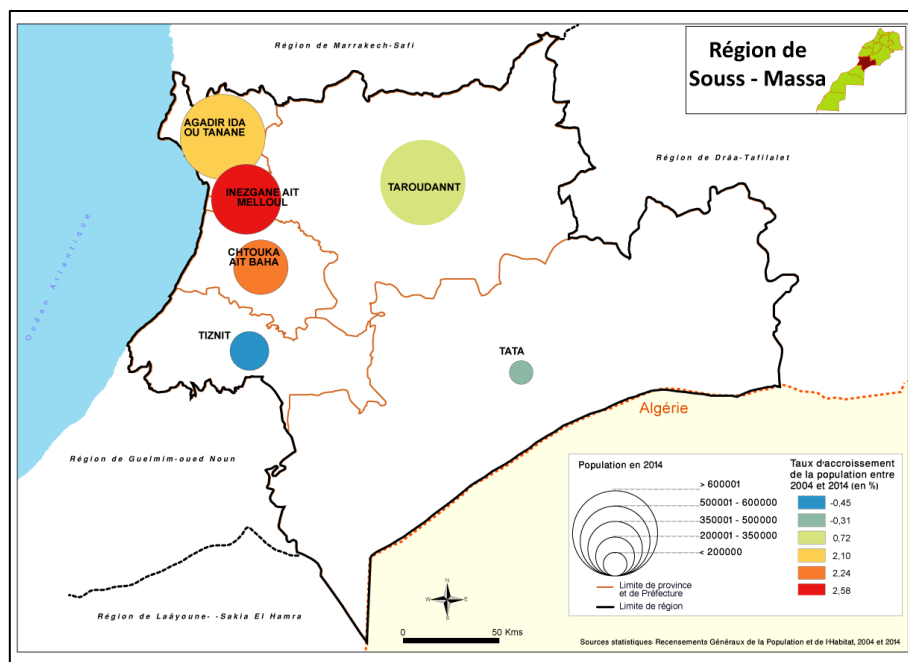


Figure 19: Taux d'accroissement de la population entre 2004 et 2014 (RGPH, 2014)

6.2. La population de région Drâa-Tafilalet

La population de la région de **Drâa-Tafilalet** se chiffre à 1 635 008 habitants (4,83 % de la population nationale), contre 1 491 580 en 2004 dont 34 % des habitants sont urbains (RGPH, 2014). La répartition de cette population par province montre une répartition presque équilibrée, avec une légère augmentation au niveau de la province d'Errachidia qui concentre 25 % de la population de la région, alors que les autres provinces enregistrent des pourcentages de 18 % à 20 %. En effet, la région se caractérise par un niveau de densité moyen régionale, qui est d'environ 18,4 habitants au Km², contre environ 47,6 au niveau national. De plus, la population de la région a presque stagné avec un taux d'accroissement annuel de 0,9 % (une augmentation de 9,6 % entre 2004 et 2014), un taux légèrement inférieur au taux national (1,25 %). Il est de 1,27 % au niveau de la province de Tinghir, suivi par Midelt, Ouarzazate et d'Errachidia 1,19 %, 0,96 % et 0,54 % respectivement (Figure 20).

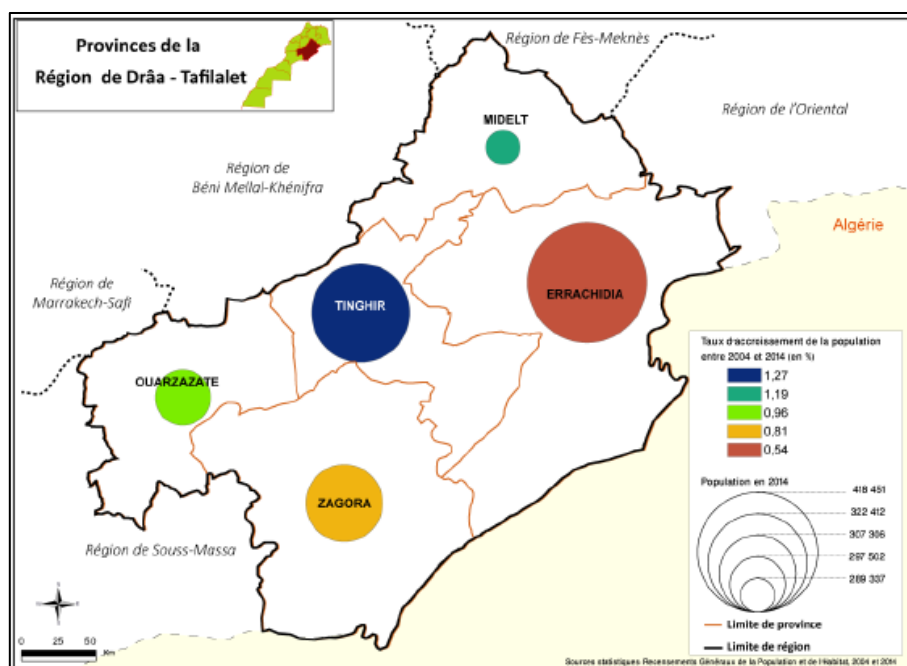


Figure 20 Taux d'accroissement de la population au niveau de Drâa-Tafilalet entre 2004 et 2014 (RGPH, 2014)

7. Pauvreté et développement humain

Selon les statistiques de l'Initiative Nationale pour le Développement Humain (INDH), le taux de pauvreté dans la région de Souss-Massa s'est situé à 14,06 % contre 8,9 % à l'échelle nationale, soit un écart négatif de 5,16 points. Alors que dans la région de Drâa –Tafilalet, ce taux s'est situé à 21,2 % contre 8,9 % à l'échelle nationale, soit un écart négatif de 12,3 points. Par milieu de résidence, la pauvreté demeure beaucoup plus ancrée en milieu rural dans les deux régions (INDH, 2007) (Figure 21 et 22).

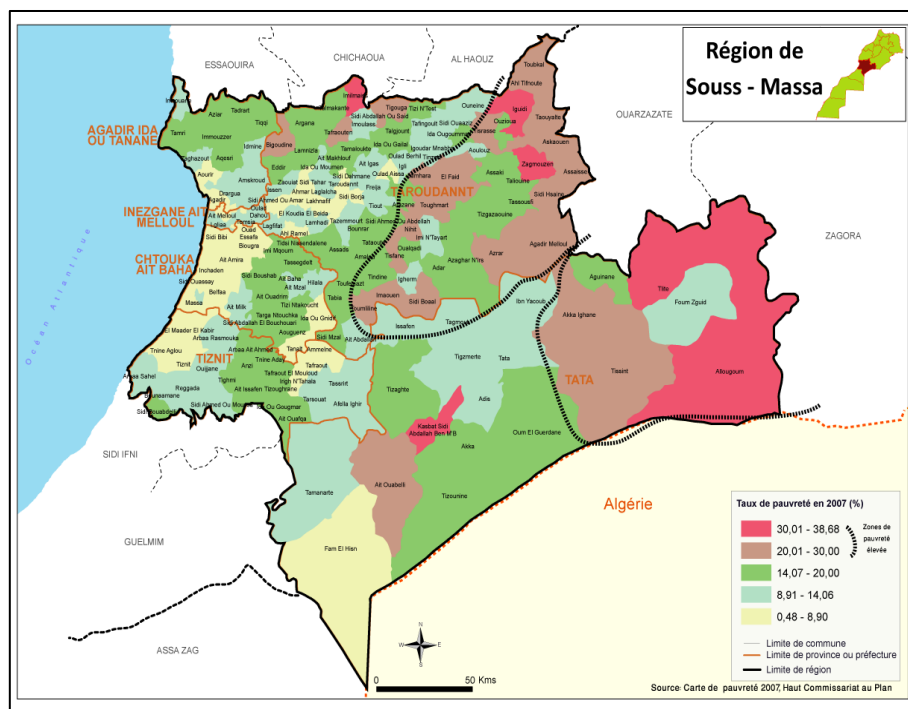


Figure 21: Taux de pauvreté des communes de Souss-Massa (INDH, 2007)

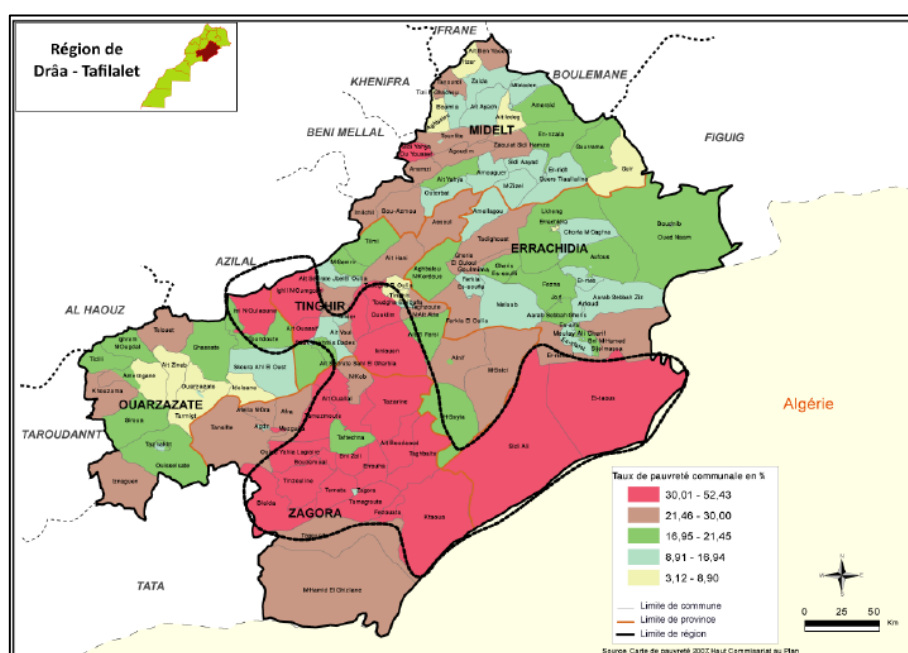


Figure 22: Taux de pauvreté des communes de Drâa-Tafilalet (INDH, 2007)

Partie III : MATÉRIEL & MÉTHODES

Ce travail a été effectué au niveau du Laboratoire National de Référence des Leishmanioses (LNRL) situé à Institut National d'Hygiène de Rabat (INH). Ce laboratoire a été créé par le Programme National de Lutte contre les Leishmanioses (PNLL) instauré par l'OMS en 1997 suite à un Arrêté ministériel N° 683-95. Depuis sa création, le LNRL assure l'installation des laboratoires de leishmanioses au niveau des provinces, le contrôle et la confirmation des lames, les formations, la supervision et la dotation des laboratoires provinciaux en matériels et réactifs nécessaires. Une unité de biologie moléculaire a été installée en 2010 pour compléter les missions du LNRL et jouer un rôle dans la stratégie de lutte. Parmi ces missions, faire des études épidémiologiques des foyers actifs du Maroc, afin d'identifier les souches circulantes dans le but d'orienter les stratégies de lutte.

Dans ce contexte, une étude s'impose également quant aux facteurs de risque liés à l'infestation et la transmission de la maladie. En fait, trois méthodes sont adoptées dans ce travail. Il s'agit de la méthode rétrospective qui s'intéresse au profil épidémiologique de la LC dans la région, la seconde est l'étude d'impact des facteurs socioéconomiques et environnementaux et la troisième méthode dévoile l'identification moléculaire des espèces circulantes responsables de la transmission de LC dans les régions d'étude. Le but est de cerner les causes, l'évolution de la maladie, ainsi que ses différentes manifestations, afin de dégager les facteurs de risque, responsables de la distribution de la LC.

1. Étude épidémiologique

L'étude épidémiologique a été réalisée en se basant sur les données épidémiologiques au niveau des centres régionaux de santé publique et reçues par la suite au niveau de l'INH. Dans ce travail la méthode rétrospective est fixée sur une période de 18 ans allant de l'année 2000 à 2017. Les données collectées sont colligées de source existante « registre ».

Vu le manque des données épidémiologiques dans certaines provinces concernant les nombres des cas et le profil des patients touchés (la tranche d'âge et le genre) dans les registres et les données reçues par la DELM qui ne couvraient pas adéquatement l'ensemble des années, les données manquantes sur les fiches et qui ne sont pas parvenues au LNRL, ont été recherchées sur le terrain auprès des services d'infrastructures et actions ambulatoires provinciaux (SIAAP) et des centres de santé.

1.1. Données du registre

Dans un pays comme le Maroc, qui adhère par un Arrêté Ministériel N° 683-95 du 31 mars 1995 aux programmes de lutte contre la leishmaniose instauré en 1997 par l'OMS, la leishmaniose est à déclaration obligatoire et son traitement est pris en charge par l'état. Pour mener à bien ce programme de lutte, tous les frottis concernant une suspicion de leishmaniose et confectionnés par les différents centres et services hospitaliers du royaume sont envoyés au LNRL de l'INH de Rabat pour contrôle et confirmation.

Cette étude est axée sur l'exploration détaillée du registre du LNRL, avec le maximum d'information sur les sujets malades donc sur des cas de leishmaniose cutanée colligés par le LNRL et qui intéressent les provinces étudiées. Tous les cas retenus sont diagnostiqués positifs avec confirmation parasitologique par les microscopistes du LNRL. Les paramètres recherchés au niveau de ce fichier étaient relatifs à des données épidémiologiques, l'aspect clinique de la lésion la date de la maladie...etc. L'exploitation de cette fiche de registre (Annexe 1) nous a permis de connaître :

- la date du prélèvement (Facteur temporel)
- l'origine géographique du patient (communes et localités) (Facteur spatial)
- l'âge du malade et son genre
- le nombre, l'aspect et la localisation de la lésion (Facteur clinique)

1.2. Données épidémiologiques

Les données épidémiologiques ont été obtenues par la DELM. Ainsi, la collecte de données s'est faite en combinant différentes méthodes qualitatives incluant l'analyse documentaire (registres, rapports des activités, comptes rendus des missions...) de tout les cas signalés et / ou enregistrés au niveau des services d'infrastructures et actions ambulatoires provinciaux (SIAAP) et des centres de santé.

1.3. Données socio-économiques

Les paramètres recherchés lors de cette étude étaient relatifs à des données démographiques et socio-économiques, il s'agit de :

- nombre de population ;
- taux de pauvreté.

Ces données socio-économiques et démographiques ont été obtenues auprès du Haut Commissariat au Plan (HCP, 2014).

1.4. Données environnementales

Pour les données climatiques notamment la température moyenne, les précipitations moyennes, et l'altitude, nous avons utilisé des données du site (<https://fr.climate-data.org>), en utilisant un modèle climatique. Ce modèle utilise les données météorologiques de milliers de stations météorologiques du monde entier, qui sont basées sur les données du projet Open-Street-Map.

2. Cartographie

La cartographie est importante dans l'évaluation de la répartition spatiale de la maladie ; elle présente actuellement un outil pour comprendre, analyser en toute connaissance de cause et décider de façon pertinente les politiques de santé publique, ce qui peut renforcer la surveillance et l'éradication de la maladie.

Nous avons utilisé les systèmes d'information géographique (SIG): ArcGIS 10 et 9.2., ArcToolbox, ArcCatalogue et ArcMap pour la gestion, exploitation et représentation des données sous forme de carte représentative. Ces outils nous ont permis de traiter l'ensemble des données nécessaires pour notre analyse en effectuant le géo-référencement, des shapefiles ou « fichier de formes » [format de fichier pour les SIG], la visualisation des données, et les interpolations.

3. Analyses Statistiques

Les tests statistiques ont été calculés à l'aide de deux logiciels :

- Logiciel R, version 3.2.5 (<http://www.R-project.org>)
- Logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), version 18.0 pour Windows, version 7.
- l'extrapolation graphique des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Excel.

3.1. Variables

Le modèle de régression linéaire a été utilisé pour déterminer l'association entre les facteurs d'intérêt et l'apparition de leishmaniose cutanée dans la zone d'étude. Initialement, une relation linéaire a été examinée (coefficient de corrélation de Pearson) entre le nombre de cas de LC et les variables continues (indicateurs socioéconomiques et démographiques et facteurs environnementaux). Afin de comparer les variations saisonnières et annuelles de la LC, nous

avons normalisé les valeurs mensuelles en série de temps (times series). Ensuite, la méthode Holt-Winters (HW: [https://CRAN.R-project.org / package = prévision](https://CRAN.R-project.org/package=prévision)) a été appliquée pour décrire la tendance et la saisonnalité dans les provinces à haut risque de leishmaniose cutanée. Cette méthode est capable de décrire des séries chronologiques contenant à la fois des tendances et des variations saisonnières (Burkom *et al.*, 2007 ; Medina *et al.*, 2007). Les données incluant les cas de LC de janvier 2012 à décembre 2016 ont été utilisées pour élaborer le modèle de prévision, puis pour prévoir la tendance saisonnière de la LC projetée dans les années à venir.

3.2. Corrélations statistiques

Pour comparer les données épidémiologiques concernant le nombre de cas déclarés au niveau de chaque province en relation avec les facteurs étudiés, des analyses statistiques de corrélation matrix ont été établies.

3.3. Test χ^2

Dans notre étude le test χ^2 (X^2) est utilisé pour comparer les distributions de LC observées selon les tranches d'âge et le genre (variables explicatives). Ce traitement statistique nous a permis de déceler la relation entre cette infestation et la variable explicative et de prédire les personnes à risque. Il a permis aussi d'étudier l'impact du facteur climatique sur la répartition des cas de la LC. Ce test est accompagné par le calcul de la p-value qui nous a permis de conclure sur la significativité du résultat. L'intervalle de confiance est fixé à 95 % et la significativité est prise si $p\text{-value} < 0,05$.

4. Diagnostic microscopique et moléculaire des leishmanies

La détection des cas de LC est réalisée selon deux types de dépistage passif et/ou actif qui consiste à rechercher d'éventuels cas de LC.

➤ Dépistage actif :

Il est effectué soit au cours de l'itinérance par points de contact ou par l'équipe mobile. Ce mode de dépistage permet de regrouper et examiner des cas suspects de LC dans un village ou un lieu quelconque en dehors des services de santé, lors du déplacement de l'agent de santé dans la localité.

➤ Dépistage passif :

Il est systématique au niveau de toutes les formations sanitaires, afin d'assurer une surveillance dans le temps.

4.1. Échantillonnage

4.1.1. Souches à identifier

Nous avons identifié des souches de leishmanies à partir des frottis cutanés de leishmaniose prélevées chez des patients des différents Centre de Santé (C/S) et Services d'Infrastructures des Actions Ambulatoires Provinciaux (SIAAP) des régions d'étude et qui ont été reçus au niveau du LNRL pour confirmation et contrôle. Après examen microscopique, ces frottis sont conditionnés et conservés au laboratoire. L'identification moléculaire a été faite sur l'ensemble des échantillons positifs après examination par l'unité de diagnostic microscopique. L'échantillonnage a été fait selon les recommandations de l'OMS qui recommandent de faire un diagnostic clinique et une confirmation microscopique et moléculaire (Ministère de la santé, 1997).

4.1.2. Souches de référence

Les témoins positifs utilisés dans cette étude sont des souches de leishmanies identifiées et référenciées par le LNRL et conservées sous forme promastigote dans la souche-thèque du dit laboratoire. Les trois souches représentatives des espèces circulantes sont :

- *L. infantum* (MHOM/MA/1998/LVTA),
- *L. major* (MHOM/MA/2009/LCER19-09)
- *L. tropica* (MHOM/MA/2010/LCTIOK-4).

Lors de leur utilisation ces souches sont reprises en culture à 26 °C dans le milieu RPMI supplémenté avec 10 % de sérum de veau fœtal puis aliquotées et conservées à -20°C.

4.2. Diagnostic microscopique

Une observation microscopique préalable a été faite pour mesurer la densité parasitaire (amastigotes) des lames étudiées. Les frottis cutanés sont observés au microscope optique (objectif x100), les leishmanies se présentent sous forme d'amastigotes en position intracellulaires. Les macrophages peuvent s'écarter lors de la confection du frottis et les leishmanies se trouvent alors éparpillées sur le frottis, ce qui permet de compter le nombre de parasites existant au niveau de 10 champs par lame.

4.3. Diagnostic moléculaire

Pour réaliser cette étude notre choix a été porté sur l'utilisation de la méthode ITS1 PCR-RFLP pour analyser les lames sélectionnées. La technique permet l'amplification de la région ITS1 (Internal Transcribed spacer region de l'ADN ribosomal). Les étapes de cette méthode se résument en l'extraction de l'ADN, suivie par une amplification de la région ITS1, une

digestion enzymatique par des endonucleases et finalement visualisation de l'ADN par une électrophorèse sur gel d'agarose pour différencier les espèces.

4.3.1. Extraction d'ADN à partir des frottis cutanés

L'extraction de l'ADN des leishmanies vise à séparer le matériel génétique des résidus protéiques, à partir des frottis cutanés fixés et colorés au Giemsa. Nous avons effectué cette extraction par le kit «QIAamp DNA tissues kit» (Mahdy *et al.*, 2010), en se conformant aux recommandations du fabricant (Qiagen, Hilden, Germany). Le principe de ce kit d'extraction d'ADN repose sur la digestion enzymatique des membranes cellulaires. Cette digestion est suivie d'une purification de l'ADN génomique totale à travers une colonne de purification contenant une membrane de silice. C'est une procédure de purification rigoureuse basée sur la succession d'étapes de lyse, de digestion et finalement d'élution dans un tampon d'élution.

➤ Mode opératoire de l'extraction

- Le matériel tissulaire adhérent sur la lame est extrait en utilisant 200 µl du tampon de lyse (ATL).
- Un volume de 40 µl de protéinase K est ajouté à la solution et le mélange est incubé immédiatement à 56°C pendant une heure.
- Un volume de 200 µl du tampon de liaison (AL) est additionné et le tube est incubé une deuxième fois à 56°C pendant 10 min.
- 200 µl d'éthanol 96 % sont ajoutés, le lysat est homogénéisé par impulsion au vortex puis délicatement transféré sur une colonne avec un tube collecteur. L'ADN génomique est adsorbé sur la membrane de silice alors que le lysat passe à travers la membrane sous l'effet d'une force centrifuge de 8 000 tr/min pendant une minute.
- Les contaminants de la colonne sont éliminés par deux lavages qui se succèdent avec un volume de 500 µl chacun ; le premier avec la solution de lavage AW1 (Wash Buffer n°1) suivi d'une centrifugation à 8 000 tr/min pendant une minute et le deuxième avec la solution de lavage AW2 (Wash Buffer n°2) suivi d'une centrifugation de 14 000 tr/min pendant 3 min.
- L'élution de l'ADN génomique à partir de la membrane se fait par ajout de 50 µl du tampon d'élution (TE) dans la colonne associée à un tube eppendorf stérile et une centrifugation à 8 000 tr/min pendant une minute.
- L'extrait contenant l'ADN purifié est gardé au réfrigérateur pour une utilisation immédiate dans les 24 heures qui suivent l'extraction ou bien stocké à -20 °C pour une analyse ultérieure.

4.3.2. Extraction d'ADN à partir de la culture

L'étape d'extraction de l'ADN de culture de leishmanie se fait de la même manière que pour les lames ; elle est réalisée avec le kit «QIAamp DNA tissue kit», à l'exception de la partie de lyse cellulaire qui n'est pas nécessaire. Les promastigotes à une concentration de 10^6 promastigotes sont suspendus dans un volume de 200 μ l de PBS.

4.3.3. Amplification par PCR de la région interne transcrite ribosomal 1 (ITS1)

La région ITS1 est amplifiée par PCR selon les protocoles décrits par Al-Jawabreh *et al.* (2004) et Schonian *et al.* (2003). Cette PCR cible la partie transcrite interne ribosomale 1 (ITS1-PCR) dans le ribosome opéron des différentes espèces de leishmanies. Par la suite, cette région polymorphe d'une taille de 300 pb à 350 pb est amplifiée par le biais des amorces suivantes (Shonian *et al.*, 2003):

- **Forward primer LITSR: 5'-TGATACCACTTATCGCACTT-3'**
- **Reverse primer L58S: 5'-CTGGATCATTTTCCGATG-3'.**

Dans un volume final de 25 μ l, 5 μ l d'ADN est ajouté à 20 μ l du mix PCR. Ce mix est composé de 20 pmol/ μ l de chaque amorce **LITSR** et **L5.8S**, (**Eurofins MWG Operon Anzingerstrabe 7a D-85560, Ebersberg, Allemagne**), 5 unités / μ l de la Taq-polymérase (Promega, Adison, USA), 10 mM de chaque DNTP, 25 mM de MgCl₂ et 5 μ l d'ADN des échantillons et témoins (Tableau 8).

Tableau 8: Les composants du Mix d'amplification

Composants	Mix pour une réaction de volume total de 25 μ l
Quantité pour un échantillon en μ l	
Tampon PCR (x5)	10
Primer LITSR (20 pmol/ μ l)	1
Primer L58S (20 pmol/ μ l)	1
DNTPs (10mM)	1
MgCl ₂ (25mM)	2
Taq polymérase (5 unité/ μ l)	0.5
Eau free DNase	9.5

L'amplification est lancée dans le thermocycleur (**TECHNE, TC 312**). Ce programme d'amplification est représenté dans le Tableau 9. Le produit amplifié est visualisé par l'électrophorèse sur gel d'agarose avec un marqueur de poids moléculaire de 100 pb (**Promega, Madison, WI, USA**).

Tableau 9: Programme d'amplification

Nombre du cycle	Dénaturation	Elongation	Polymérisation
Cycle initial	2 min.95°C	0	0
32 cycles	20 sec.95°C	30 sec.53°C	1 min.72°C
Cycle final	0	0	6 min.72°C
Infini		4°C	

4.3.4. Digestion enzymatique par HaeIII et MnII

L'identification des espèces de *Leishmania* est réalisée par la digestion du produit PCR ITS1 grâce à des endonucléases de restriction (RFLP= Restriction fragment length polymorphisme). Les enzymes de restriction utilisées sont **HaeIII (New England Biolabs, Inc)** qui clive au niveau de la séquence 5' GGCC 3' et 3' CCGG 5' et **MnII (New England Biolabs, Inc)** qui coupe au niveau du site de est 5' CCTC 3' et 3' GGAG 5'. Cette digestion permet de différencier entre les espèces de *Leishmania*.

➤ Mode opératoire de la digestion enzymatique

Le mode opératoire est adopté à la méthode d'Al-Jawabreh *et al.* (2004). Les étapes de la digestion passent d'abord par la préparation du mix de digestion composé par le tampon 10x(50mM de l'acétate de potassium, 20mM de Tris-acétate, 10mM d'acétate de Magnésium et 100µg/ml du BSA), 2µl d'eau et 10 unités/µl d'enzyme de digestion (Tableau 10).

Tableau 10: Composition du Master Mix pour la digestion HaeIII et MnII

Composants	Mix pour une réaction de volume total de 6µl
Quantité pour un échantillon (µl)	
10xTampon	2
Enzyme de digestion (10 unité/µl)	2
Eau free DNase	2

Les produits de digestion sont ensuite déposés sur un gel d'agarose de 2 %.

4.3.5. Electrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse vise à séparer et identifier les fragments d'ADN les fragments d'ADN qui seront détectés par intercalation d'un fluorochrome le bromure d'éthidium (BET) et visualisés via les rayons ultra-violets (UV) sous forme de bandes. La séparation des fragments d'ADN s'effectue en fonction de la différence du poids moléculaire et de la charge par le biais d'une cuve de courant électrique.

La cuve contient le tampon de migration TAE 10X. Les puits du gel d'agarose (2 %) sont chargés en y déposant 7 µl des échantillons mélangés au tampon de charge. La cuve contenant

le gel est ensuite fermée et branchée à 220 V, le voltmètre de la cuve est réglé à une tension de 90 Volts et l'ADN migre vers l'anode positive.

Pour comparer les profils des lames collectées, la migration est effectuée en présence de marqueurs de taille (25 pb) et les souches de références des trois espèces, connues comme agents de la leishmaniose au Maroc : *L. infantum* (MHOM/MA/1998/LVTA), *L. major* (MHOM/MA/2009/LCER19-09) et *L. tropica* (MHOM/MA/2010/LCTIOK-4).

Partie IV : RÉSULTATS

Cette partie sera scindée en deux chapitres.

Le chapitre I présentera, d'une part, le statut actuel de la leishmaniose cutanée au niveau de la région Souss-Massa, sa distribution spatio-temporelle de l'année 2 000 à 2017 tout en analysant les différents facteurs environnementaux, démographiques et socio-économiques influençant cette répartition, d'autre part l'étude moléculaire permettra d'identifier les espèces circulantes au niveau des secteurs touchés au sein de la région d'étude.

Le chapitre II, dévoilera les résultats de l'étude rétrospective qui présente le profil épidémiologique de la LC dans la région Drâa-Tafilalet, précisément au niveau des provinces d'Errachidia, Ouarzazate, Tinghir et Zagora et ce de 2000 à 2017 à travers la répartition et l'évolution spatio-temporelle de la LC, aussi ce chapitre traitera l'impact des facteurs environnementaux, socio-économiques et démographiques influençant la distribution de LC au niveau de ces provinces. L'étude moléculaire précisera les souches circulantes au niveau des différents secteurs touchés par la maladie.

Chapitre premier : RÉGION SOUSS-MASSA

Notre étude a porté sur les provinces touchées par la LC de 2000 à 2017 dans le sud-ouest du Maroc. Cette zone comprend les provinces d'Agadir, Chtoukha Ait Baha, Tata, Inezgane Ait Melloul, Taroudant, Tata et Tiznit. La région est connue pour son climat semi-aride, généralement chaud et sec tout au long de l'année. La région côtière est tempérée par l'océan Atlantique le long de la côte ouest du Maroc, d'Agadir à la province de Tiznit. La zone s'étend de l'océan Atlantique aux zones montagneuses et au désert du Sahara. Ces provinces ont une population d'environ 2 676 847 habitants, répartis en zones rurales (47,78 %) et urbaines (52,22 %) (HCP) 2014). Les provinces, Taroudant, Chtouka-Ait Baha et Tiznit sont les moins urbanisées, avec respectivement, 30 % et 31 % de population urbaine. Les provinces d'Agadir, Chtouka ait baha et Inezgane Ait Melloul sont les plus urbanisées avec des taux d'urbanisation de 85 à 95 %. A l'échelle provinciale, la province la plus pauvre et celle de Tata (17,01 %), deux autres provinces enregistrent un taux de pauvreté supérieur à la moyenne nationale, à savoir, Taroudant (9,65 %) et Tiznit (6,13 %). L'économie de la région repose principalement sur l'agriculture, l'élevage, le tourisme et la pêche. L'élevage est l'une des sources de revenus les plus importantes pour la population rurale de la région, en tant qu'activité complémentaire à l'agriculture.

1. Profils épidémiologique de la leishmaniose cutanée

1.1.Type de dépistage

Les résultats de la répartition des cas malades liée au type de dépistage ont révélé que la majorité des patients dans les provinces Taroudant et Tata (88,1% ; 69,8 %) sont dirigés volontairement au centre de la santé (dépistage passif), alors que 11,8 % et 30,2% des cas malades respectivement dans les provinces ont nécessité un déplacement de l'équipe sanitaire (dépistage actif par de professionnel de santé) (Tableau 11).

Tableau 11: Pourcentage des malades liés au type de dépistage

Province	Taroudant		Tata	
	Total		Total	
	Cases	%	Cases	%
Dépistage				
Active	42	11,8	41	30,2
Passive	313	88,1	95	69,8

1.2.Vulnérabilité liée à l'âge

1.2.1. Province Taroudant

La répartition de la leishmaniose en fonction de la tranche d'âge au niveau de la province de Taroudant a montré que la population infantile est la catégorie la plus touchée par cette maladie avec un taux de 76,05 % chez la tranche d'âge de 1 à 10 ans et 11,26 % chez la tranche d'âge de 11 à 20 ans. La différence entre les tranches d'âge était statistiquement significative ($p\text{-value}<0,05$) (Figure 23).

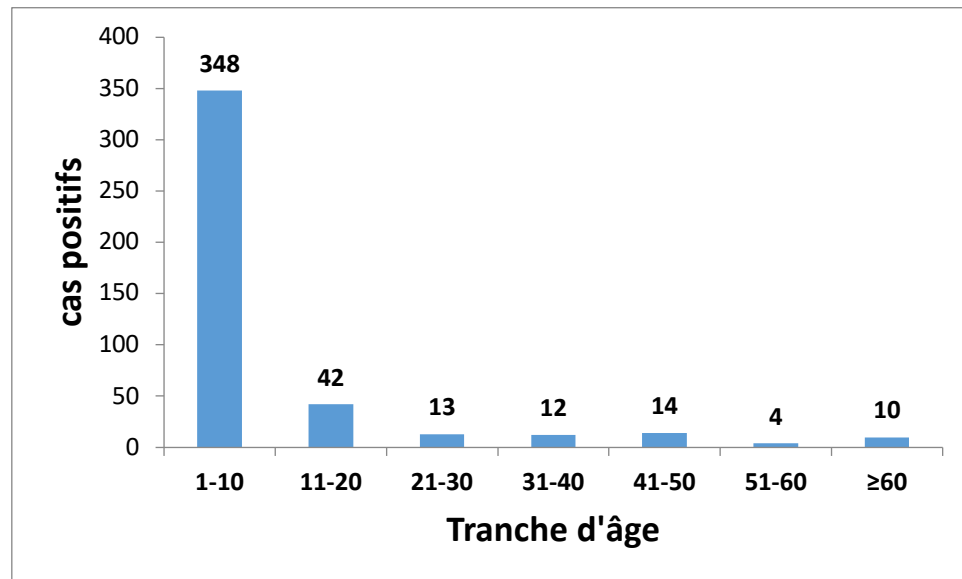


Figure 23: Répartition de la LC de 2000 à 2017 selon l'âge au niveau de la province de Taroudant

1.2.2. Province Tata

Au niveau de cette province 142 cas de LC ont été enregistrés, La répartition de la LC en fonction de la tranche d'âge a montré que les personnes de 1 à 10 ans sont hautement touchées par la maladie avec un total de 73 cas (51,4 %). Les adolescents âgés de 11 à 20 ans sont également concernés avec 21,1 % de cas. 9,1 % de cas a été enregistré chez la tranche d'âge de 21 à 30 ans suivi par les deux tranches d'âge de 31 à 40 ans avec 8,4 %. La différence entre les tranches d'âge était statistiquement significative ($p\text{-value}<0,05$) (Figure 24).

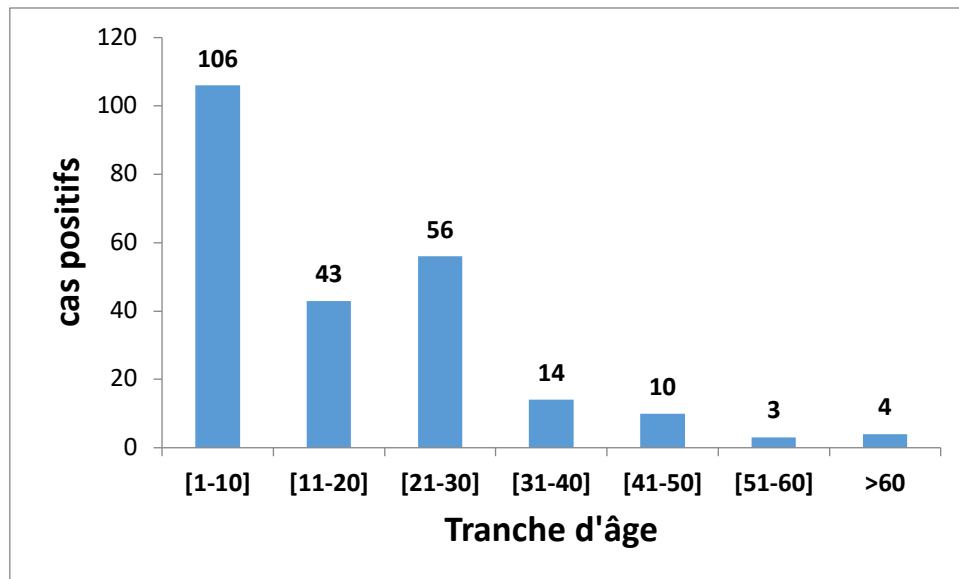


Figure 24: Répartition de la LC de 2000 à 2017 selon l'âge au niveau de la province de Tata

1.3.Vulnérabilité liée au sexe

1.3.1. Province Taroudant

La distribution de la LC selon le genre a montré que les deux sexes sont touchés avec la dominance du genre masculin (53 versus 47 %). Le sex-ratio H/F était de 1,12, sans aucune différence statistiquement significative entre les deux sexe $p\text{-value} = 0.2844$.

1.3.2. Province Tata

Sur un total de 142 cas, La distribution de la LC selon le genre a montré que les deux sexes sont touchés avec la dominance du genre féminin (52,5 versus 47,5 %). Le sex-ratio H/F était de 0,9, sans aucune différence statistiquement significative entre les deux sex $p\text{-value} = 0.3$.

2. La répartition temporelle des cas de LC de 2000 à 2017

La donnée annuelle des cas de LC dans cette zone de 2000 à 2017 a été obtenue à partir de cas déclarés par la Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies (DELM). Le nombre total des cas durant cette période était de 746 cas. Les deux provinces Tata et Taroudant sont les provinces qui ont enregistré le taux d'incidence le plus élevé par contre les provinces d'Agadir, Inezgane, Chtouka Ait Baha et Tiznit ont enregistré un taux d'incidence faible.

Au niveau de la province de Tata, le taux d'incidence moyen est de 15,08 pour 100 000 habitants. Ce taux a connu des fluctuations avec deux pics en 2005 et 2017 (Figure 25). De 2000 à 2004, une moyenne de un cas par an a été signalée et puis le nombre de cas a augmenté en 2005 à 73. De 2006 à 2015 le nombre de cas a diminué progressivement jusqu'à

atteindre 3 cas. En 2016 les cas ont augmenté et un pic de 99 cas a été enregistré en 2017 (Figure 25).

Au niveau de la province de Taroudant et sur la période étudiée, un total de 437 cas de LC a été signalé, soit une moyenne de 25 cas par an, avec un pic en 2012 (69 cas), et un taux d'incidence brut moyen de 3,06 cas annuels pour 100 000 habitants (Figure26). Environ 89,4 % des cas provenaient de zones rurales et 10,6 % de zones urbaines.

Les autres provinces ont été moins touchées. En effet, moins de 40 cas ont été notés dans la province d'Agadir, tandis que 20, 18, 12 cas ont été enregistrés respectivement dans les provinces d'Inezgane, Chtouka Ait Baha et Tiznit entre 2000-2017 (Figure 27).

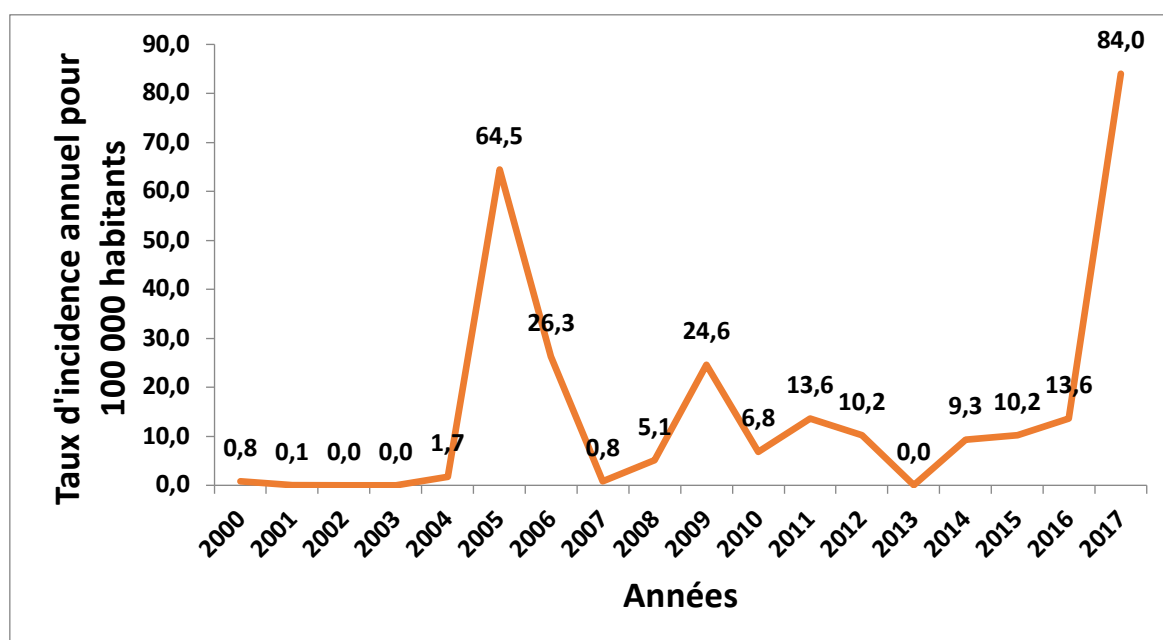


Figure 25: Taux d'incidence annuel de la LC au niveau de province Tata de 2000 à 2017

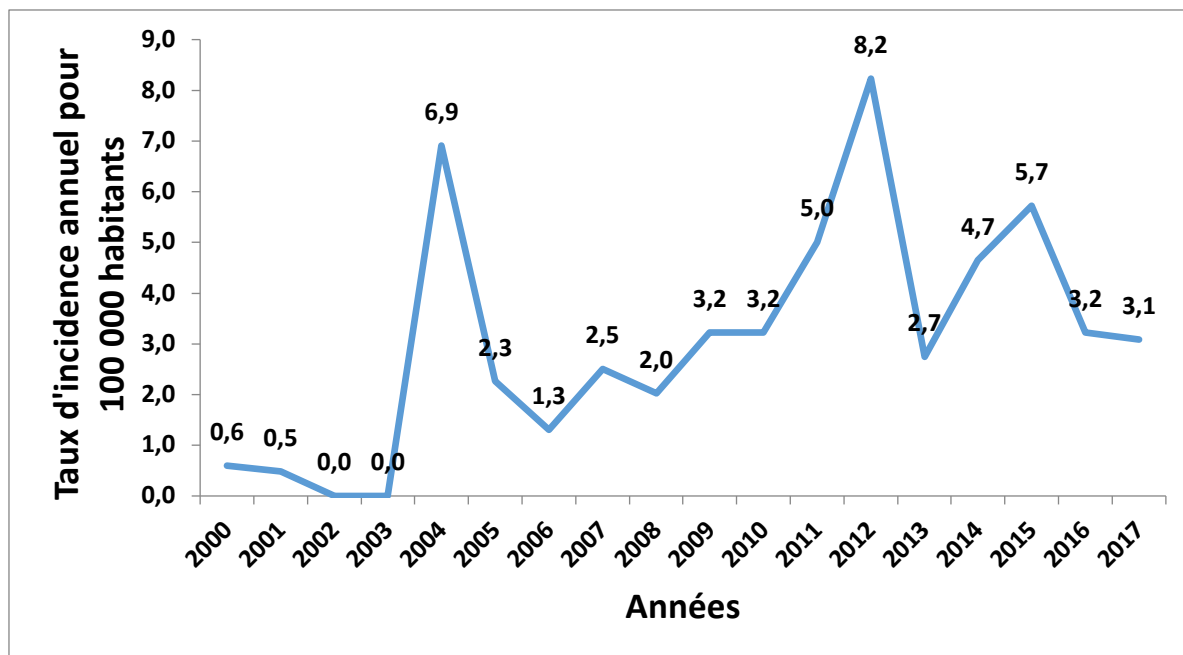


Figure 26: Taux d'incidence annuel de la LC au niveau de province Taroudant de 2000 à 2017.

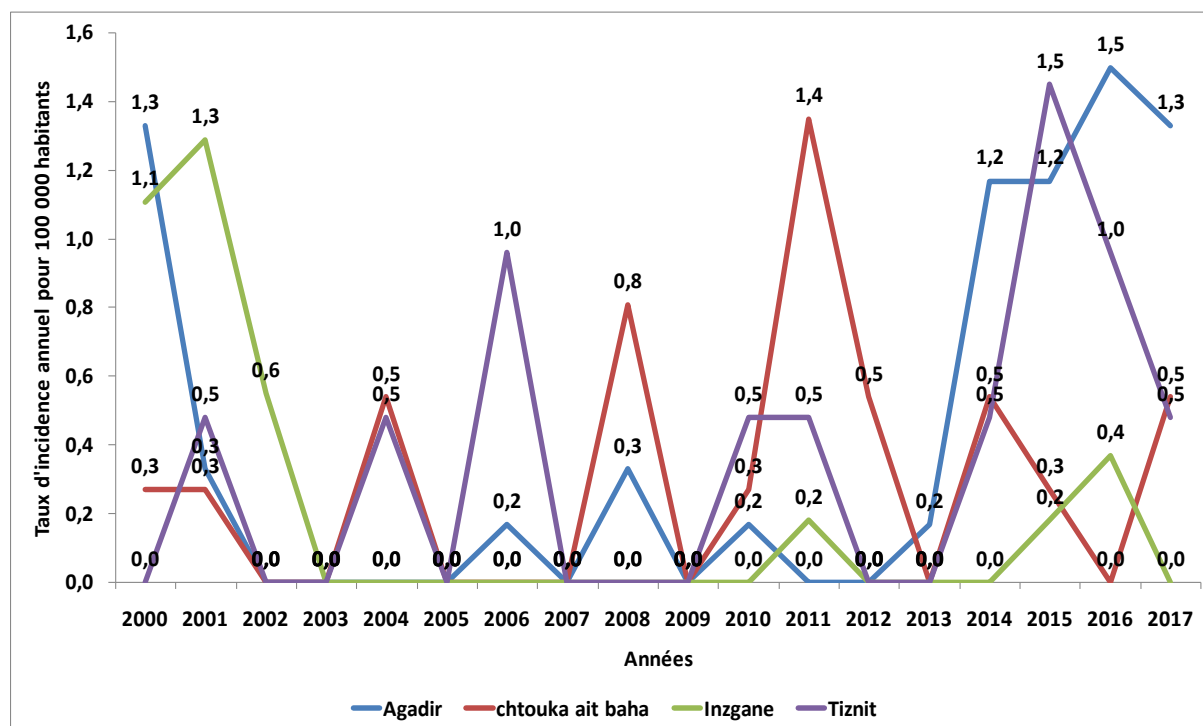


Figure 27: Taux d'incidence annuel de la LC au niveau des provinces Agadir, Chtouka Ait Baha, Inezgane et Tiznit de 2000 à 2017

L'analyse statistique de répartition temporel de cas de LC au niveau de la province de Taroudant a donné un coefficient de détermination linéaire de Pearson $R^2 = 0,32$ ce qui montre que la corrélation entre la distribution de la LC et le temps est forte ($P\text{-value} = 0,012$), tandis que au niveau de la province de Tata cette distribution est faible $R^2 = 0,11$, ($P\text{-value} = 0,168$). Au niveau des provinces de Agadir et Tiznit cette distribution est forte, avec un coefficient de détermination respectivement : $R^2 = 0,44$ ($P\text{-value} = 0,0025$) $R^2 = 0,233$ ($P\text{-value} = 0,041$), tandis qu'au niveau des provinces de Chtouka Ait Baha et Inezgane cette distribution est faible avec un coefficient de détermination respectivement : $R^2 = 0,11$; ($P\text{-value} = 0,166$) et $R^2 = 0,001$; ($P\text{-value} = 0,869$) Tableau 12.

Tableau 12:Regression des cas de la LC en fonction des années au niveau des provincesde la régionSous-Massa

Taroudant	Variables	Coefficient	t-Statistic	P-value
	Intercept	-4187,96	-2,786	0,0132
	Années	2,09	2,803	0,0128
	$R^2 = 0,32$		$F(1,16) = 7,858$	$F(1,14) = 0,01276$
Tata	Variables			P-value
	Intercept	-3476,88	-1,437	0,170
	Années	1,740	1,444	0,168
	$R^2 = 0,11$		$F(1,16) = 2,086$	$F(1,14) = 0,168$
Agadir	Variables			P-value
	Intercept	-1033.93	-3,567	0,0025
	Années	0,5160	3,576	0,0025
	$R^2 = 0,44$		$F(1,16) = 12,78$	$F(1,14) = 0,0025$
Chtouka Ait Baha	Variables			P-value
	Intercept	-179,05	-1.44	0,169
	Années	0,089	1.45	0,166
	$R^2 = 0,11$		$F(1,16) = 2,104$	$F(1,14) = 0,1663$
Inezgane	Variables			P-value
	Intercept	-38,215	-0,162	0,873
	Années	0,0196	0,167	0,869
	$R^2 = 0,001$		$F(1,16) = 0,0280$	$F(1,14) = 0,869$
Tiznit	Variables			P-value
	Intercept	-208,514	-2,202	0,0427
	Années	0,1042	2,210	0,0420
	$R^2 = 0,233$		$F(1,16) = 4,886$	$F(1,14) = 0,0419$

3. L'impact des facteurs environnementaux, socio-économiques et démographiques liés aux cas de LC

Les facteurs environnementaux (température, précipitations et altitude), socioéconomiques (pauvreté et vulnérabilité) et démographiques (densité de population) associés au nombre de cas de LC dans les zones étudiées sont présentés dans le Tableau 13.

Tableau 13: Matrice de corrélation entre les cas de leishmaniose cutanée et les indicateurs environnementaux, démographiques et socioéconomiques de la région Sous-Massa

		Nombre de cas de LC	Population	Temperature	Précipitations	Altitude	Taux de pauvreté	Taux de vulnérabilité
Nombre de cas de LC	Corrélation Pearson	1						
	Sig.							
Population	Corrélation Pearson	0,291	1					
	Sig.	0,288						
Temperature	Corrélation Pearson	-0,433	0,513	1				
	Sig.	0,190	0,149					
Précipitations	Corrélation Pearson	0,631	0,423	-0,537	1			
	Sig.	0,089	0,202	0,136				
Altitude	Corrélation Pearson	-0,292	-0,119	0,443	-0,724	1		
	Sig.	0,287	0,411	0,189	0,052			
Taux de pauvreté	Corrélation Pearson	0,859*	0,026	-0,347	0,202	0,187	1	
	Sig.	0,014	0,481	0,250	0,351	0,361		
Taux de vulnérabilité	Corrélation Pearson	0,879*	0,104	-0,466	0,407	0,099	0,949**	1
	Sig.	0,011	0,422	0,176	0,212	0,426	0,002	

* $P < 0.05$.

Selon l'analyse statistique, des corrélations significatives ont été observées entre le nombre total de cas et le taux de pauvreté et de vulnérabilité, par contre aucune corrélation n'a été trouvée dans la densité de population, la température, les précipitations et l'altitude. De plus, une corrélation de régression linéaire a confirmé cette observation d'association entre le nombre de cas et le taux de pauvreté ($R^2 = 0,73$; $df = (1,4)$; valeur $P = 0,028$) ainsi que le taux de vulnérabilité ($R^2 = 0,77$; $df = (1,4)$; valeur de $P = 0,021$) comme indiqué dans le Tableau 14.

Tableau 14: Résultats de la régression linéaire spatiale entre le nombre total de cas de LC et les indicateurs socioéconomiques et environnementaux de la région Sous-Massa

Factors	Variable	Coefficient	T-statistic	P-value
Indicateurs environnementaux	Intercept	2898,5	1,069	0,345
	Temperature	-143,3	-0,988	0,379
		Adjusted $R^2=0,1962$	$F_{(1,4)}=0,9765$	$F_{(1,4)}=0,379$
	Intercept	-962,810	-1,305	0,262
	Précipitations	5,161	1,628	0,179
		Adjusted $R^2=0,3986$	$F_{(1,4)}=2,651$	$F_{(1,4)}=0,1788$
	Intercept	328,9471	1,455	0,219
	Altitude	-0,8198	-0,611	0,574
		Adjusted $R^2=0,08539$	$F_{(1,4)}=0,3735$	$F_{(1,4)}=0,5742$
Indicateurs socio-économiques	Intercept	-320,68	-1,779	0,1499
	Taux de pauvreté	59,35	3,349	0,0286 *
		Adjusted $R^2=0,7371$	$F_{(1,4)}=11,22$	$F_{(1,4)}=0,02859$
	Intercept	-754,83	-2,742	0,0518
	Taux de vulnérabilité	54,34	3,684	0,0211 *
		Adjusted $R^2=0,7723$	$F_{(1,4)}=13,57$	$F_{(1,4)}=0,02113$
Indicateurs démographiques	Intercept	-3,135e+00	-0,008	0,994
	Population	4,515e-04	0,607	0,576
		Adjusted $R^2=0,08446$	$F_{(1,4)}=0,369$	$F_{(1,4)}=0,5763$

*p< 0.05.

Selon le modèle Holt-Winters (HW), une variation saisonnière du nombre de cas par mois a été notée. En effet, dans la province de Taroudant, il y a un pic chaque saison d'hiver, et il tombe à son minimum au printemps et en été avec une erreur moyenne de 4 %ce qui pourrait être lié aux activités et à la dynamique du vecteur(Figure 28).

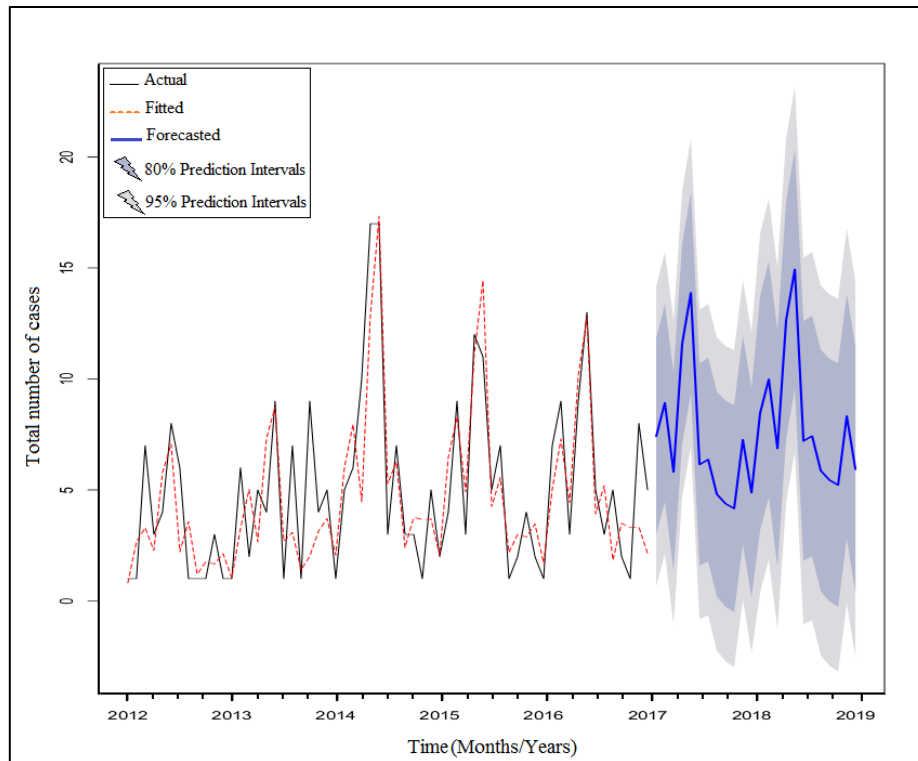


Figure 28: Holt-Winters-Valeurs prévisionnelles de la LC dans la province de Taroudant 2017-2019.

4. Répartition et l'évolution spatio-temporelle de la leishmaniose cutanée selon les provinces

4.1. Province de Taroudant

La répartition spatiale de la LC dans la province de Taroudant a montré que la maladie a été détectée dans 27 communes entre 2000 et 2017. La plupart des cas ont été notés au niveau des communes de Tafingoult et Tzi N'test. Dans les autres communes, les cas de LC étaient moins fréquents, avec une moyenne de 2 à 3 cas / an [Figure (29)]. Les cas de LC dans les autres provinces étaient limités à 2-3 communes, notamment les communes de Tnin Aglou, Arbaa Sahel et Ait Ouafqa à Tiznit, le centre d'Agadir au sein de la province d'Agadir et la commune d'Inezgan dans la province d'Inezgane Ait Melloul.

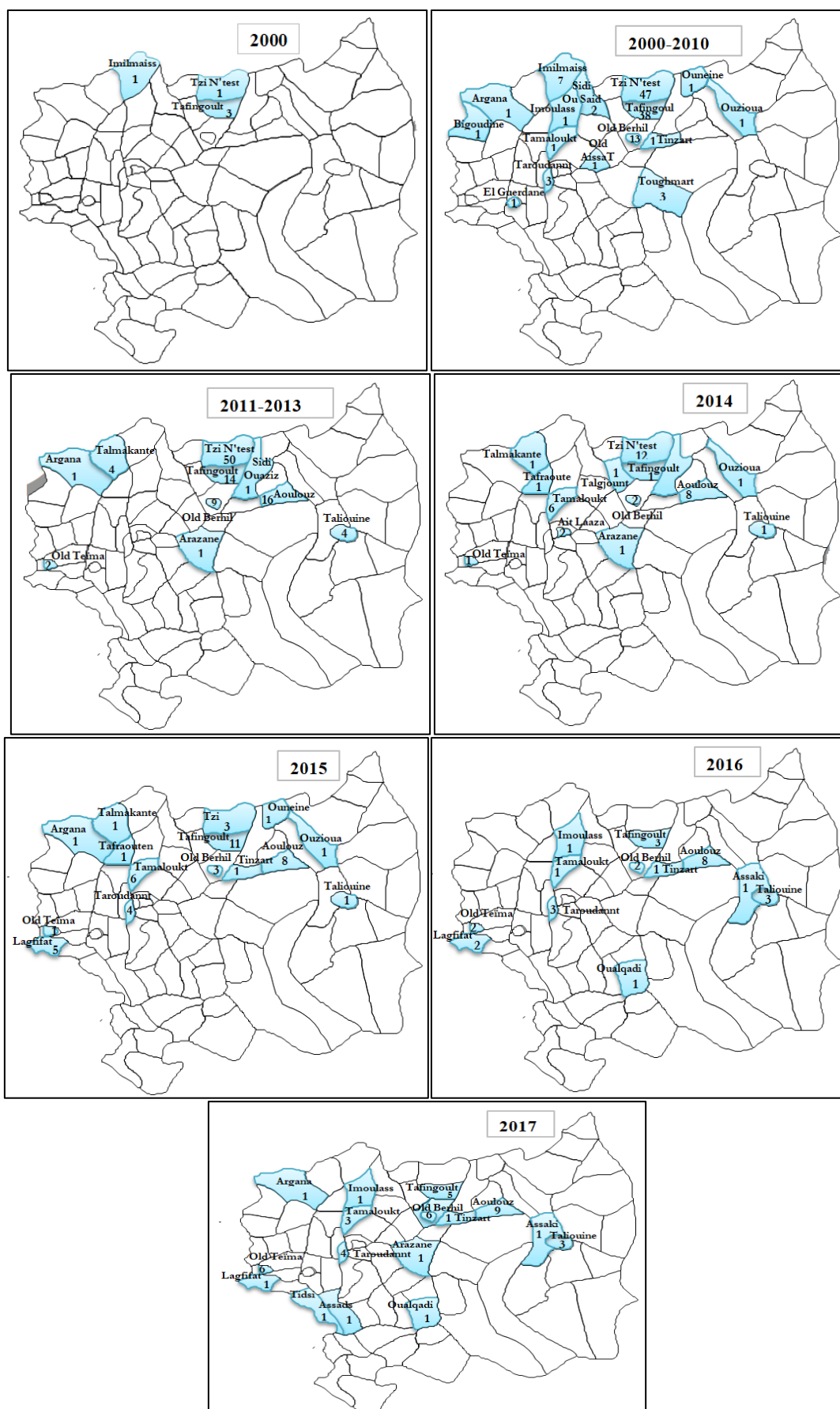


Figure 29: Distribution géographique et temporelle de cas de la LC dans la province de Taroudant de 2000 à 2017

4.2. Province de Tata

Au niveau de la province de Tata, la totalité des communes ont été touchés au cours de la période de 2000 à 2017, avec une moyenne de nombre des cas qui varie entre 1 à 50 cas seulement pour chaque trois an. En effet, deux communes (Allougoum et Fougoum) sont le plus touchés par la LC à proximité des provinces d'Ouarzazate et Zagora (Figure 30).



Figure 30: Distribution géographique et temporelle de cas de LC dans la province de Tata de 2000 à 2017

5. L'identification moléculaire des espèces

5.1. Identification de l'espèce par méthode de Restriction Fragment Length Polymorphisme (RFLP)

En 2014, 25 cas ont été confirmés positifs au microscope dans la province de Taroudant. En 2016, 31 ont été signalés dans les mêmes zones, dont 20 lames ont été reçues au laboratoire et confirmées par microscopie. Parmi ces frottis, 25 ont été testés et confirmés positifs par PCR-ITS1-RFLP. Pour les autres provinces 11 frottis reçus entre 2014 et 2016 ont été confirmés positifs et testés par PCR-ITS1-RFLP (Tableau 15). Les résultats de l'étude moléculaire ont montré que *Leishmania tropica* était l'espèce en circulation dans les provinces d'Agadir, Chtouka Ait Baha, Taroudant et Tiznit (Figure 31). Au niveau de la province de Tata le laboratoire n'a reçu aucune lame.

Tableau 15: Résultats de l'analyse ITS1-PCR-RFLP de l'étude de la LC dans les communes les plus touchées au niveau de la région Sous-Massa

Province	Secteurs	Resultats de RFLP	Nombre des lames 2014	Nombre des lames 2016
Agadir	Agadir	<i>L. tropica</i>	1	1
	Agadir	<i>L. tropica</i>	1	1
	Agadir	<i>L. tropica</i>	1	1
	Agadir	<i>L. tropica</i>	1	0
	Agadir	<i>L. tropica</i>	0	0
	Agadir	<i>L. tropica</i>	0	0
Chtoukha Ait Baha	Chtouka	<i>L. tropica</i>	1	0
Taroudant	Tamaloukt	<i>L. tropica</i>	1	0
	Tizgui	<i>L. tropica</i>	4	0
	Aoulouz	<i>L. tropica</i>	1	5
	Tafingoult	<i>L. tropica</i>	3	3
	Taliouine	<i>L. tropica</i>	0	1
	Taroudant	<i>L. tropica</i>	0	2
	Od behril	<i>L. tropica</i>	0	1
	Od teima	<i>L. tropica</i>	0	1
	Tamalkant	<i>L. tropica</i>	1	1
Inezgane Ait Melloul	Inezgan	<i>L. tropica</i>	1	1
Tiznit	Tnin aglo	<i>L. tropica</i>	1	0
	Arba sahel	<i>L. tropica</i>	0	1

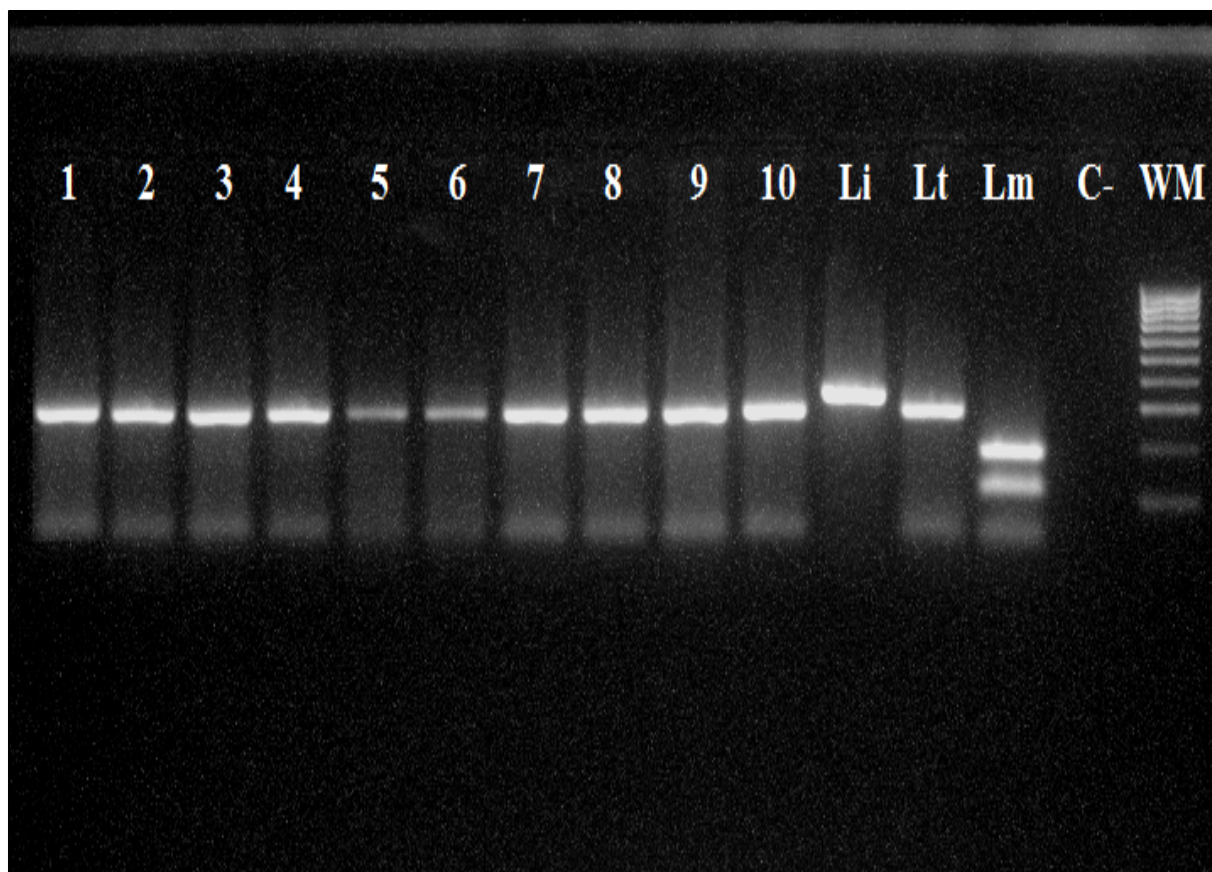


Figure 31:Gel ITS1-PCR / RFLP des lames positives provenant des provinces de Agadir, Taroudant, Chtouka Ait Baha, Inezgane et Tiznit

Lignes 1 à 10: échantillons des lames. Abréviations; *Li*, *L. infantum*; *Lt*, *L. tropica*; *Lm*, *L. major*; C-, contrôle négatif; WM, marqueur de poids moléculaire 50 bp.

Chapitre II : RÉGION DRÂA-TAFILALET

La région **Drâa-Tafilalet** est l'une des 12 régions du Maroc. Elle se localise au centre du royaume et s'étend sur une superficie de 72 506 km², soit 10 % du territoire national, Elle est composée de cinq provinces : **Ouarzazate, Tinghir, Errachidia, Midelt et Zagora** (Figure 32).

Cette étude s'effectue essentiellement au niveau des provinces : **Errachidia, Ouarzazate, Tinghir, et Zagora**. La province de Midelt a été définitivement exclus en raison d'absence des données épidémiologiques et des frottis cutanés.

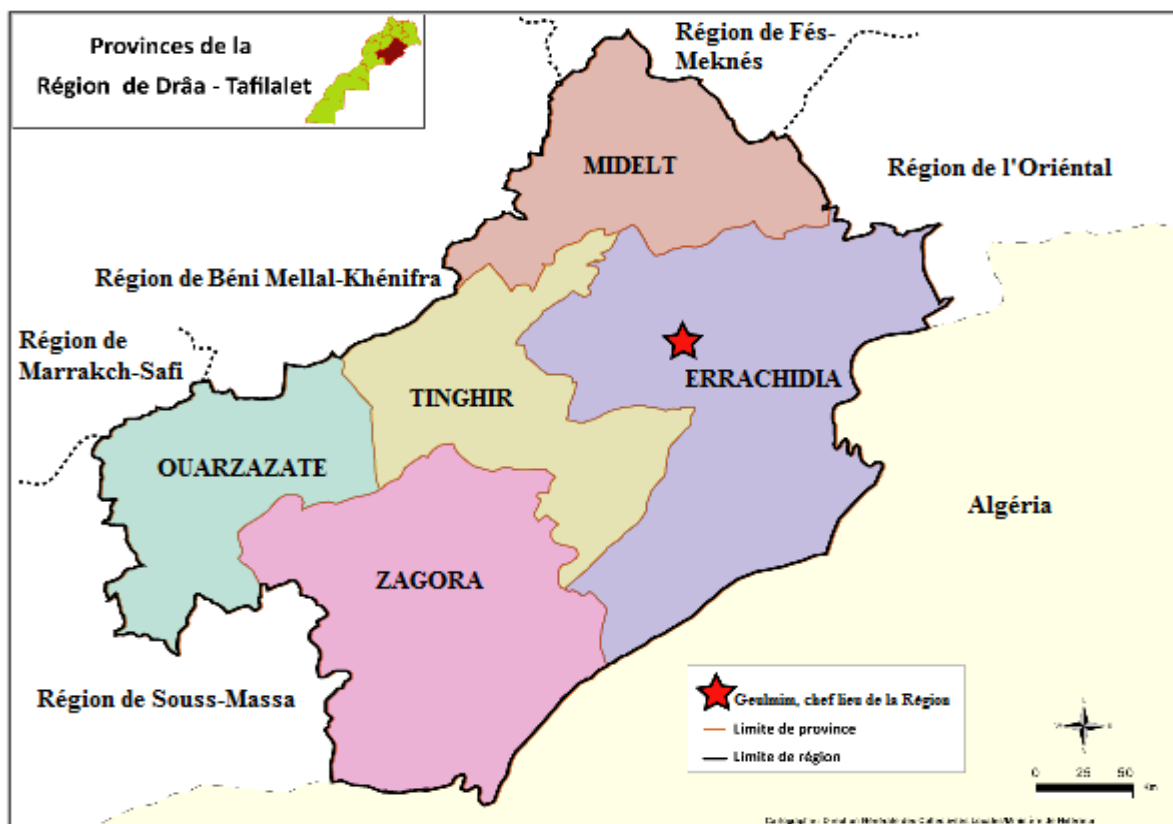


Figure 32: Situation géographique de la de la région Drâa-Tafilalet (HCP, 2014).

1. Profils épidémiologique de la leishmaniose cutanée au niveau de la région Drâa-Tafilalet

1.1.Type de dépistage

Le resultat des cas recensés, au niveau des provinces d'Ouarzazate, Tinghir et Zagora ont révélé que la majorité des patients (76,8 % ; 89,47 % ; 90,75%) ont été dirigés volontairement au centre de la santé (dépistage passif), le reste des cas diagnostiqués (23.2 %, 10,53 % et 9,25 % respectivement) ont nécessité un déplacement de l'équipe sanitaire (dépistage actif par

de professionnel de santé) (Tableau 16). Au niveau de la province d'Errachidia presque tout les cas ont été diagnostiqués au centre de la santé (dépistage passif).

Tableau 16: Pourcentage des malades liés au type de dépistage

Province	Ouarzazate		Tinghir		Zagora	
	Total		Total		Total	
	Cases	%	Cases	%	Cases	%
Dépistage						
Active	1175	23.2	115	10.53	265	9.25
Passive	3882	76.8	977	89.47	2597	90.75

1.2. Vulnérabilité liée à l'âge

1.2.1. Province d'Errachidia

Au niveau de cette province, la prédominance de la population très jeune (11 à 20 ans) est retrouvée au sein de cette forme de maladie (soit 32,03 %) suivie de l'âge de 1 à 10 ans (21,39 %). Les autres tranches d'âge (de 11-20, 31- 40 ans et 41-50) ont été peu affectées avec respectivement 12,93 %, 11,74 % et 12,98 %. Cependant, la tranche d'âge supérieure à 60 ans est moins affectée avec 8,91 % (Figure 33). La différence entre les tranches d'âge était statistiquement significative ($p\text{-value}<0,05$).

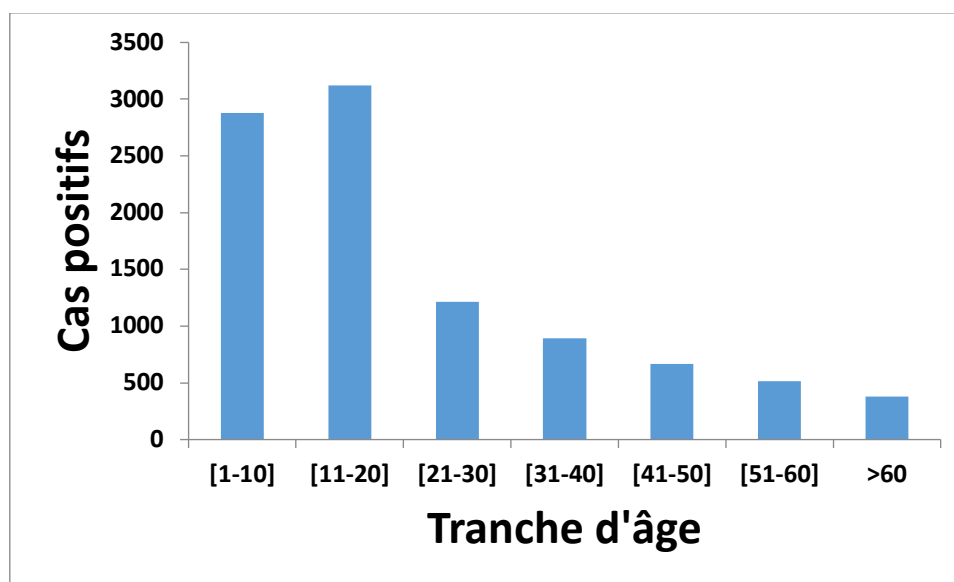


Figure 33: Répartition de la LC de 2000 à 2017 selon l'âge au niveau de la province d'Errachidia

1.2.2. Province d'Ouarzazate

Cette province a enregistré un total de 8 345 cas de 2000 à 2016. Toutes les tranches d'âge sont touchées y compris celles supérieures à 60 ans (Figure 34). La population infantile (1-10 ans) et adolescents 11-20 ans sont les catégories les plus touchées avec respectivement 37,4 % et 23,4 % de cas. La tranche d'Âge 31-40 ans est également concerné avec 12 % de cas. La différence entre les tranches d'âge était statistiquement significative ($p\text{-value}<0,05$).

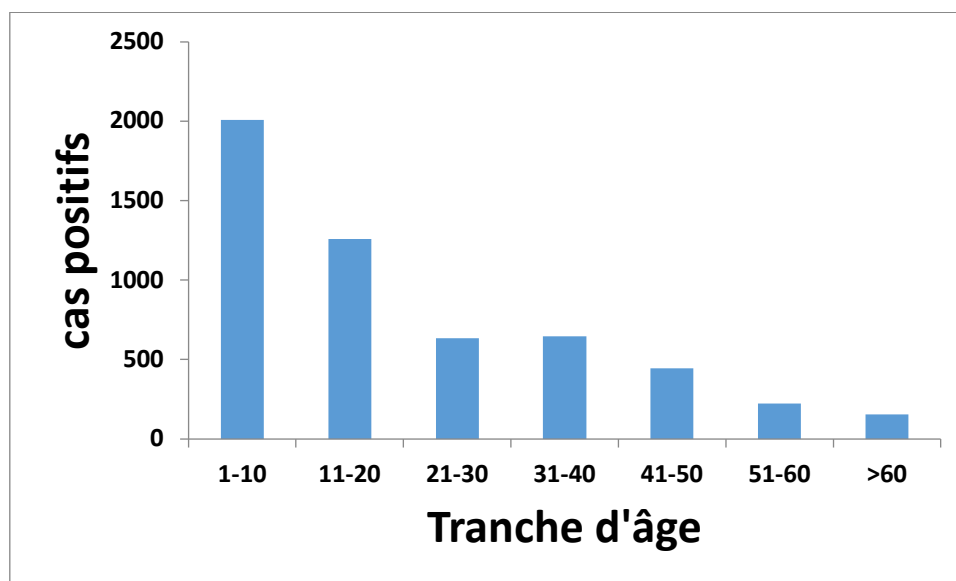


Figure 34: Répartition de la LC de 2000 à 2017 selon l'âge au niveau de la province d'Ouarzazate

1.2.3. Province de Tinghir

Les 2647 cas de LC déclarés dans la province de Tinghir ont été répartis sur différentes tranches d'âge avec la dominance des enfants âgés de 1 à 10 ans avec 73,18% suivi par la tranche d'âge de 11 à 20 ans avec 1244 cas (11,41 %) (Figure 35). Les autres tranches d'âge de 51 à 60 ans et de plus de 60 ans ont été moins touchées avec 2,46 % et 2,01 % respectivement. La différence entre les tranches d'âge était statistiquement significative ($p\text{-value}<0,05$).

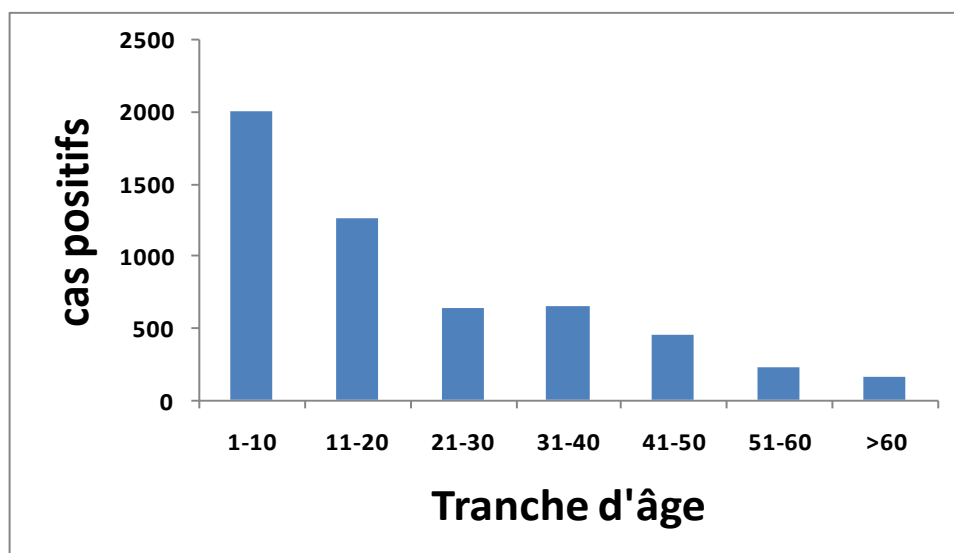


Figure 35: Répartition de la LC de 2011 à 2017 selon l'âge au niveau de la province Tinghir

1.2.4. Province de Zagora

Au niveau de cette préfecture 2 860 cas de LC ont été déclarés. Les personnes de 1 à 10 ans sont hautement touchées par la maladie avec un total de 1 340 cas (46,85 %), par rapport 27,06 et 10,97 % respectivement chez lestranches d'Age de 11 à 20 ans et 21 à 30 ans. Les personnes âgées de plus de 60 ans sont les moins touchées avec 1,36 % de cas (Figure 36). La différence entre les tranches d'age était statistiquement significative ($p\text{-value}<0,05$).

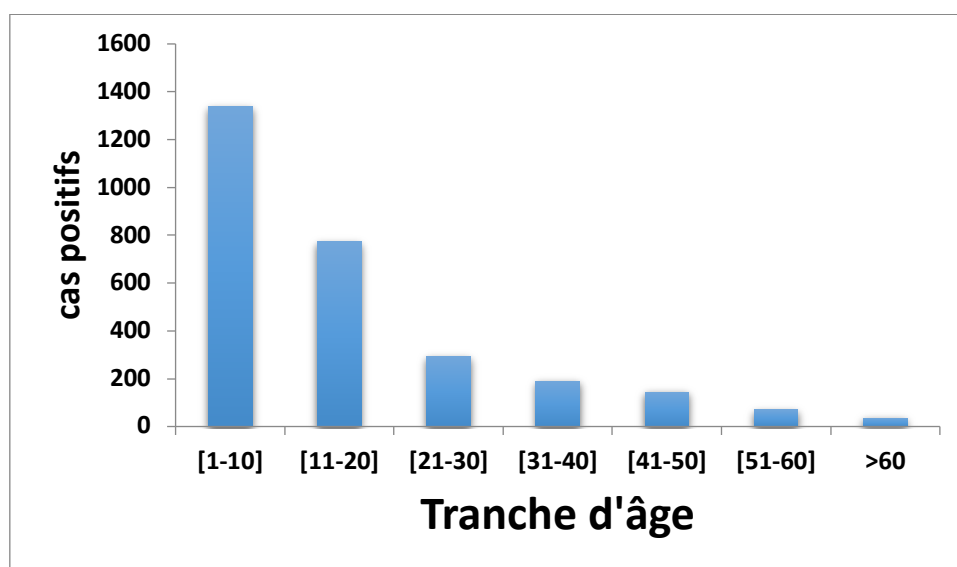


Figure 36: Répartition de la LC de 2011 à 2017 selon l'âge au niveau de la province Zagora

1.3.Vulnérabilité liée au sexe

1.3.1. Province d'Errachidia

Les deux sexes sont affectés par la CL, et les femmes étaient plus affectées avec une sex-ratio F / M = 1,44. La différence entre les hommes et les femmes était statistiquement significative (P -value<0,05).

1.3.2. Province d'Ouarzazate

La répartition des cas de la LC selon le genre montre une dominance légère chez les femmes, 54 % des femmes contre 46 % des hommes. Le sex-ratio H/F était de 0,85, la différence entre les hommes et les femmes était statistiquement significative (P -value<0,05).

1.3.3. Province de Tinghir

Au niveau de cette province, la distribution de la LC selon le genre a montré que les deux sexes sont touchés avec la dominance des femmes (52,2 versus 47,8 %). Le sex-ratio H/F était de 0,9, sans aucune différence statistiquement significative entre les deux sexes p -value = 0,19.

1.3.4. Province de Zagora

Ainsi au niveau de la province de Zagora, 52,48 % des femmes ont été touchées par rapport 47,51 % chez les hommes. Le sex-ratio H/F était de 0,95, la différence entre les deux sexes était statistiquement significative (p -value<0,05).

2. Répartition et l'évolution spatio-temporelle de la leishmaniose cutanée selon les provinces

2.1.Province Errachidia

➤ Répartition temporelle

Au cours de la période 2000-2017, un total de 10 038 cas de LC ont été notifiés dans la province d'Errachidia. La situation épidémiologique est restée stable jusqu'en 2004 avec une moyenne de 2 cas par an, sur la période 2005-2011, l'incidence de LC a connu une augmentation exponentielle avec fluctuations. La période de 2007 à 2011 a connu une grande épidémie. L'incidence de LC a légèrement diminué les années suivantes, avec une nouvelle recrudescence jusqu'à 2,9 cas /100 000 habitants en 2014. Le pic d'incidence maximal a été atteint en 2010 avec 992,5 / 100 000 par habitants (3 445 cas) (Figure 37).

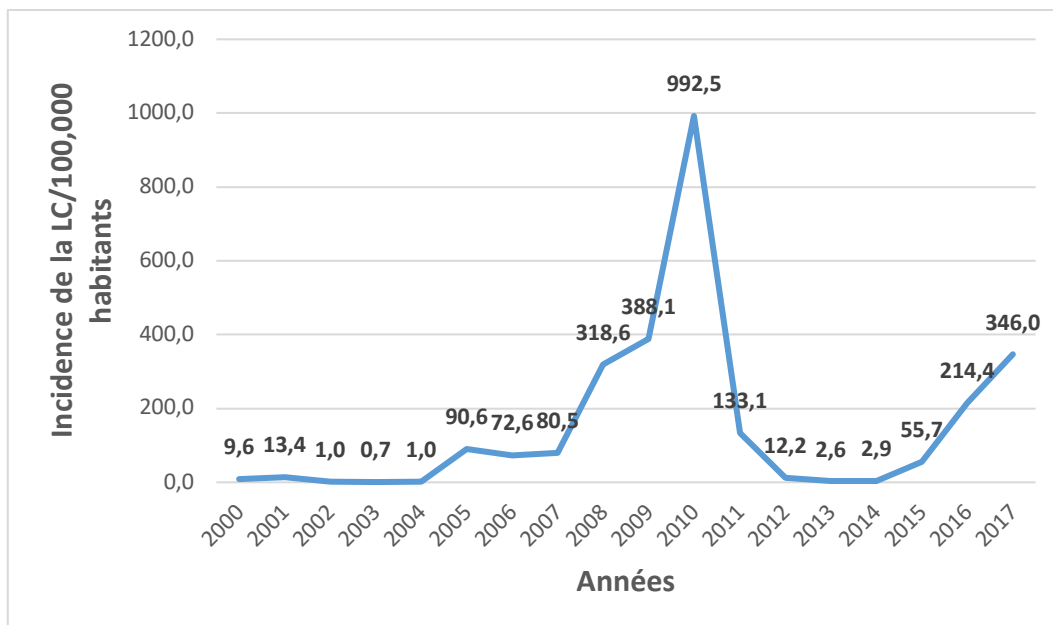


Figure 37: Distribution de la LC de 2000 à 2017 au niveau de la province d'Errachidia

➤ Répartition Spatiale

La distribution spatiale et temporelle des cas de LC dans les quatre cercles de la province d'Errachidia est illustrée au niveau de la figure 38. Les premiers cas de LC enregistrés sont apparus en 2001, le nombre déclaré est resté faible jusqu'à 2006 (figure 38A). Les années suivantes, (de 2007 à 2012), l'épidémie s'est propagée au nord et à l'ouest de la province vers le Sahara au sud et jusqu'à la frontière algérienne. Nous avons observé que tous les communes ont été touchés par la LC (plus de 1000 cas dans les quatre cercles), le taux le plus élevé de LC a été trouvé dans le nord de la province (figure 38B). Compte tenu de la lutte effectuée suite à cette épidémie, les cas de LC ont chuté à 11 pour l'ensemble de la province (figure 38C). Le nombre de cas de LC a continué à diminué en 2014, pour enregistrer quelques cas (8) au nord de la province et précisément dans le cercle d'Errachidia (Figure 38D). Parmi les quatre cercles de cette province, la distribution temporelle et spatiale de la LC enregistrée de 2001 à 2014, a montré que 79,86 % des cas ont été enregistrés dans les cercles de Goulmima et Er-rissani (3 communes urbains et 13 communes ruraux sur 29 communes touchées) et 11,76 %, 8,38 % ont été déclarés respectivement dans les cercles d'Arfoud et Errachidia (Figure 38).

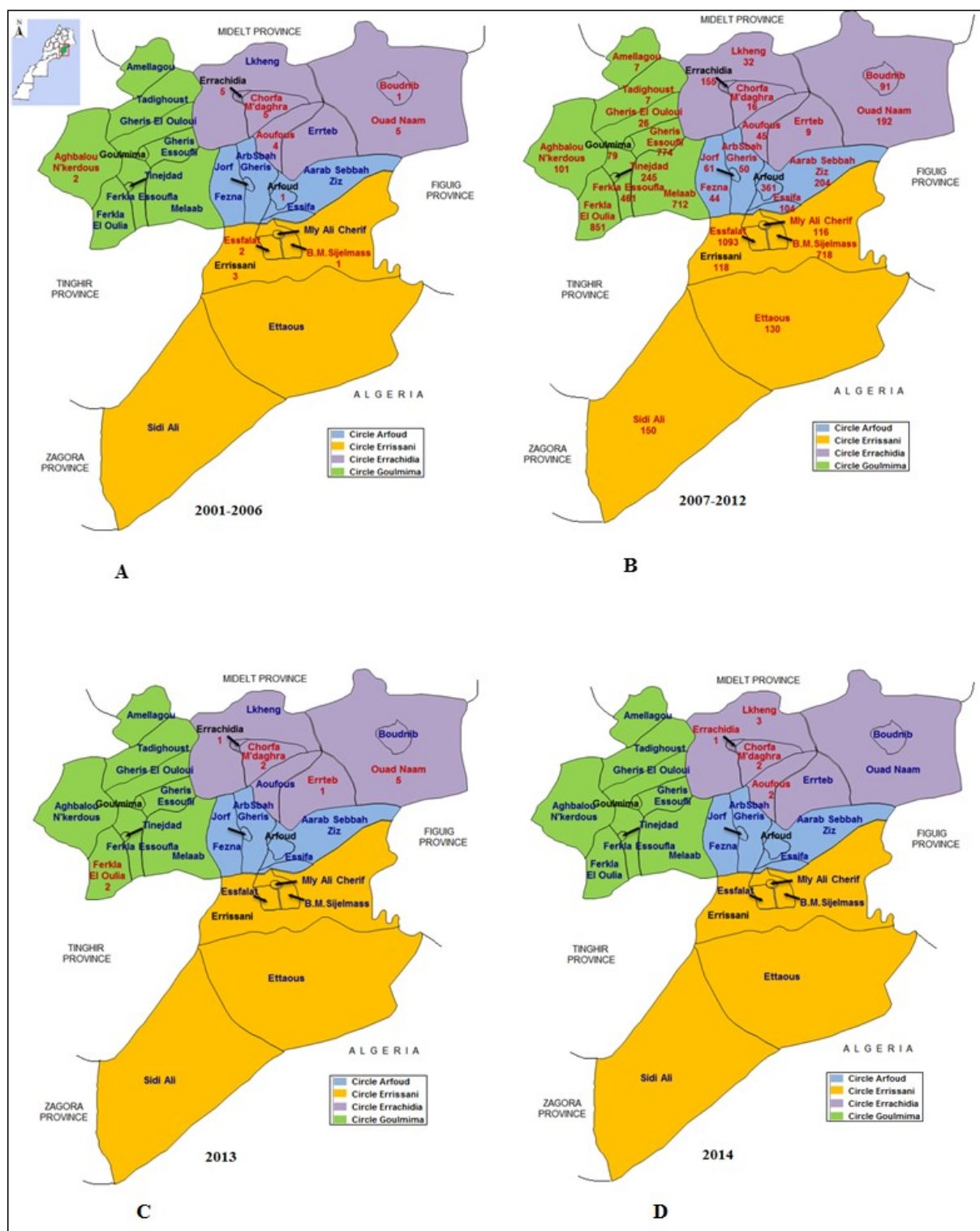


Figure 38: Répartition spatiale de la LC de 2000 à 2014 selon les secteurs de la province d'Errachidia

2.2.Province Ouarzazate

➤ Répartition temporelle

Selon les cas déclarés par DELM, la distribution temporelle de la leishmaniose au fil des années a montré que la maladie a enregistré un seul pic en 2003 avec un taux d'incidence de 631,9 /100 000 habitants (Figure 39). Depuis l'année 2003, où il y a eu une augmentation remarquable des cas malades, le nombre de personnes infestées est resté relativement faible jusqu'à 2017 (Figure 39). L'analyse statistique de ce résultat (Tableau 17) a donné un coefficient de détermination $R^2 = 0.05$ ce qui montre que la corrélation entre la distribution de la LC et le temps est faible ($P\text{-value} = 0.201$) (Figure 39).

Tableau 17: Regression des cas de la LC en fonction des années au niveau de la province d'Ouarzazate

Variables	Coefficient	t-Statistic	P-value
Intercept	63930,64	1,350	0,198
Années	-3,604e-03	-1,342	0,201
$R^2 = 0,05$		$F(1,14) = 1,801$	$F(1,14) = 0,2009$

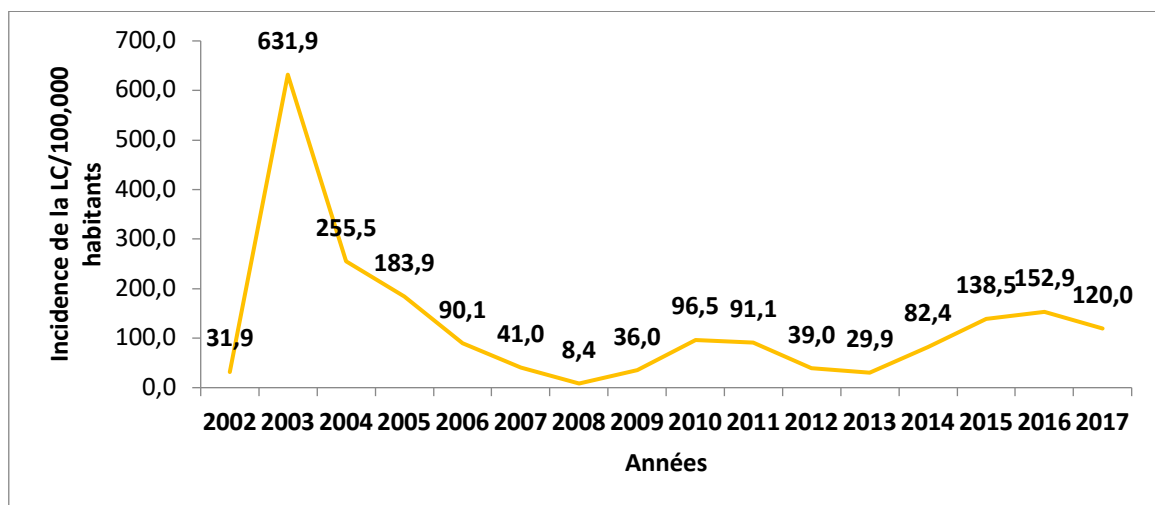


Figure 39: Distribution de la LC de 2000 à 2017 au niveau de la province d'Ouarzazate

➤ Répartition Spatiale

De 2002 à 2016, la distribution spatiale de la leishmaniose au fil des années a montré que la maladie a été détectée dans 12 des 17 communes qui composent cette province, avec des degrés d'infestation qui diffèrent d'une commune à l'autre (Figure 40). Cependant, l'évolution spatiale est variable au niveau les communes : Ouarzazate centre située au centre, Tarmight située au Sud, Idelsane et Skoura situées à l'Est, ont été très affectées par la LC avec respectivement 2 246, 1 427, 499 et 550 cas enregistrés. Les autres communes ont été légèrement touchées : Toudounte et Imi-N'oulaoune à l'Est, Ghassat, Ait Zineb et Amerganeu centre, et finalement Taznakht et Ouisselsate au Sud-Ouest avec respectivement 154, 56, 54, 165, 87, 7, et 61 de cas enregistrés.

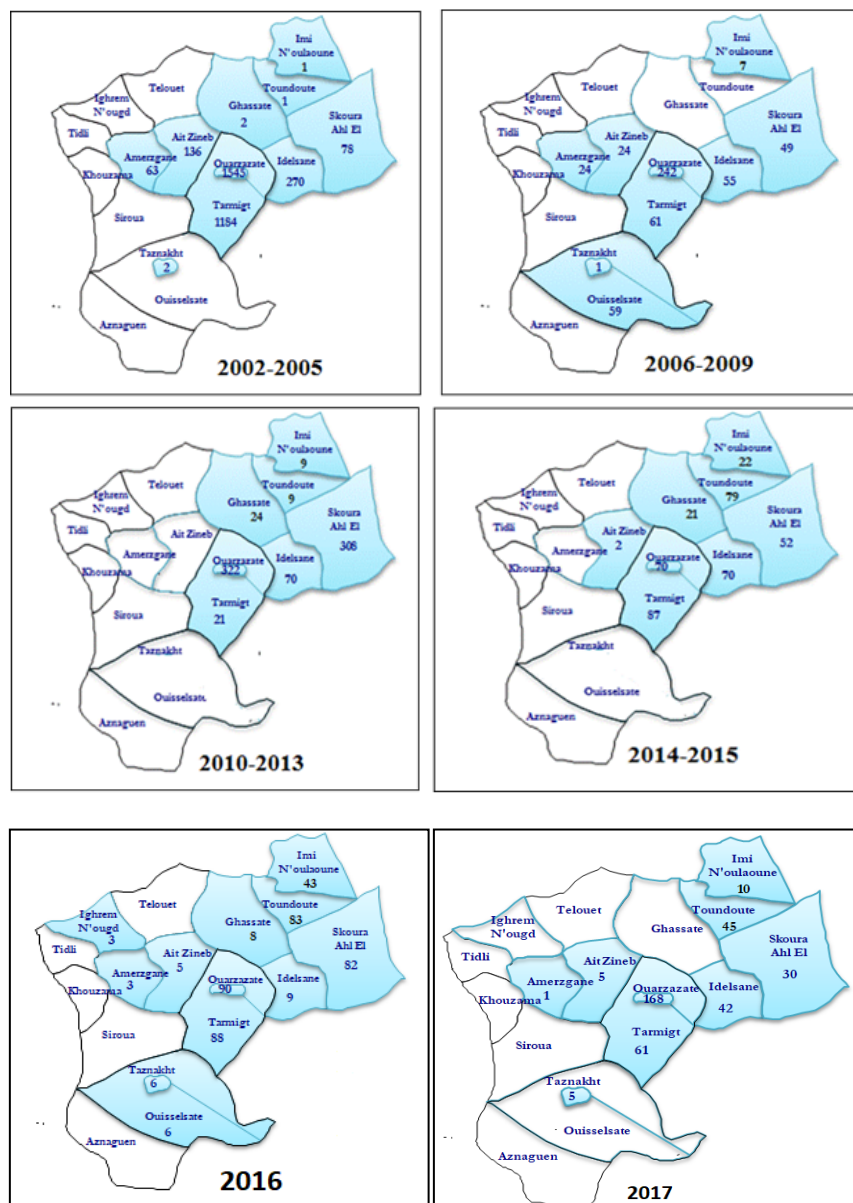


Figure 40: Répartition spatiale de la LC de 2002 à 2017 selon les communes d'Ouarzazate

2.3. Province de Tinghir

➤ Répartition temporelle

La déclaration officielle des cas de leishmaniose cutané au niveau de cette province a été notifiée au début de l'année 2011 suite au nouveau découpage communal qui a séparé Thingir d'Ouarzazate. L'incidence de la maladie a été forte avec une moyenne de 174,2 pour 100 000 habitants et ce de 2011 à 2017. Au fil de sept dernières années le taux d'incidence est passé de 70,1 à 152,6 cas pour 100 000 habitants. Une ré-augmentation a été notée en 2016, le taux d'incidence a connu une forte augmentation jusqu'à un peu près 400 cas pour 100 000 habitants en 2017 (Figure 41). L'analyse statistique de ce résultat (Tableau 18) a donné un coefficient de détermination $R^2 = 0,37$ ce qui montre que la corrélation entre la distribution de la LC et le temps est faible ($P\text{-value} = 0,085$).

Tableau 18: Régression des cas de la LC en fonction des années au niveau de la province de Tinghir

Variables	Coefficient	t-Statistic	P-value
Intercept	-241621,64	-2,130	0,0864
Années	120,25	2,135	0,0858
$R^2 = 0,37$		$F(1,5) = 4,559$	$F(1,5) = 0,085$

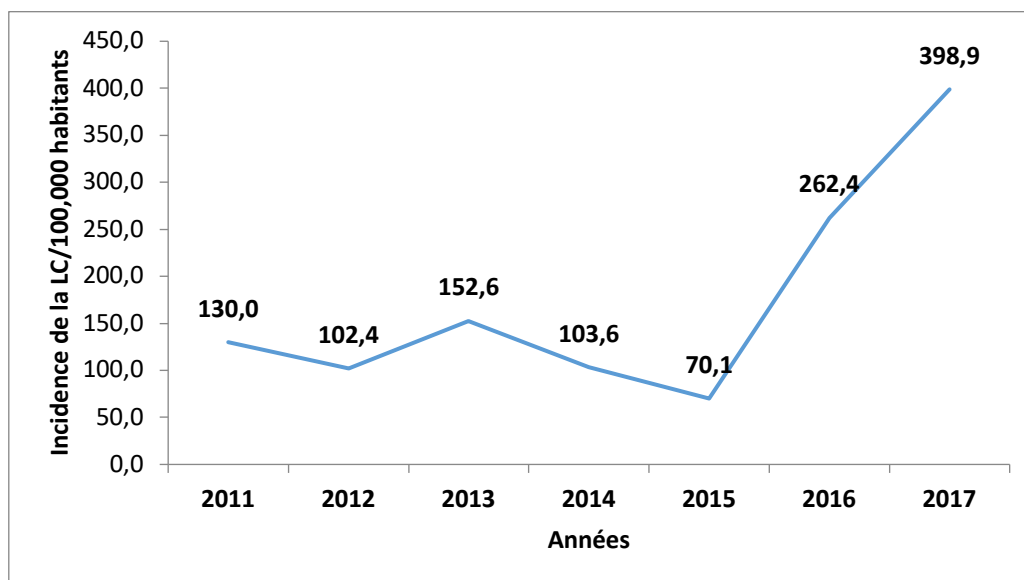


Figure 41: Distribution de la LC de 2011 à 2017 au niveau de la province de Tinghir

➤ Répartition Spatiale

La répartition spatiale de la maladie au niveau de cette province a été réalisée depuis l'année de 2011 jusqu'à l'année 2017 et ce, en se référant aux données de SIAAP. Ces données illustrées dans la Figure 42 montrent que parmi les 26 communes qui constituent la province, 21 ont été touchées par la LC durant les sept années d'étude. La commune de Tinghir-centre située à l'Ouest de la province a enregistré le nombre de cas le plus élevé de cas de LC, suivie successivement par les communes ; Boumalene localisée au centre, Kalaat megounae située au l'Est, Ait ouassif, Ighil Noumgoun située à l'Est, Souk lakhmis et Ait youl situé au sud. Les autres communes ont enregistré moins de cas de LC à savoir : Taghezoute, Iknouen, Ait sedrat jbek soufla et Ait sedrat Sahel, alors que les communes les moins touchées sont H'ssya, Alnif, Ait sedrat sahel, Ait el farsi, et en fin M'ssici.

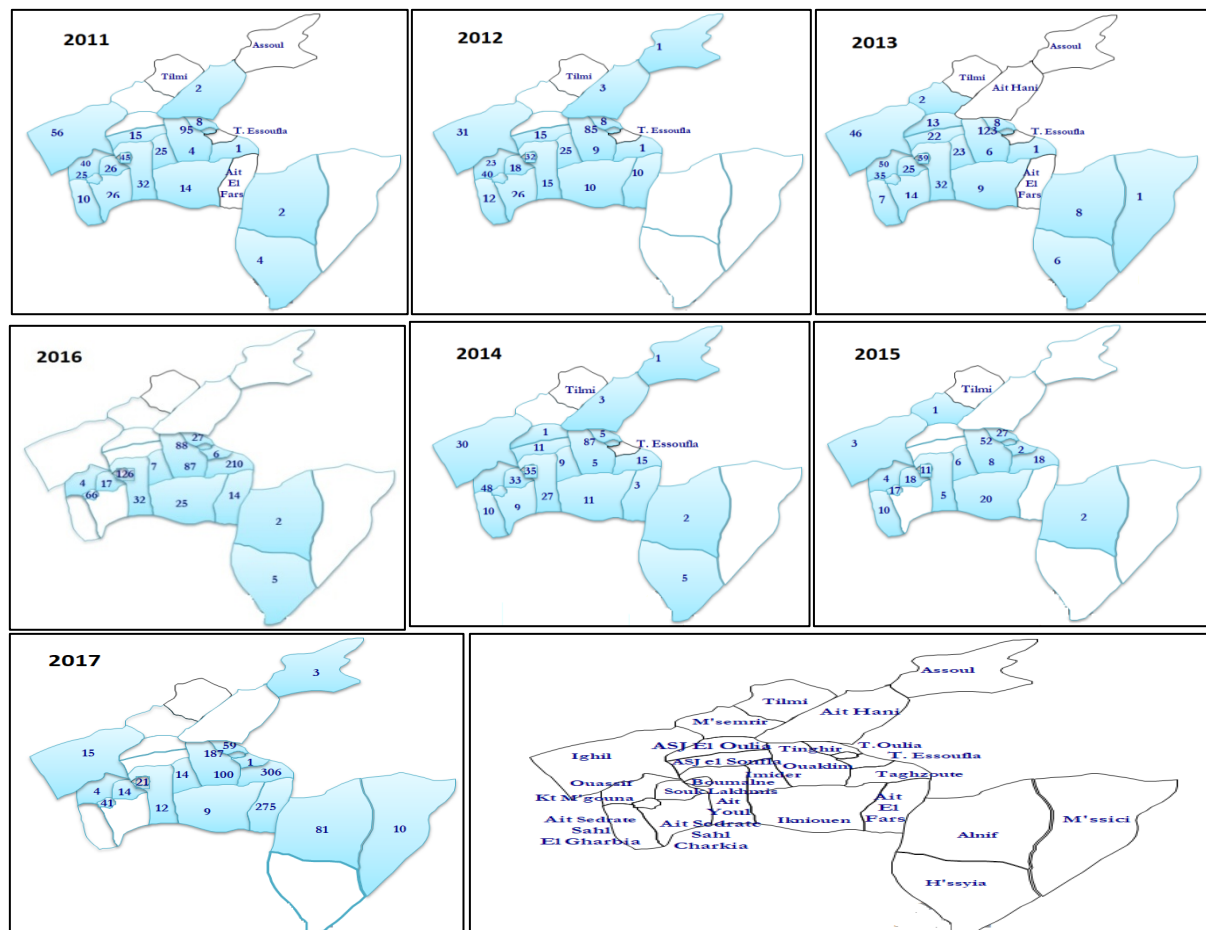


Figure 42: Répartition spatiale de la LC de 2011 à 2017 selon les communes de Tinghir

2.4. Province de Zagora

➤ Répartition temporelle

Les cas de leishmaniose cutanée enregistrés à Zagora de 2000 à 2017 montrent qu'il y a une poussée épidémique en 2006, suivi de 2008 ensuite 2009 et finalement 2017. L'incidence de la leishmaniose cutanée pour les années 2000 à 2017 pour 100 000 habitants (Figure 43) dans la province de Zagora a montré une variation d'une année à l'autre, avec un pic en 2009 (612.4 pour 100 000 habitants), et un autre en 2017 (547,98 pour 100 000 habitants). La commune la plus touchée est Tinzouline, elle a enregistré un pic de 1 882 cas en 2009.

L'étude statistique de ce résultat (Tableau 20) a montré un très faible coefficient de détermination ($R^2 = 0,019$) avec une p -value = 0,263, valeur supérieure au seuil de 0,05.

Tableau 19: Régression des cas de la LC en fonction des années au niveau de la province de Zagora

Variables	Coefficient	t-Statistic	P-value
Intercept	-63604,30	-1,150	0,267
Années	31,91	1,159	0,263
$R^2 = 0,019$		$F(1,16) = 1,343$	$F(1,16) = 0,2635$

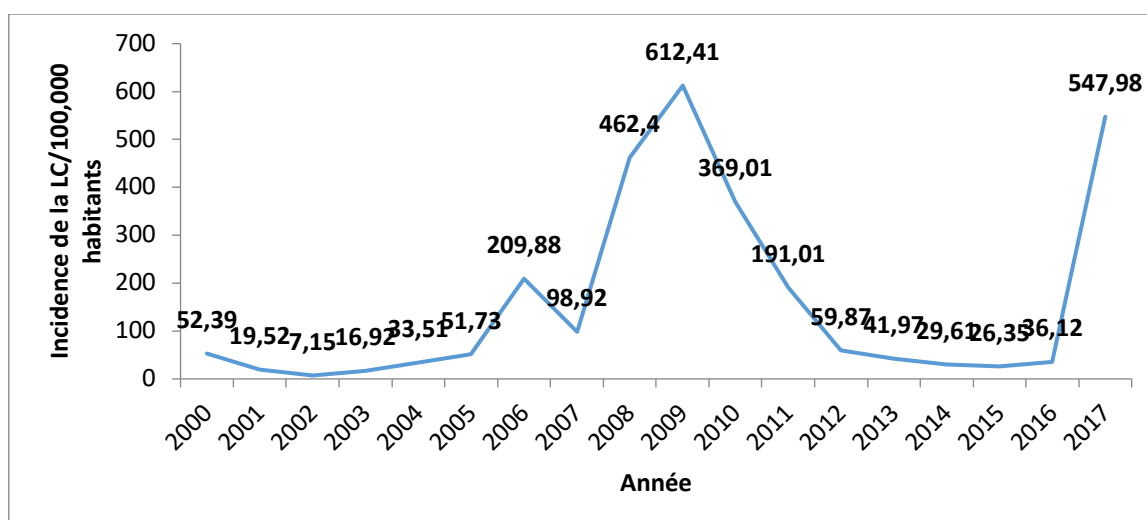


Figure 43: Distribution de la LC de 2000 à 2017 au niveau de la province de Zagora

➤ Répartition Spatiale

L'analyse des cas déclarés par le SIAAP de 2011 à 2017 montre que toutes les communes (Figure 44) de Zagora sont touchées par la LC. Les communes les plus touchées sont : Tinzouline (plus touchée) avec 27 % des cas, Beni zoli 10 % du nombre de cas, Ternata 9 %, et Tazoult 8 %.

Bouzeroual 8 %, Tamegroute 7 % et la municipalité de Zagora avec un pourcentage de 6 %.

Les communes les moins affectées sont : Bleida, M'hamid, Taftechna et Ait Ouallal.

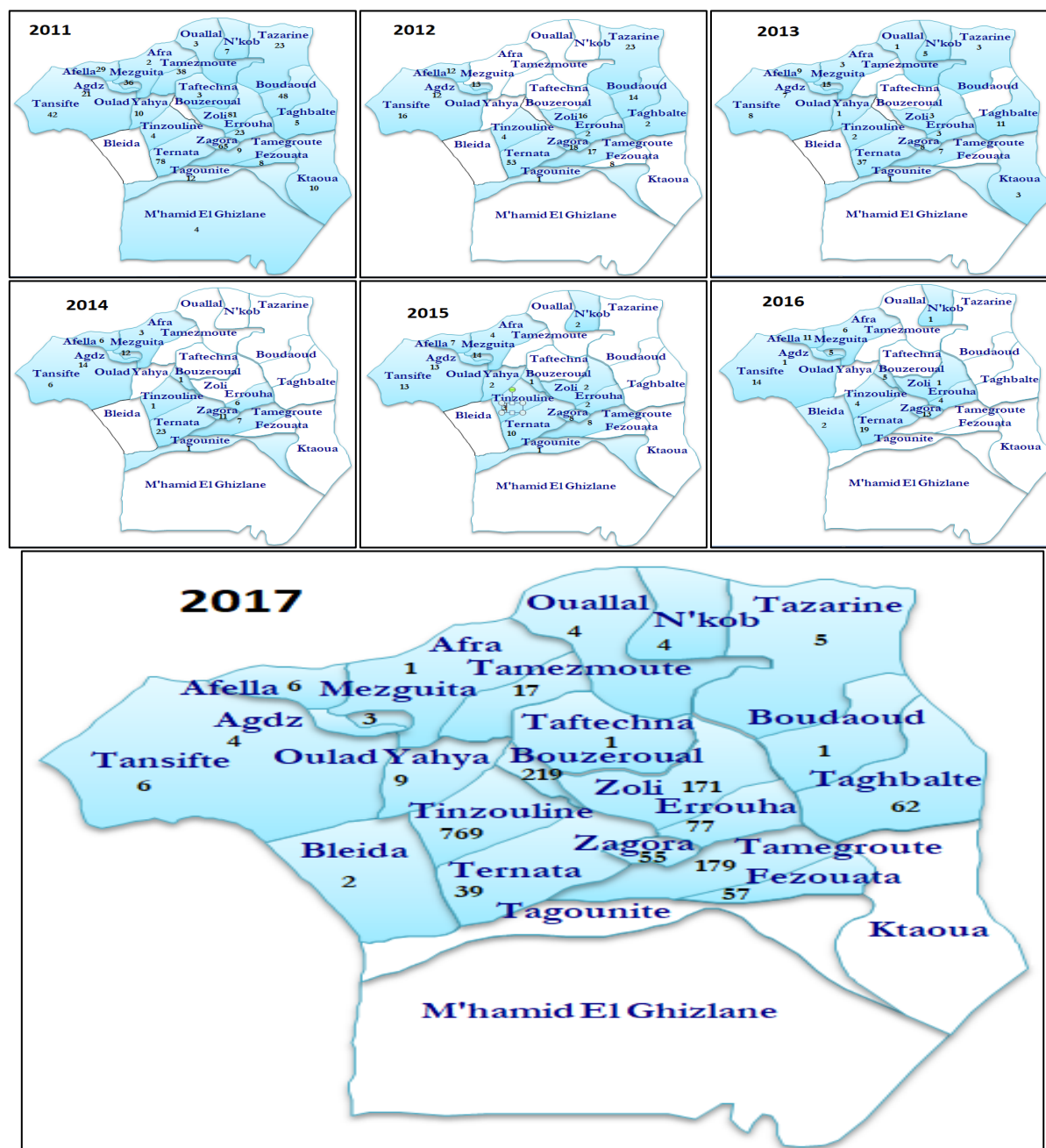


Figure 44: Répartition spatiale de cas de la LC de 2011 à 2017 selon les secteurs de la province de Zagora

3. L'analyse des facteurs Socio-économiques, environnementaux et démographiques sur la distribution de LC

Nous avons utilisé différentes informations en fonction de la disponibilité des données officielles dans cette zone. Ces informations rassemblées ont donné l'état et l'évolution de la maladie en fonction de plusieurs facteurs d'impact. Les données des indicateurs utilisés des huit composantes ont été exploitées pour les quatre provinces d'étude, afin de comprendre l'expansion de cette maladie en fonction des facteurs de risque associés dans cette zone. L'analyse statistique a montré qu'au niveau de ces provinces la répartition de la LC n'est pas homogène entre les différents étages bioclimatiques.

La recherche des facteurs de risque associés aux nombre de cas a montré que le taux de pauvreté et de vulnérabilité, la densité de population, l'altitude, la précipitation la température étaient utilisés dans l'analyse statistique. Seule taux de pauvreté et de vulnérabilité, les précipitations, ont été associés de manière significative au nombre de cas de LC. De plus, une corrélation de régression linéaire a confirmé cette observation d'association entre le nombre de cas et le taux de pauvreté ($R^2 = 0,6472$; $df = (1,8)$; $P\text{-value} < 0,05$), ainsi que le taux de vulnérabilité ($R^2 = 0,389$; $df = (1,8)$; $P\text{-value} = 0,0319$), vulnérabilité de l'âge ($R^2 = -0,824$; $df = (1,5)$; $P\text{-value} < 0,05$), et Précipitations ($R^2 = 0,6051$; $df = (1,8)$; $P\text{-value} < 0,05$), comme indiqué dans le Tableau 20.

En termes de pauvreté, la province de Zagora (taux de pauvreté 32,4 % et vulnérabilité 27,1 %) est la plus vulnérable à la leishmaniose cutanée, suivi par la province de Tinghir (taux de pauvreté 21,3 % et vulnérabilité 26,4 %), puis la province d'Ouarzazate (taux de pauvreté 15,7 % et vulnérabilité 24,1 %) et en fin la province d'Errachidia avec respectivement un taux de pauvreté et vulnérabilité de 15,2 % et 23,8 %.

En ce qui concerne la variabilité interannuelle des précipitations, les résultats illustrent que les provinces de Tinghir et Ouarzazate sont les plus vulnérables à la leishmaniose suivies par les provinces d'Errachidia et Zagora.

Tableau 20: Résultats de la régression linéaire spatiale entre le nombre total de cas de LCet les indicateurs socio-économiques et environnementaux

Facteurs	Variable	Coefficient	T-statistic	P-value
Indicateurs environnementaux	Intercept	-2023,2	-1,056	0,322
	Temperature	136,4	1,343	0,216
		Adjusted $R^2=0,08186$	$F_{(1,8)}=1,802$	$F_{(1,8)}=0,2163$
	Intercept	2127,374	4,884	0,00122
	Precipitation	-8,550	-3,846	0,00491
		Adjusted $R^2=0,6051$	$F_{(1,8)}=14,79$	$F_{(1,8)}=0,0049$
	Intercept	178,1879	0,555	0,594
	Altitude	0,5552	1,431	0,190
		Adjusted $R^2=0,1044$	$F_{(1,8)}=2,049$	$F_{(1,8)}=0,1902$
	Intercept	-380,03	-1,502	0,17142
Indicateurs socioéconomiques	Taux de pauvreté	66,13	4,185	0,003**
		Adjusted $R^2=0,6472$	$F_{(1,8)}=17,51$	$F_{(1,8)}=0,003$
	Intercept	-1183,08	-1,732	0,1215
	Taux de vulnérabilité	82,19	2,594	0,0319 *
		Adjusted $R^2=0,389$	$F_{(1,8)}=6,73$	$F_{(1,8)}=0,0319$
Indicateurs démographiques	Intercept	7,603e+02	1,335	0,219
	Population	-5,382e-04	-0,431	0,678
		Adjusted $R^2=-0,09943$	$F_{(1,8)}=0,186$	$F_{(1,8)}=0,6776$
	Intercept	1521,04	8,546	0,0004
	Age	-266,25	-5,393	0,003**
		Adjusted $R^2=-0,824$	$F_{(1,5)}=29,08$	$F_{(1,5)}=0,003$
	Intercept	3413,333	1,490	0,210
	Sex	-767,667	-0,530	0,624
		Adjusted $R^2=-0,168$	$F_{(1,4)}=0,281$	$F_{(1,4)}=0,624$

4. Identification Moléculaire des espèces

Cette étude a concerné 117 frottis cutanés provenant des provinces d'Ouarzazate, Tinghir et Zagora, recensés entre 2015-2017 et confirmés positifs par microscopie au niveau du LNRL. Le diagnostic par ITS1-PCR a détecté 58 cas positifs parmi 117 patients ayant subi l'analyse moléculaire (50,87 %) (Tableau 21). Au niveau de la province d'Errachidia, l'analyse moléculaire a concerné un nombre total de 30 frottis de patients confirmés positifs par microscopie de 2010 et 2014.

Tableau 21: Résultats de l'analyse microscopique et moléculaire des lames examinées

Type d'examen	Nombre des lames examinées			Nombre des lames positives			Pourcentage des lames positives %		
	Ouarzazate	Tinghir	Zagora	Ouarzazate	Tinghir	Zagora	Ouarzazate	Tinghir	Zagora
Microscopique et/ou moléculaire	80	75	20	70	63	18	87,5	84,0	90,0
Microscopique	72	60	18	48	53	16	66,6	88,3	88,8
Moléculaire	45	53	16	31	17	10	68,8	32,0	62,5

L'amplification de la région ITS1 des lames ; provenant des communes les plus affectées des provinces d'Errachidia, Ouarzazatte, Tinghir, et Zagora confirme le résultat positif de l'examen microscopique. Ce résultat est traduit par la présence d'une bande de 300pb correspondant à la région ITS1 amplifiée du genre *Leishmania* (Figure 45). Les bandes ont été visualisées sur gel d'agarose.

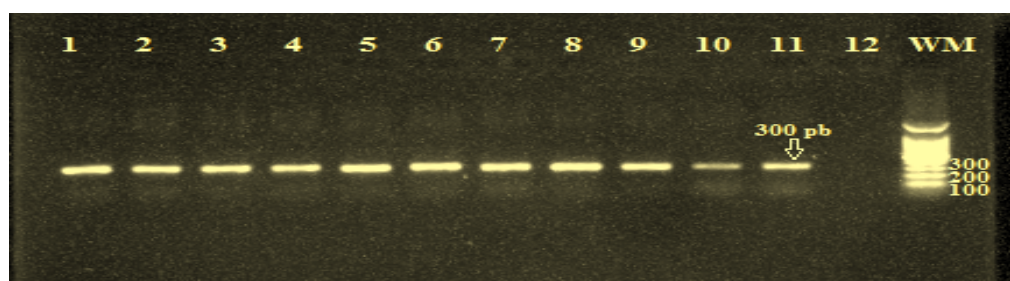


Figure 45: Application de la technique PCR- ITS1 sur des lames positives provenant des provinces étudiées

Lignes 1-10: Échantillons à partir des lames, 11 : témoin positif, 12: témoin négatif, WM: marqueur de poids moléculaire : 100bp.

4.1. Identification de l'espèce par méthode de Restriction Fragment Length Polymorphisme (RFLP)

➤ Province d'Ouarzazate

Au niveau de toutes les provinces nous avons utilisé l'enzyme de restriction MnlI qui possède un site de coupure dans la région ITS1 de l'espèce *L. tropica* générant ainsi 2 bandes de 276 et 43 pb, 4 bandes mesurant, respectivement, 173 pb, 109 pb, 43 pb et 10 pb pour *L. major*, alors que pour l'espèce *L. infantum*, cette enzyme de restriction ne possède aucun site de coupure, donc la bande mesure 300 pb. Les résultats de l'analyse RFLP des 45 échantillons dans cette province a révélé la présence de deux profils de restriction qui coïncident parfaitement avec le profil de *L. tropica* et *L. major* (Figure 46, 47). De plus, *L. tropica* a été identifiée dans toutes les communes les plus touchées par la LC durant la période d'étude. Alors que *L. major* n'a été trouvée que dans cinq communes à savoir : Skoura, Toudount, Tarmight, Ghassate et Ouarzazate (Table 22).

Tableau 21. Résultat de l'étude moléculaire de la LC provenant des communes les plus touchées au niveau de la province d'Ouarzazate

Commune	Nombre de lames	PCR-ITS1	PCR-RFLP
Skoura	5	Positif	4 <i>L. tropica</i>
			1 <i>L. major</i>
Toudount	7	Positif	6 <i>L. tropica</i>
			1 <i>L. major</i>
Tarmight	5	Positif	3 <i>L. tropica</i>
			2 <i>L. major</i>
Ghassat	3	Positif	1 <i>L. tropica</i>
			2 <i>L. major</i>
Ouarzazate	8	Positif	3 <i>L. tropica</i>
			5 <i>L. major</i>
Idelsane	1	Positif	<i>L. tropica</i>
Ouisselassate	1	Positif	<i>L. tropica</i>
Imi-nouloane	1	Positif	<i>L. tropica</i>

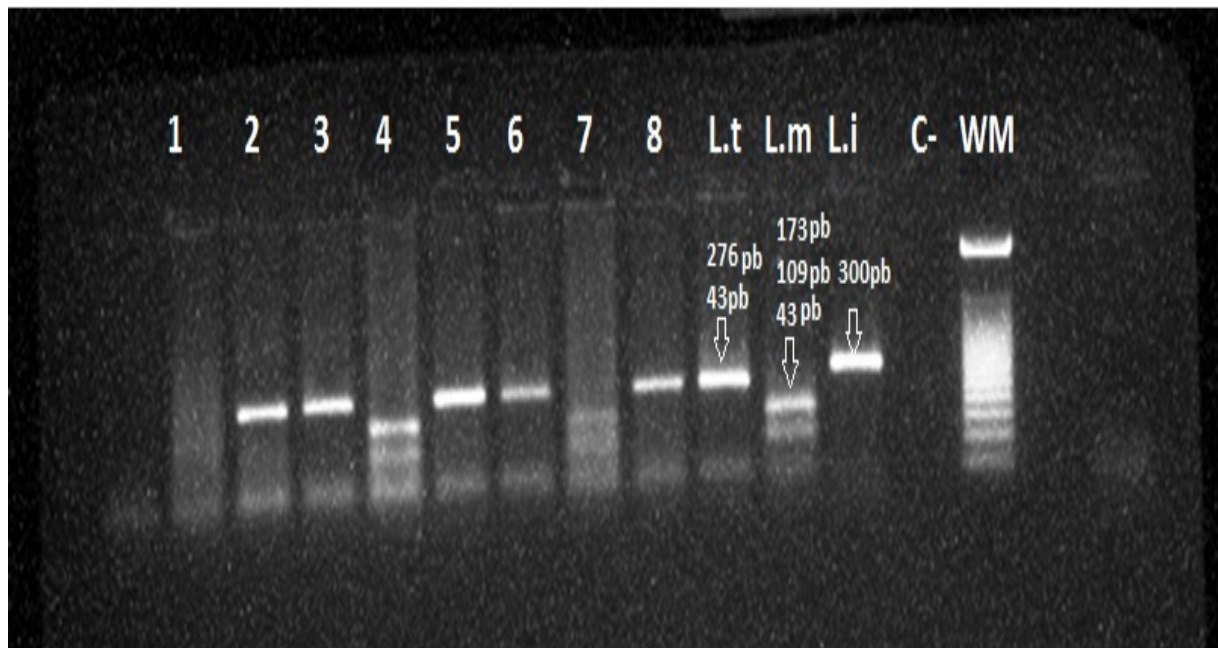


Figure 46: Application de l'analyse RFLP par l'enzyme *MnII* sur le produit PCR- ITS1 des lames positives provenant de la province d'Ouarzazate

Lignes 1,2,5,6, et 8 : *L. tropica*; Lignes 4 et 7 : *L. major* ; Témoins positifs : Lt : *L. tropica*,
Lm : *L. major*, Li : *L. infantum*; WM: marqueur de poids moléculaire : 50bp) ;
C- : témoin négatif.

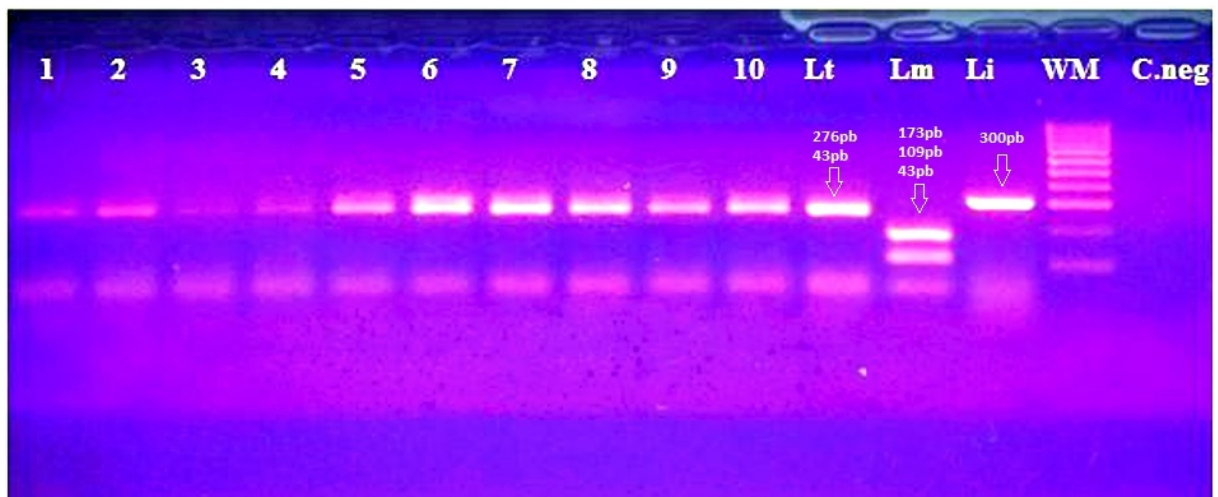


Figure 47: Application de l'analyse RFLP par l'enzyme *MnII* sur le produit PCR- ITS1 des lames positives provenant de la province d'Ouarzazate

Lignes 1-10 : *L. tropica*; Témoins positifs : Lt : *L. tropica*,
Lm : *L. major*, Li : *L. infantum*; WM: marqueur de poids moléculaire : 50bp) ;
C. neg : témoin négatif.

➤ **-Province d'Errachidia**

Les résultats de l'étude moléculaire de 22 échantillons de LC prélevés en 2010 ont montré que 11 frottis de patients révélés positifs étaient à *L. major* dans les cercles d'Errachidia, d'Er-Rissani et de Goulmima. En 2014, l'identification moléculaire des 8 cas déclarés dans les cercles d'Errachidia a montré la présence de *L. tropica* uniquement (Tableau 24, Figure 48).

Tableau 22: Résultats de l'étude moléculaire des lames des cercles les plus touchés de la province d'Errachidia

Province	Années	Cercle	Commune	ITS1-PCR	Resultats RFLP-HaeIII
Errachidia	2014	Errachidia	L'kheng	Positive	<i>L. tropica</i>
	2014		L'kheng	Positive	<i>L. tropica</i>
	2014		M'daghra	Positive	<i>L. tropica</i>
	2014		Aoufous	Positive	<i>L. tropica</i>
	2014		Errachidia	Positive	<i>L. tropica</i>
	2014		Errachidia	Positive	<i>L. tropica</i>
	2014		M'daghra	Positive	<i>L. tropica</i>
	2010	Er-rissani	Er-rissani	Positive	<i>L. major</i>
	2010		Er-rissani	Positive	<i>L. major</i>
	2010		Er-rissani	Positive	<i>L. major</i>
	2010		Er-rissani	Positive	<i>L. major</i>
	2010		Er-rissani	Positive	<i>L. major</i>
	2010	Goulmimma	Goulmimma	Positive	<i>L. major</i>
	2010		Goulmimma	Positive	<i>L. major</i>
	2010		Goulmimma	Positive	<i>L. major</i>
	2010	Errachidia	Errachidia	Positive	<i>L. major</i>
	2010		Errachidia	Positive	<i>L. major</i>
	2010		Errachidia	Positive	<i>L. major</i>

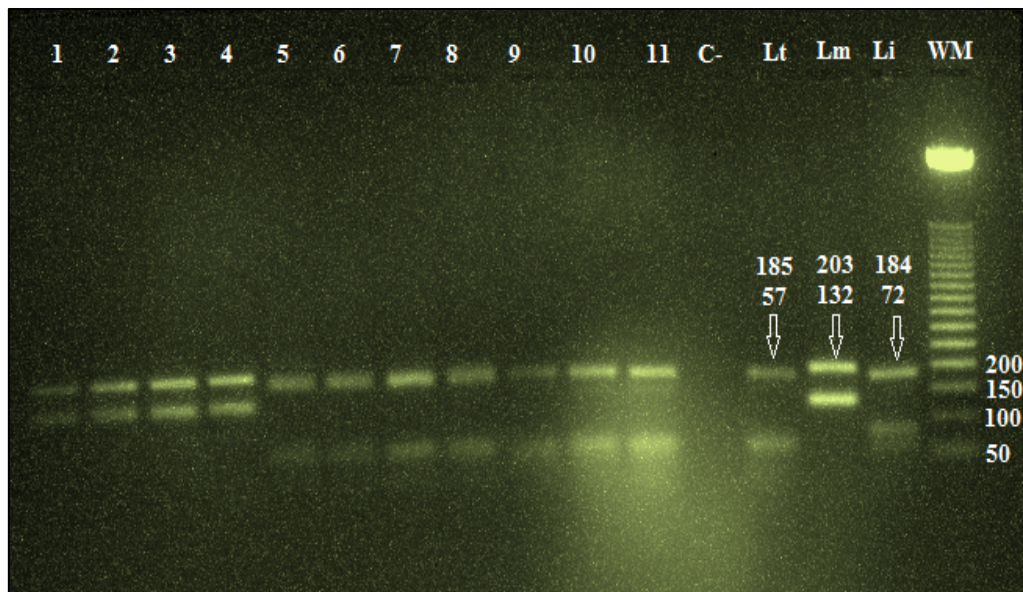


Figure 48: Gel d'électrophorèse de produits amplifiés de ITS1 PCR-RFLP provenant de différentes lames collectées au niveau de la province d'Errachidia

Puits 1-4 (*L. major*), et puits 5-11 (*L. tropica*), C-: contrôle négatif, Lt: *L. tropica*, Lm: *L. major*, Li: *L. infantum*, WM: marqueur de poids moléculaire (50pb).

➤ Province de Tinghir

Au niveau de cette province, 53 cas de LC présentaient plus de 35 lésions, dont 91,4 % avaient une seule lésion (n = 23) et 8,5% cas présentaient plus de 2 lésions (n =12). Les lésions sont principalement sur les membres inférieurs (17,1 %) et les membres supérieurs (82,8 %). Le visage a été touché dans 31,4 % des cas (Figure 49). Nous n'avons constaté aucun cas de leishmaniose et les cas de lésions multiples semblaient résulter de sites d'inoculation multiples. Plusieurs aspects ont été identifiés (Figure 49) : les lésions ulcéro-croûteuses et croûteuses prédominaient, les lésions squameuses, lésions nodulaire, lupoides, lésions ulcéro-croûteuses et croûteuses ont été aussi observées.

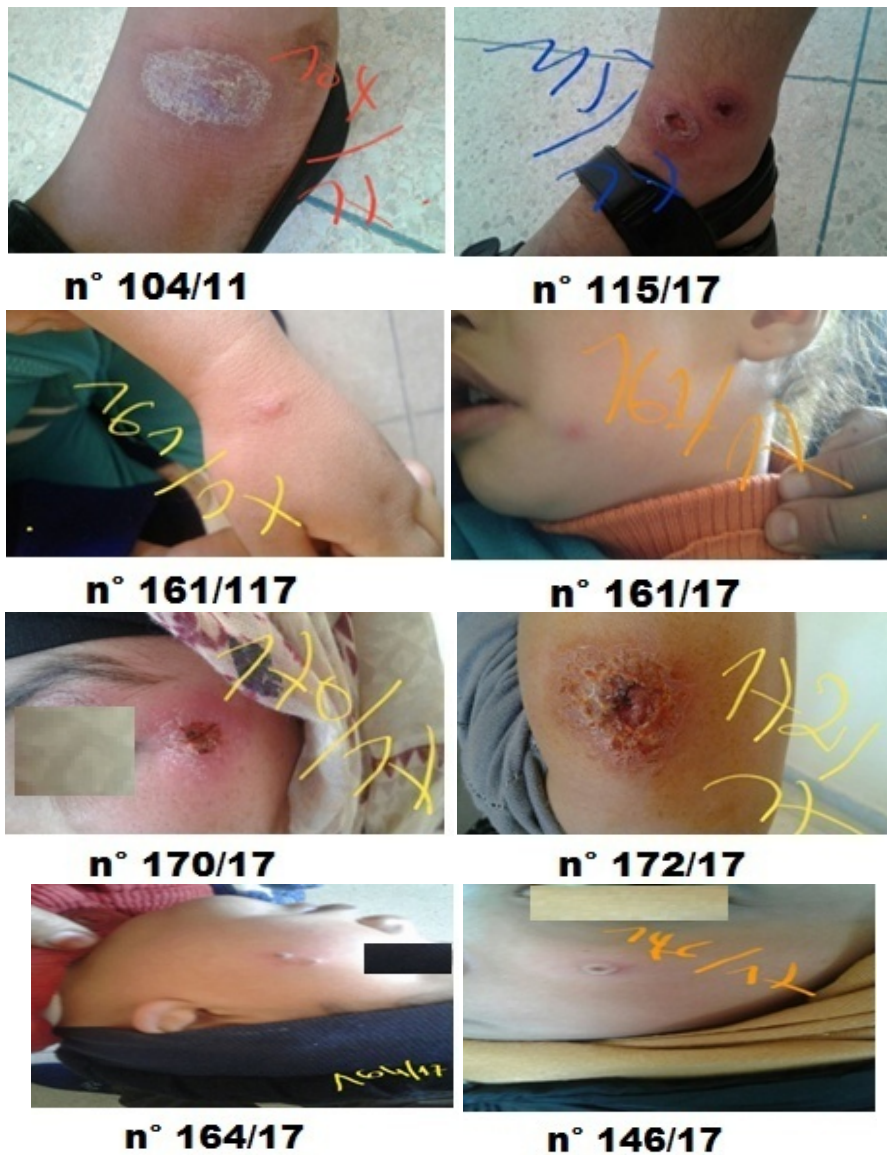


Figure 49: Caractères cliniques des cas de Leishmaniose cutanée révélés positifs par PCR

Les résultats de l'identification moléculaire au niveau de cette province ont montré la présence de trois profils électrophorétiques correspondant à celui de *L. infantum*, *L. tropica* et *L. major* (Figure 50).

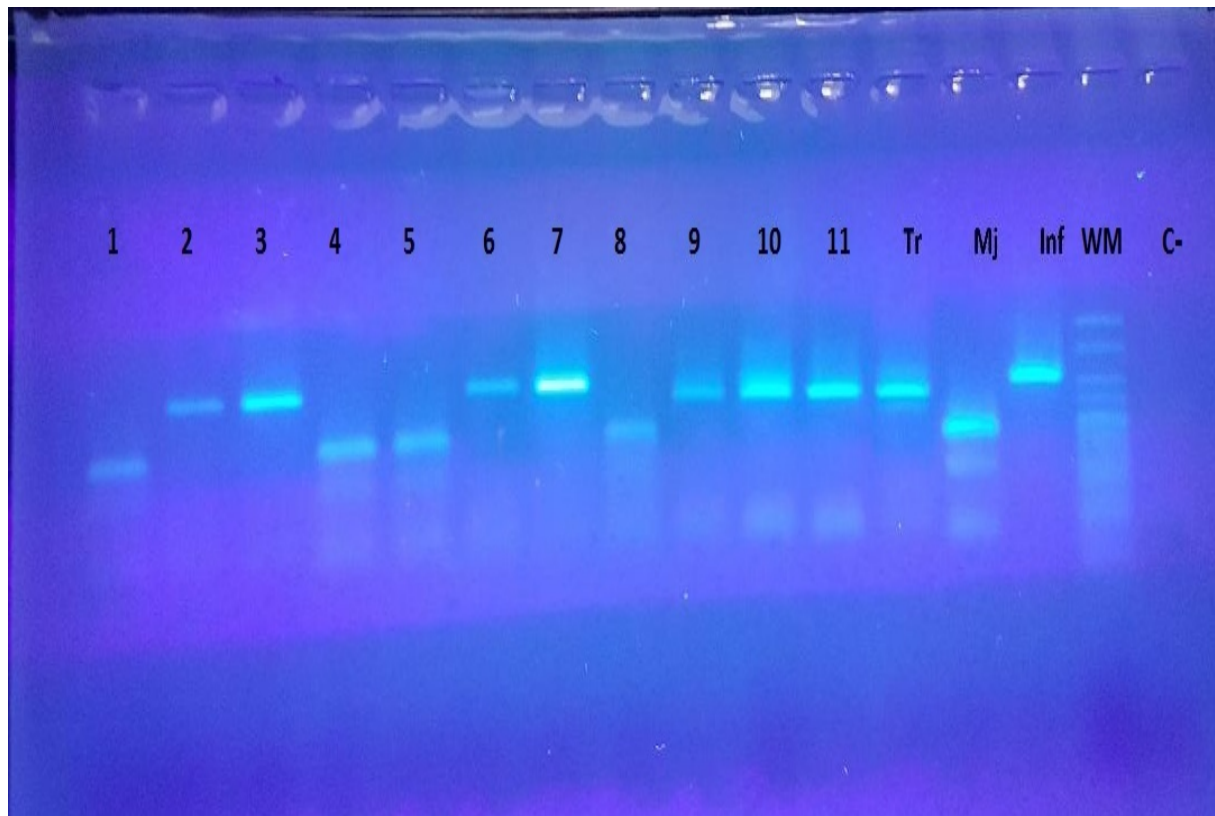


Figure 50: Application de l'analyse RFLP par l'enzyme MnII sur le produit PCR- ITS1 des lames positives provenant de la province de Tinghir

En effet, *L. major* a été observée au niveau de cinq communes : El Wafa, Waklim, Agdim, Tnghir centre et Taghzoute, alors que *L. tropica* a été identifiée au niveau de 4 communes : Alnif, Timadrouine, Kelaat M'Gounaet Kalaa Ighil-Ali, et en fin *L. infantum* a été trouvée niveau deux communes : Tyadrine et Tinghir centre (Tableau 25).

Tableau 23: Résultat de l'étude moléculaire de la LC provenant des communes les plus touchées au niveau de la province de Tinghir

Communes	n° lame	age	sex	PCR-RFLP
Kalaa megouna Ighil	56	1	F	<i>L. tropica</i>
Kalaa megouna Ighil	58	1	F	<i>L. tropica</i>
Kalaa megouna	60	2	F	<i>L. tropica</i>
Kalaa megouna ait Ifarsi	36	2	M	<i>L. tropica</i>
Kalaa megouna	45	2	M	<i>L. tropica</i>
Kalaa megouna	68	3	M	<i>L. tropica</i>
Kalaa megouna	59	3	M	<i>L. tropica</i>
Kalaa megouna	61	4	F	<i>L. tropica</i>
Tnghir centre	101/17	10	M	<i>L. infantum</i>
EL WAFA	104/17	10	F	<i>L. major</i>
WAKLIM	115/17	10	M	<i>L. major</i>
AGDIM	118/17	11	F	<i>L. major</i>
Tyadrine	161/17	11	F	<i>L. infantum</i>
Tnghir centre	164/17	12	F	<i>L. infantum</i>
Timadrouine	170/17	13	F	<i>L. tropica</i>
Taghzoute	172/17	13	F	<i>L. major</i>
Alnif	146/17	23	F	<i>L. tropica</i>

➤ Province de Zagora

L'identification moléculaire par la technique PCR-ITS1-RFLP via l'enzyme MnlI des espèces de *Leishmania* circulantes au niveau de la province de Zagora a révélé la présence de deux profils électrophorétiques correspondant à celui de l'espèce *L. tropica* dont la taille des bandes est 276 pb et 43 pb et l'espèce *L. major* avec 3 bandes pour l'espèce *L. major* (173 pb, 109 pb et 43 pb (Figure 51).

Au niveau de cette province, la biologie moléculaire a concerné des échantillons appartenant à des patients non originaires de la province et qui ont attrapé la maladie lors de leur séjour à Zagora. Parmi les 16 échantillons analysés, 5 échantillons ont été identifiés comme *L. tropica* et 7 comme *L. major* et 4 échantillons se sont révélés négatifs (Tableau 26).

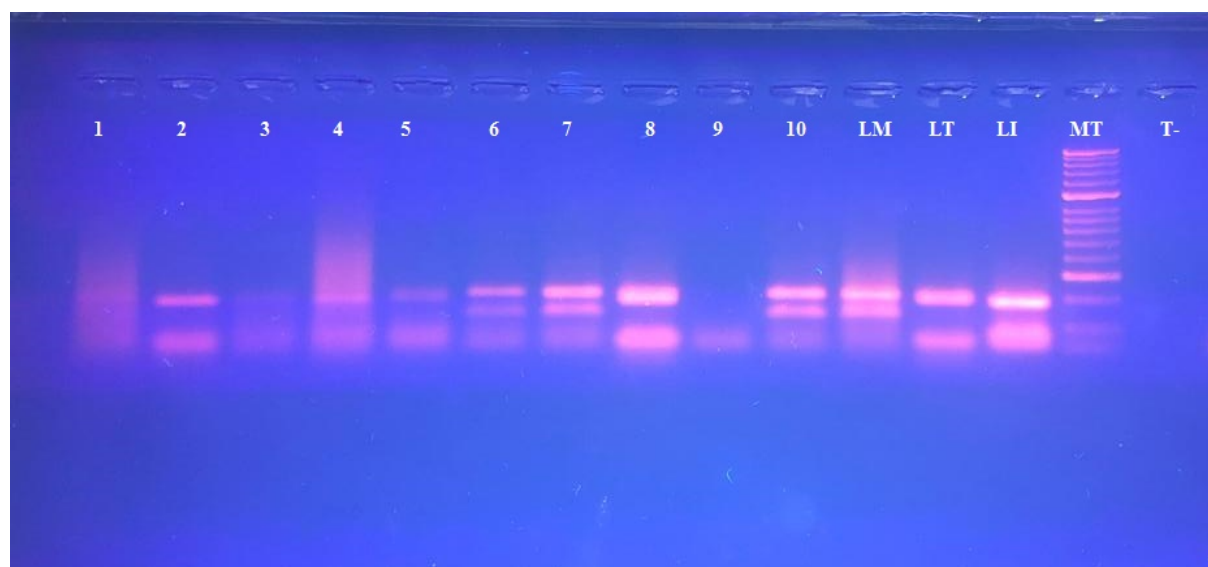


Figure 51: Application de l'analyse RFLP par l'enzyme MnlI sur le produit PCR- ITS1 des lames positives provenant de la province de Zagora

Tableau 24: Résultat de l'étude moléculaire de la LC provenant des communes les plus touchées au niveau de la province de Zagora

Age	Origine	Sexe	Localisation	No de lame	Nbre de lésions	Résultat	PCR-RFLP
1,9 an	Salé	M	Visage, main	318	3	+	<i>L.tropica</i>
10ans	Kénitra	M	Main	718	3	+	<i>L.tropica</i>
19 ans	Rabat	M	Bras	818	1	+	<i>L.tropica</i>
22 ans	Bouknadel	M	Pied, tête	1018	4	+	<i>L.tropica</i>
22 ans	Zagora	M	Pied	1118	2	-	<i>neg</i>
24 ans	Rabat	M	Pied, jambe	1318	3	+	<i>L.major</i>
25 ans	Zagora	M	Pied droit	1718	1	-	<i>neg</i>
26 ans	Zagora	M	Pied, main, joue	2018	7	+	<i>L.major</i>
32 ans	Salé	M	Jambe, coude	2618	3	+	<i>neg</i>
34 ans	Salé	F	Pied, main	218	10	+	<i>neg</i>
35 ans	Salé	F	Bras gauche	418	1	+	<i>neg</i>
36 ans	Salé	F	Bras, main, pied	518	3	+	<i>neg</i>
37 ans	Zagora	F	Bras	918	2	+	<i>L.major</i>
4,6 ans	Zagora	F	Bras droit et gauche	1618	4	+	<i>L.major</i>
40ans	Zagora	F	Main	1918	2	+	<i>L.major</i>
49 ans	Zagora	F	Pied, main, joue	2218	5	+	<i>L.major</i>
5 ans	Rabat	F	Bras	3018	3	+	<i>neg</i>
70 ans	Inezgane	F	Membres Supérieurs	703997	3	+	<i>L.tropica</i>

DISCUSSION GÉNÉRALE

La leishmaniose est une parasitose classée par l'OMS parmi les principales affections à problème de santé publique à l'échelle mondiale, elle représente un problème majeur de santé dans plus de 98 pays endémiques. Cette maladie parasitaire est l'une des maladies les plus négligées des pays en développement et elle est souvent sévère dans les zones où le mauvais assainissement, la difficulté d'accès aux soins de santé et le manque des infrastructures en raison de la guerre ou de troubles sociaux conduisent à la création d'un milieu propice à l'émergence et réémergence de cette maladie (Beyrer, Villar *et al.*, 2007). Elle se présente sous trois formes : viscérale, cutanéo muqueuse et cutanée. Le développement de chaque forme des leishmanioses, est lié, moins aux caractéristiques biologiques des réservoirs (Homme, animaux) qu'à celles des vecteurs phlébotomes (Rioux *et al.*, 1975). La leishmaniose cutanée est fréquente à l'échelle mondiale, touchant plusieurs centaines de milliers de personnes chaque année (OMS, 2014). Cette maladie est liée à plusieurs facteurs (Socio-économiques et démographiques) : à la malnutrition, aux déplacements de population, aux mauvaises conditions de logement, aux systèmes immunitaires fragilisés et au manque de ressources. Aussi, elle est liée à des évolutions environnementales et les changements climatiques tels que précipitations, humidité, température, déforestation, construction de barrages, systèmes d'irrigation et l'urbanisation (OMS, 2019).

Le Maroc fait partie des pays qui sont touchés par la leishmaniose dont la forme cutanée est la plus répandue dans le pays (Rhajaoui, 2011). La situation épidémiologique de cette maladie est devenue très préoccupante, avec plusieurs entités épidémiologiques dispersées au niveau de toutes les provinces marocaines. A savoir, La LCZ à *Leishmania major* ; la LCA à *L. tropica* ; la LC à *L. infantum* et la LV due à *L. infantum* (Rhajaoui, 2009 ; Kahime *et al.*, 2014). La surveillance persistante de la leishmaniose cutanée est un aspect essentiel de la résolution de la situation épidémiologique dans les différentes provinces du Maroc, afin d'intervenir de manière appropriée dans le but de réduire le fardeau de la maladie. En l'absence de traitement efficace et de vaccins qui puissent être utilisés à titre de mesure préventive, la maladie reste destructrice et le patient reste défiguré. Face à ce défi, il était nécessaire de développer le Programme National de Lutte contre la Leishmaniose (PNLL) qui a été mise en place par le Ministère de la Santé Marocaine depuis 1993 (Ministère de Santé, 1993). La politique de contrôle de leishmaniose recommande l'éducation et la sensibilisation du public, ainsi que la collaboration des collectifs et des associations locales.

Au cours de cette étude qui vise à évaluer d'une part la situation et le profil épidémiologique de la leishmaniose cutanée dans les régions de Souss-Massa et Drâa-Tafilalet, et ceci dans le but d'examiner l'influence des facteurs environnementaux et socio-démographiques sur la distribution spatiale de ce parasite à leur niveau, et d'autre part, l'identification des espèces circulantes dans ces deux régions. Les résultats de cette étude vont ainsi permettre d'orienter la stratégie de lutte et de mettre en place des mesures de prévention spécifiques pour chaque espèce pour limiter l'évolution de la maladie et son extension vers les autres régions indemnes jusqu'à présent. On a constaté que cette région représente 66,6 % des cas par rapport aux autres régions du Maroc avec 34 126/65 879 cas enregistrés de 2000 à 2017. Actuellement, cette zone comporte deux régions administratives, Drâa-Tafilalet et Souss-Massa, qualifiées à risque pour les différentes espèces de leishmaniose cutanée.

La région de Souss Massa se caractérise géographiquement par des montagnes et des plaines, où se localise six provinces, elle a enregistré de 2000 à 2017, 904 cas seulement par rapport à un ensemble de 33 222 cas enregistré au niveau de la région de Drâa-Tafilalet, ce qui représente un pourcentage de 2,72 %. D'après les données déclarées, 467 cas provenaient de la province de Taroudant, 320 de Tata, 52 d'Agadir, 28 Inzggane, 22 de Chtouka Ait Baha et seulement 15 cas de la Province de Tiznit. Ces dernières trois provinces ont connu des cas sporadiques de la LC et ne sont pas considérées comme des foyers.

Dans cette région, les interventions potentielles mises en place par le Ministère de la santé pour réduire la transmission de leishmaniose cutanée sont ; le dépistage et le traitement des patients infectés, les mesures de lutte anti-vectorielle (insecticides, perturbation des lieux de reproduction des vecteurs, etc.) et l'amélioration des conditions d'hygiène. Les résultats obtenus montrent que ces interventions ne sont pas encore totalement efficaces à l'heure actuelle. De plus, au cours de la période d'étude, le nombre de cas de *L. tropica* semble augmenter de façon linéaire, en particulier dans les provinces d'Agadir et de Taroudant. L'augmentation des cas de LCA due à cette espèce pourrait être liée au statut socio-économique des patients affectés, un autre domaine d'intervention possible. Ceci constitue une menace majeure pour la santé vu sa propagation spatiale alarmante vers toutes les directions. Aussi, cette propagation peut être liée à la distribution géographique étendue du vecteur *P. sergenti* aussi bien dans les milieux urbains que ruraux.

Au niveau de cette région, l'ADN de *L. tropica* a été détectée chez des patients originaires de cette zone. Cela pourrait s'expliquer par l'immigration irrégulière de populations originaires

du foyer classique de *L. tropica* dans les provinces de Settât, Beni Mellal, Fquih Ben Saleh, Azilal et Ouarzazatte (Amarir *et al.*, 2015; Sebt *et al.*, 2015; Ait Kbaich *et al.*, 2017). De plus, la détection de *L. tropica* est probablement due à la présence de *Phlebotomus sergenti* (le vecteur potentiel de *L. tropica* au Maroc), en particulier dans cette zone semi-aride et les zones étroitement adjacentes (Faraj *et al.*, 2013; Bounoua *et al.*, 2013; Kahime *et al.*, 2014; Boussaa *et al.*, 2016).

Dans cette optique, il est à noter que la situation épidémiologique de la LC est marquée par une expansion géographique importante entre 2000 et 2017, le nombre de cas étant passé de 8 en 2000 à 8 en 2017 et de 5 cas en 2000 à 26 en 2017 respectivement dans les provinces d'Agadir et de Taroudant. Au niveau de la province de Tata, avant l'année de 2005 le nombre de cas ont été à la moyenne de un cas, et puis le nombre de cas a augmenté en 2005 avec 73 enregistrés. De 2006 à 2015 le nombre de cas a diminué progressivement jusqu'à 3 cas, par la suite ils ont augmenté en 2016 et ont atteint un pic de 99 cas en 2017. Les autres provinces d'étude ont enregistré relativement moins de cas, avec une moyenne de 2 cas / province. Par contre, au niveau de la province de Tata le nombre de cas a varié de 1 cas en 2 000 à 76 et 99 cas respectivement en 2005 et 2017. Nous rapportons un changement dans la distribution des LC dans le sud-ouest du Maroc, avec davantage de cas de LC dans de nombreuses nouvelles communes rurales et périurbaines, en particulier dans la province de Taroudant. Cependant, les données rapportées dans cette étude ont montré une distribution hétérogène et une fluctuation de cas de LC. La distribution épidémiologique de la LC a été corrélée à l'aide de l'analyse statistique avec les déterminants environnementaux du climat, les facteurs démographiques et socioéconomiques. En effet, la variabilité climatique peut avoir un impact variable sur la transmission de la LC liée aux diverses *Leishmania spp.* et en particulier sur la dynamique des vecteurs (Rodríguez-Morales et Alfonso, 2005). De plus, les facteurs socio-économiques pourraient être indirectement associés à la transmission de la leishmaniose. Comme cela a été à plusieurs reprises confirmé, la pauvreté pourrait avoir de graves conséquences, car les déterminants sociaux de la santé contribuent à accroître l'incidence des maladies, en particulier dans les zones marginales (OMS 2012; Ehrenberg et Ault, 2005). Les résultats ont montré que les deux facteurs socioéconomiques sont fortement intercorrélés et associés de manière significative au nombre de cas de LC dans le sud-ouest du Maroc. Le taux de pauvreté est directement lié au taux de vulnérabilité et par la suite augmente inversement le risque de LC. Cela pourrait s'expliquer par la dégradation de la qualité de vie des patients atteints de LC au sein des ménages, ainsi que de ceux qui vivent dans les quartiers

pauvres. Cependant, la grande densité de membres du ménage dans les banlieues ou les bidonvilles pauvres pourrait représenter un risque majeur pour la transmission de la maladie. Ainsi, il a été démontré que les phlébotomes deviennent plus contagieux pour les personnes saines lorsqu'elles piquent des personnes atteintes de LC et qui vivent dans un milieu anthroponotique active (Reithinger *et al.*, 2010). En outre, cette constatation est conforme aux observations précédentes et confirme la relation entre le risque accru de LCA et ces facteurs socioéconomiques (Oryan *et al.*, 2014; Alvar *et al.*, 2012).

De plus, le déplacement des foyers ruraux voisins vers les zones urbaines pourrait augmenter le nombre de cas de leishmaniose cutanée, en raison de la mauvaise qualité de vie et du statut socio-économique (Reithinger *et al.*, 2010; Ghatee *et al.*, 2013). En outre, dans les zones rurales, l'augmentation du nombre de cas de LC pourrait être liée au comportement humain par la coexistence homme-animal et à l'accumulation de déchets d'élevage près des habitations (Nunes *et al.*, 2010). Ces facteurs produisent des conditions favorables à la propagation des hôtes réservoirs et des vecteurs (Reithinger *et al.*, 2010; Ghatee *et al.*, 2013). Au Maroc, les mauvaises conditions de vie dans les provinces les plus pauvres peuvent faciliter la transmission de la maladie. A la suite de cette pauvreté, les groupes les plus vulnérables n'ont pas facilement l'accès aux établissements de santé. En effet, l'état nutritionnel de l'hôte, la sécurité sanitaire et les logements inadéquats peuvent jouer un rôle important dans l'aggravation des conditions propices à la transmission de la LC anthroponotique.

De plus, les résultats démontrent que la distribution de la leishmaniose cutanée dans cette région n'est pas liée à la densité de population et n'est pas affectée par les facteurs climatiques, ce qui suppose la contribution importante des facteurs socio-économiques au risque de maladie.

Compte tenu de ces données, un autre objectif visé qui est de prédire la répartition probable des futurs cas de leishmaniose cutanée afin de cibler et d'orienter les interventions de lutte. Par ailleurs, les modèles de prévision basés sur la méthode Holt-Winters (HW) avec une composante saisonnière semblent refléter la tendance observée dans les données collectées périodiquement, ce qui peut permettre de prédire parfaitement la tendance des cas de LC chaque mois dans les provinces susmentionnées. Les résultats prévisionnels de HW ont montré des fluctuations mensuelles et saisonnières des cas de LC au niveau de la province de Taroudant. Cette prévision est supportée par les tendances hétérogènes récentes et la tendance fluctuante des cas de LC dans le sud-ouest du Maroc. Les tendances et les données fluctuantes

des cas de LC sont probablement multifactorielles. Par conséquent, l'effet des facteurs de risque socioéconomiques sur les cas de leishmaniose cutanée est difficile à prédire.

La caractérisation moléculaire de l'agent causal de la LC par la PCR-ITS1-RFLP a montré la présence d'une seule espèce *L. tropica* responsable de leishmaniose cutanée dans cette région et distribuée comme suit :

Au niveau des provinces ; Agadir, Chouka Ait Baha, Inezgane Ait Melloul, Tiznit et Taroudant, qui caractérisée par la dominance de l'étage semi-aride, *L. tropica* a été identifiée dans la majorité des communes touchées. Ceci pourrait s'expliquer par une immigration irrégulière de populations provenant des foyers limitrophes classique de *L. tropica* dans les provinces de Settat, Beni Mellal, Fquih Ben Saleh, Azilal et Ouarzazatte (Amarir *et al.*, 2015; Sebti *et al.*, 2015; Ait Kbaich *et al.*., 2017). Certes, la présence de *L. tropica* est corrélée à la présence de son vecteur *P. sergenti* qui domine dans l'étage bioclimatique semi-aride (Rioux *et al.*, 1984), en particulier dans cette zone semi-aride et les zones étroitement adjacentes (Faraj *et al.*, 2013; Bounoua *et al.*, 2013; Kahime *et al.*, 2014; Boussaa *et al.*, 2016).

Concernant la région de Drâa-Tafilalet, les provinces d'Errachidia, Ouarzazate, Tinghir, et Zagora sont connues pour être parmi les régions les plus touchées par la leishmaniose, en particulier la forme cutanée. Au cours de la période 2000-2017, 75,4 % des cas de leishmaniose cutanée signalés au Maroc sont enregistrés dans cette région (n = 32 917/43 600). En revanche, la province d'Errachidia représente toute seule 26,2 % des cas de leishmaniose cutanée déclarés. Ces provinces sont considérées parmi les anciens foyers où la LCZ et LCA sévit depuis plusieurs années (Rhajaoui, 2007). Sa répartition géographique variée est déterminée par la présence de facteurs de risque notamment celui du réservoir principal Homme-Animale (rongeurs) de la maladie.

L'évolution annuelle de la LC a montré un caractère endémo-épidémique de la maladie. L'analyse statistique a démontré l'absence de corrélation entre les cas de la maladie et le temps dans la majorité des provinces. En effet, la différence observée peut s'expliquer par l'hétérogénéité des conditions socio-économiques, facteurs environnementaux, géographiques et démographique au sein de la région d'étude ; ce qui par la suite affecte la répartition spatiale de la maladie. Cependant, la situation épidémiologique de la LC a montré une importante extension géographique, en particulier dans les provinces de Tinghirt et Zagora. Le dépistage actif réalisé suite à la mise en place d'un plan d'action de riposte peut s'expliquer par le nombre de cas élevé dans ces provinces. Cependant, la densité de la

population, la température et l'altitude n'ont pas d'impact sur le nombre de cas de leishmaniose cutanée au niveau de cette région, par contre les précipitations, le taux de pauvreté, et le taux de vulnérabilité ont un impact positif sur le nombre de cas de leishmaniose. La vulnérabilité liée au genre n'a pas un effet sur LC. Ceci constitue un risque important de propagation de la leishmaniose à Zagora suivi par les provinces d'Errachidia, Tinghir, Ouarzazate. Presque toutes les communes sont touchées avec la dominance des communes rurales dans toutes les provinces. Dans ces provinces, l'extension de l'épidémie semble être corrélée à l'itinéraire des axes de mouvements de la population. Le type d'habitat généralement rencontré dans les différentes localités touchées est l'habitat traditionnel.

Selon les données épidémiologiques, il est important de signaler que la maladie se trouve dans presque toutes les communes, avec la dominance des communes rurales et plusieurs autres communes urbaines. Ainsi, dans le contexte actuel du phénomène de la pauvreté, la question cruciale qui peut être posée concerne la possibilité de la pérennité et la propagation de la maladie et sa relation avec la pauvreté et la vulnérabilité. Dans la littérature, très peu d'études ont examiné l'impact socio-économique de la leishmaniose et presque toutes se sont concentrées sur les petites communautés endémiques à la maladie. Au Maroc, une étude récente a rapporté que les provinces de Tinghir et Zagora sont les plus touchées par le phénomène de vulnérabilité socio-économique, suivies par les provinces d'Ouarzazate et Errachidia (Karmaoui, 2018). En fait, la propagation de la leishmaniose est étroitement liée avec la pauvreté et est médiée par de nombreux facteurs (Alvar *et al.*, 2006) : Des facteurs écologiques tels que les mauvaises conditions de logement, y compris les murs fissurés qui offrent des lieux de repos pour les phlébotomes, les sols en terre humide qui améliorent la survie des vecteurs et les portes inappropriées qui permettent l'entrée du phlébotome (Ranjan *et al.*, 2005 ; Barnett *et al.*, 2005). Ainsi, en Amérique latine, il a été démontré que certains autres facteurs socioéconomiques tels que le logement, l'alphabétisation et le type de travail effectué influencent l'incidence de la leishmaniose (Sheets *et al.*, 2010). Cependant, le mauvais assainissement et la mauvaise gestion des ordures fournissent des aires de reproduction aux phlébotomes, et constituent un risque accru à contracter la leishmaniose (Tesh, 1995 ; Costa *et al.*, 2005). De plus, le mouvement de population pour des raisons économiques (recherche de travail, amélioration de niveau de vie) constitue un risque pour attraper la maladie. Il a été noté des cas de leishmaniose chez les sujets qui se sont déplacés pour travailler dans les zones endémiques (Pavli *et al.*, 2010). Une étude récente a montré que 6% et 3% des personnes qui ont voyagé vers les pays industrialisés en Europe (y compris

l'Italie, l'Espagne et la Turquie) et en Amérique latine, respectivement, ont été diagnostiqués positifs avec LC (Herbinger *et al.*, 2011).

Nos résultats ont également montré que les précipitations avaient une corrélation positive avec l'incidence de LC. Ceci concorde avec ceux de Bounoua *et al.*, 2013 qui ont montré que les précipitations ont entraîné une dense végétation ce qui a causé l'amplification du nombre des rongeurs et par conséquent celui des phlébotomes (Bounoua *et al.*, 2013). Ernest *et al.* (2000) et Yates *et al.* (2002) ont aussi montré que la densité de la population de rongeurs affiche un retard d'un an par rapport aux précipitations. Ce décalage permet aux rongeurs d'avoir plusieurs cycles de reproduction. Dans une étude similaire réalisée dans la province du Fars en Iran, les chutes de pluie, la température, la vitesse du vent et l'humidité étaient les facteurs les plus importants de la distribution spatiale de l'incidence de la LC (Ali-Akbarpour *et al.*, 2012). Cependant, les pics de précipitations peuvent entraîner une réduction du nombre des phlébotomes, car les précipitations excessives réduisent la quantité de sites de repos appropriés pour les phlébotomes adultes et limitent l'activité du vol des adultes, ainsi que la mort des œufs (Lawyer et Perkins, 2000; Medlock *et al.*, 2014).

Les provinces représentées dans cette région ont été suggérées comme zone endémique de *L. major* uniquement sur la base des données circonstancielle : les conditions environnementales, la présence dense du rongeur *M. shawi*, le réservoir prouvé de *L. major* ainsi que son vecteur *P. Papatasi* (Rioux *et al.*, 1982 ; Rioux *et al.*, 1986; Rhajaoui, *et al.*, 2007; Echchakery *et al.*, 2015).

Nos résultats de l'identification moléculaire de l'agent causal de la LC par la PCR-ITS1-RFLP ont montré la présence de trois espèces (*L. major*, *L. tropica* et *L. infantum*) responsables de la leishmaniose cutanée dans cette région. Ces différentes espèces de *Leishmania* au niveau de la région Drâa-Tafilalet sont distribuées comme suit :

Au niveau de la province d'Errachidia une épidémie de la leishmaniose cutanée a été déclarée en 2010, en enregistrant un taux d'incidence de la LC le plus grand (860,34 pour 100 000 habitants), avec 3445 cas. Les patients ont été diagnostiqués en se basant sur la clinique et ont été tous considérés comme infestés par l'espèce *L. major*. Les données montrent que les cercles de Goulmima et Er-Rissani étaient les plus touchés par la LC, ce qui pourrait peut-être s'expliquer par la prédominance des zones rurales de fortes densités de populations à proximité du réservoir principal de *L. major*. Ces zones hébergent les plus grandes oasis d'Errachidia, à savoir les oasis de Ferkla, Tinjdad, Goulmima et Er-rissani, qui sont adjacentes

aux grands bassins versants Ziz et Rhéris d'Errachidia. Par conséquent, dans les zones arides, la grande mobilisation des ressources en eau et la création de nouvelles zones irriguées ont probablement favorisé la prolifération des phlébotomes et des rongeurs, y compris les gerbilles (*M. shawi*) et les oiseaux vivant dans des terriers avec *P. papatasi*, le vecteur de *L. major* (Aounet *et al.*, 2004). Ce rongeur (principal réservoir hôte de *L. major*) est considéré comme un ravageur agricole. L'actualisation de ces résultats a révélé pour la première fois l'existence de *L. tropica* au niveau d'un foyer connue comme un ancien foyer de *L. major*. En effet, la présence de cette espèce pourrait être liée au climat semi-aride dans une partie du Haut Atlas dans cette région où les conditions sont favorables, ce qui est cohérent avec la faible distribution de son vecteur *P. sergenti* (Laqraa *et al.*, 2015). Par conséquent, nous pouvons dire que *L. tropica* était présent mais à faible densité par rapport à *L. major*.

Au niveau de la province d'Ouarzazate et Tinghir l'identification moléculaire a montré la coexistence de *L. tropica* et *L. major* pour Ouarzazate et la coexistence de *L. major*, *L. tropica* et *L. infantum* au niveau de province de Tinghir. Ce résultat est concordant avec celui qui a été trouvé par Ait Kbaich *et al.* 2017. En fait, *L. tropica* se trouve dans tout le centre du pays dans une bande s'étendant de l'océan Atlantique et au long des montagnes de l'Atlas et jusqu'à la mer Méditerranée. Selon Riyad *et al.*, 2013, la chaîne des montagnes de l'Atlas constitue un milieu bio-écologique pour la propagation de *L. tropica* vers le sud et de *L. major* vers le nord (Riyad *et al.*, 2013). En fait, les provinces d'Ouarzazate et Tinghir se localisent juste au sud de la province d'Azilal ce qui constitue un foyer endémique connu de LC due à *L. tropica* (Ajaoud *et al.*, 2015; Arroub *et al.*, 2013). Cependant, cette proximité pourrait constituer la voie de propagation de *L. tropica*, en raison de déplacement des populations au sein de cette région à travers les montagnes de l'Atlas et peuvent ainsi introduire le parasite, dont la propagation est facilitée par la présence du vecteur (Es-Sette *et al.*, 2016).

Nos résultats rapportent pour la première fois la présence de *L. infantum* chez deux patients de village de Tyadrine et de Tinghir centre au niveau de la province de Tinghir. De plus, deux cas de LC due à *L. infantum* ont été détectés, pour la première fois, dans un ancien foyer de LCZ dans les communes de Toundout and Agdz au niveau de la province d'Ouarzazate (Ait Kbaich *et al.*, 2017). La LC due à *L. infantum* a été aussi signalée dans de nombreux pays du bassin méditerranéen (Aoun et Bouratbine, 2014). Dans la littérature, la présence de *L. infantum* au niveau des zones arides n'est pas récente, elle remonte à plus de 30 ans au Maroc. En effet, Dereure *et al.* (1986) ont décrit le premier foyer de leishmaniose viscérale zoonotique due à *L. infantum* MON-1 dans le sud des montagnes de l'Atlas dans la région pré-saharienne

(Dereure *et al.*, 1986). Cependant, *P. longicuspis* le vecteur présumé de *L. infantum* est présent comme la deuxième espèce la plus abondante après *P. papatasi* dans la province de Ouarzazate et Zagora (Es-Sette *et al.*, 2016 ;Kahime *et al.*, 2015).

De même au niveau de la province de Zagora, appartenant à deux étages pré-saharienne et semi-arides, l'identification moléculaire a montré la coexistence de *L. tropica* et *L. major*. En fait, la province de Zagora est connue classiquement comme un foyer endémique de LC du à *L. major* (Rhajaoui, 2007), cependant, la présence de *L. tropica* nécessite encore beaucoup plus d'investigations.

Concernant le profil epidemiologique dans les deux régions d'étude, les résultats de la distribution de la maladie selon la tranche d'âge ont montré que l'infestation a touché toutes les tranches d'âge, mais la dominance significative selon l'analyse statistique Khi² est chez les enfants de 1 à 10 ans sauf au niveau de la province d'Errachidia pour laquelle la prévalence élevée est chez les enfants de 11 à 20 ans (32,03 %) suivie de l'âge de 1 à 10 ans (21,39 %) qui est considérée comme une population à risque. La dominance des enfants est très significative ($P\text{-value}<0,05$).Ceci pourrait s'expliquer par la nudité des membres et la faiblesse du système immunitaire et par conséquent l'incapacité à lutter contre l'infection à *Leishmania*. Cela peut être dû également aux habitudes des enfants qui jouent souvent à proximité des sites de reproduction, ce qui les rend sujets aux piquûres d'insectes (Arroub, 2012). Ceci est cohérent avec les travaux des recherches réalisées au Maroc et plus précisément au niveau de la province de Béni Mellal (Sebti *et al.*,2015), de la province de Taza (Hakkour *et al.*,2016) et de la province de Settât (Amarir *et al.*, 2015). Aussi les deux sexes ont été touchés avec la prédominance du genre féminin dans toutes les provinces. En fait, La prédominance des cas positifs chez les patients du sexe féminin peut être due à l'habitude chez la femme qui consultent plus que l'homme, dans les centres de santé, surtout lorsqu'il s'agit d'une lésion au niveau du visage qui touche leur esthétique, contrairement aux hommes qui ne consultent qu'en cas de complications. Ces résultats concordent avec ceux de Chiheb (Chiheb *et al.* 1999). Des études révèlent un taux d'infection similaires chez les hommes et les femmes (Velezet *et al.*, 2001). Par conséquence, les femmes sont souvent s'occupent des travaux ménagers, en plus des activités agricoles, le bétail et le jardinage, et donc sont exposées plus que l'homme à la maladie (Vlassoff *et al.*, 1998 ; Rathgeber *et al.*, 1993).

Les décideurs de la santé publique peuvent tirer parti de cette étude épidémio-moléculaire pour orienter les stratégies de contrôle de la LC. Cela doit être principalement axé sur le contrôle des vecteurs et la dynamique de la maladie dans les zones non endémiques, où les phlébotomes sont les plus susceptibles de se produire (Beck *et al.*, 2000). De plus, dans la littérature, la meilleure façon de contrôler de LC est de combiner le contrôle du réservoir et du vecteur (Reithinger *et al.*, 2007). Au niveau de la province d'Errachidia, la politique de contrôle de la LC a été ciblée sur le contrôle des rongeurs (par utilisation des raticides contre les populations de rongeurs), le contrôle des vecteurs, l'amélioration des conditions d'hygiène. Ces mesures ont donné des résultats bénéfiques dans les terriers actifs des rongeurs dans toutes les zones infestées. Cependant, l'application systématique d'appâts empoisonnés dans les zones affectées par la LC dans la province d'Errachidia a contribué probablement à la diminution de l'incidence de la LC. Ainsi, elle a entraîné une réduction de 95 % du nombre de terriers de rongeurs actifs dans les zones traitées, ce qui a été maintenu pendant chacune des 3 années de l'intervention (Bennis *et al.*, 2015). À travers de cette étude, nous avons mis en évidence le fait que la situation épidémiologique de la LC due à *L. major* et *L. tropica* a considérablement changé et qu'elle a acquis un statut de plus en plus épidémique, avec une expansion géographique dans des zones auparavant indemnes où de nouveaux foyers de *L. tropica* sont présents, avec quelque cas sporadique de *L. infantum*.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Malgré les activités de lutte, la leishmaniose cutanée continue à poser un vrai problème de santé publique au Maroc. Sa répartition géographique est variable, elle est déterminée par la présence de plusieurs facteurs de risque notamment celui du vecteur de la maladie. Dans ce contexte, le présent travail a mis l'accent sur plusieurs facteurs pouvant avoir des relations possibles entre les paramètres écologiques, socioéconomiques et démographiques sur la répartition de la leishmaniose cutanée et l'identification moléculaire du parasite au niveau des régions de *Souss-Massa et Drâa-Tafilalet*.

Cette région est considérée comme l'une des régions les plus touchées par la LC par rapport aux autres régions du Maroc. Ce qui constitue par la suite, un risque majeur de dissémination du parasite vers les régions voisines. La présence de la LC est décelée au niveau de toutes les provinces étudiées. L'évolution annuelle de la LC a montré le caractère endémo-épidémique de la maladie. L'analyse statistique a démontré l'absence de corrélation entre les cas de la maladie et le temps dans la majorité des provinces. En effet, la différence observée peut s'expliquer par l'hétérogénéité des conditions socio-économiques, les facteurs environnementaux, géographiques et démographique au sein des deux régions d'étude ; ce qui par la suite affecte la répartition spatiale de la maladie.

L'analyse de régression linéaire réalisée, a étudié l'impact de la pauvreté, de la vulnérabilité, de la densité de la population, et des facteurs bioclimatiques sur la répartition de la LC au niveau de ces deux régions. L'analyse effectuée a montré que la densité de population, la température et l'altitude n'ont pas d'impact sur l'extension spatiale de la maladie, par contre le taux de pauvreté, et le taux de vulnérabilité ont un impact positif sur le nombre de cas de leishmaniose dans toutes les provinces étudiées, avec un effet positif faible des précipitations. En effet, le comportement humain pourrait représenter le facteur prépondérant dans l'extension de cette parasitose. Cependant, la qualité de vie, le mauvais assainissement et la mauvaise gestion des ordures peuvent fournir des aires de reproduction des vecteurs et constituer un risque accru de contracter la maladie.

L'analyse rétrospective des cas de la leishmaniose humaine a montré que la maladie est dépendante du sexe, avec la prédominance du genre féminin dans toutes les provinces ; et que les enfants de tranches d'âge de 1 à 10 ans constituent une bonne partie de la population à risque.

Nos investigations moléculaires ont montré qu'au niveau de certaines provinces se retrouve exclusivement *L. tropica* notamment à, Taroudant, Agadir et Tiznit Chtouka Ait Baha, et Inezgane Ait Melloul, mais *L. major* coexiste avec *L. tropica* au niveau des provinces d'Ouarzazatte, Errachidia et Zagora. D'un autre côté, nos résultats révèlent, pour la première fois, la coexistence de *L. tropica* avec *L. major* et *L. infantum* au niveau de la province de Tinghir. De plus, les investigations sur la distribution sectorielle au niveau de ces provinces révèlent une extension de *L. tropica* à partir des foyers, mais aussi une extension des zones rurales vers les zones semi-urbaines et urbaines. Cette large répartition, est traduite par la propagation horizontale et verticale. Ce qui suggèrent que son cycle qui a été considéré au paravant comme anthroponotique, rend la probabilité que ce soit un cycle anthropo-zoonotique. D'un autre côté, la connaissance de la distribution temporelle et spatiale des cas de leishmaniose sont importantes pour bien cibler la lutte.

En conclusion, notre étude rentre dans le cadre de l'actualisation des données épidémiologique de la leishmaniose cutanée au niveau des régions de Souss-Massa et Drâa-Tafilalet d'une part et d'autre part, elle a permis l'actualisation de la répartition des espèces de *Leishmania* au niveau de ces régions, ce qui pourra mieux orienter les stratégies de lutte contre cette parasitose et diminuer la prévalence et l'intensité de la leishmaniose cutanée.

En vue de se préserver de cette maladie, le gouvernement marocain est appelé à soutenir le développement et le progrès des communautés rurales souffrant de problèmes socio-économiques. Il est impératif de prendre en considération certaines mesures à côté de la lutte contre les vecteurs et les réservoirs, à savoir :

- Sensibiliser la population sur le rôle de l'amélioration des conditions de vie et de l'environnement dans la lutte contre cette maladie.
- Gérer des déchets organiques (déchets ménagers, fumiers),
- Éloigner les habitations humaines des enclos pour animaux,
- Améliorer les conditions d'hygiène dans les banlieues.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdellatif, M.Z.M, El-Mabrouk, K, Ewis, A.A.,2013.** An epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Al-Jabal-Al-Gharbi Libya. *Kor. J. Parasitol.* 51, 75–84.
- Abonnenc E., 1972.** Les phlébotomes de la région éthiopienne (Diptera:*Phlebotomidae*). *Mémoire de l'ORSTOM.* 55, 1-289.
- Abranches P., Silva-Pereira M., Conceição Silva F., Santos-Gomes G., Janz J., 1991.** Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *Journal of Parasitology* 77: 557–561.
- Addadi K., Dedet J., 1976.** Epidemiology of leishmaniasis in Algeria. 6.- Survey of clinical cases of infantile visceral leishmaniasis from 1965 to 1974 [in French]. *Bulletin de la Société de pathologie exotique* 69: 68–75.
- Adhikari SR., Maskay NM., Sharma BP., 2009.** Paying for hospital-based care of Kala-azar in Nepal: assessing catastrophic, impoverishment and economic consequences. *Health Policy Plan* 24: 129–139.
- Adl S.M, Simpson A.G.B, Farmer M.A, Andersen R.A., 2005.** The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. *J. Eukaryot. Microbiol.* 52, 399-451.
- Aguilar, C.M., Rangel, E.F., Garcia, L., Fernandez, E., Momen, H., Grimaldi Filho, G. and Vargas, Z.D., 1989.** Zoonotic cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* associated with domestic animals in Venezuela and Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84(1), pp.19-28.
- Ajaoud, M., Es-Sette, N., Charrel, R.N., Laamrani-Idrissi, A., Nhammi, H., Riyad, M., Lemrani, M., 2015.** *Phlebotomus sergenti* in a cutaneous leishmaniasis focus in Azilal province (High Atlas, Morocco): molecular detection and genotyping of *Leishmania tropica*, and feeding behavior. *PLoS neglected tropical diseases* 9, e0003687.
- Ajaoud, M., Es-sette, N., Hamdi, S., El-Idrissi, A.L., Riyad, M. and Lemrani, M., 2013.** Detection and molecular typing of *Leishmania tropica* from *Phlebotomus sergenti* and lesions of cutaneous leishmaniasis in an emerging focus of Morocco. *Parasites & vectors*, 6(1), p.217.
- Ali-Akbarpour M, Mohammadbeigi A, Tabatabaee SH, Hatam G, 2012.** Spatial analysis of ecoenvironmental risk factors of cutaneous leishmaniasis in southern Iran. *J Cutan Aesthet Surg.* 5(1): 30-5.

Al-Jawabreh, A. and Schoenian, G, 2004. *Leishmania tropica* in Jericho (A'riha) and its environs, a classical focus of *Leishmania major*. *International Journal of Medical Microbiology*, 293, p.60.

Alvar J., Aparicio P., Aseffa A. 2008. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev*, 21: 334–359.

Alvar J, Yactayo S, Bern C, 2006. Leishmaniasis and poverty. *Trends Parasitol* 22: 55.

Alvar J., Vélez ID., Bern C., Herrero M, Desjeux P., Cano J., Jannin J., den Boer M., the OMS. Leishmaniasis Control Team., 2012. (Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. *PLoS One* 7:e35671.

Alvar J., Yactayo S., Bern C. 2006.Leishmaniasis and poverty. *TRENDS in Parasitology* Vol.22 No.12.

Alvar, J., Yactayo, S., Bern, C. 2012. Leishmaniasis and poverty. *Trends Parasitol.* 22, 552–7

Al-Zahrani, M.A., Peters, W., Evans, D.A., Smith, V. and Chin, I.C., 1989. *Leishmania* infecting man and wild animals in Saudi Arabia. 6. Cutaneous leishmaniasis of man in the south-west. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(5), pp.621-628.

Andrade-Narváez, F.J., Vargas-González, A., Canto-Lara, S.B. and Damián-Centeno, A.G., 2001. Clinical picture of cutaneous leishmaniases due to *Leishmania* (*Leishmania*) mexicana in the Yucatan peninsula, Mexico. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(2), pp.163-167.

Andrews, R.H., Handman, E., Adams, M., Baverstock, P.R. and Mitchell, G.F., 1988. Genetic characterization of *Leishmania* isolates at 37 enzyme loci. *International journal for parasitology*, 18(4), pp.445-452.

Ann. Trop. Med. Parasitol, 97(Supp. 1), 3-15.

Aoun K., Bousslimi N., Haouas N., Babba H., El-Buni A., Bouratbine A., 2006.First report of *Leishmania* (*L*) *killicki* Rioux, Lanotte & Pratlong, 1986 in Libya.,*Parasite*. Mar; 13(1):878.

Aoun K., Jeddi F., Amri F., et al., 2009.Actualités épidémiologiques de la leishmaniose viscérale en Tunisie. *Med Mal Infect*,, 39:775-9.

Aoun, K., Bouratbine, A., 2014. Cutaneous leishmaniasis in North Africa: a review. *Parasite* 21, 14. **Arroub, H., Hamdi, S., Ajaoud, M., Habbari, K., Lemrani, M., 2013.**Epidemiologic study and molecular detection of *Leishmania* and sand fly species

responsible of cutaneous leishmaniasis in Fom Jamaa (Azilal, Atlas of Morocco). *Acta tropica* 127, 1-5.

Aoun, K., Tiouiri, H., Ghrab, J. and Boufaroua, M., 2004. Lacs collinaires et santé humaine: quelle situation en Tunisie?. *MHA*, 16(45), pp.37-40.

Arroub, H., Hamdi, S., Ajaoud, M., Habbari, K., Lemrani, M., 2013. Epidemiologic study and molecular detection of *Leishmania* and sand fly species responsible of cutaneous leishmaniasis in Fom Jamaa (Azilal, Atlas of Morocco). *Acta tropica* 127, 1-5.

Arroub, H., Alaoui, A., Lemrani, M. and Habbari, K., 2012. Cutaneous leishmaniasis in fom jamâa (Azilal, Morocco): micro-environmental and socio-economical risk factors. *J Agric Soc Sci*, 8, pp.10-6.

Artemiev M.M., Neronov V.M., 1984. Distribution and Ecology of Sandflies of the Old World (genus *Phlebotomus*), (USRR Corn UNESCO Prog Man Biosph), Inst Evol Morphol Anim Ecol, USSR AcadSci, Moscow. 1-208. (in Russian).

Ashford R.W., 1999. Cutaneous leishmaniasis: strategies for prevention. *Clin Dermatol*, 17(3):327-32.

Ashford, R.W., Schnur, L.F., Chance, M.L., Samaan, S.A. and Ahmed, H.N., 1977. Cutaneous leishmaniasis in the Libyan Arab Republic: preliminary ecological findings. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 71(3), pp.265-271.

Assimina Z., Charilaos K., Fotoula B., 2008. Leishmaniasis: an overlooked public health concern *Health Sci J*, 2 pp. 196-205.

Awadalla H.N., Mansour N.S., and Mohareb E.W., 1987. Further characterization of *Leishmania* isolates from children with visceral infection in Alexandria area, Egypt. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 81: 915- 917.

Ayyad, Marrakech : 47p.

Bacaër, N. and Guernaoui, S., 2006. The epidemic threshold of a simple seasonal model of cutaneous leishmaniasis. *J. Math. Biol*, 53, pp.421-436.

Bachi, F., 2006. The epidemiological and clinical aspects of leishmaniasis in Algeria: La lettre de l'infectiologue, Tome XXI. pp. 9–15.

Bailly-Choumara, H., Abonnenc, E. and Pastre, J., 1971. Contribution a l'etude des Phlebotomes du Maroc (*Diptera, Psychodidae*). donnees faunistiques et ecologiques. *Entomol Med Cah.* 4(4):431-60.

Barnett PG, Singh SP, Bern C, Hightower AW, Sundar S, 2005. Virgin soil: the spread of visceral leishmaniasis into Uttar Pradesh, India. *Am J Trop Med Hyg* 73: 720–725.

- Bashaye S., Nombela N., Argaw D., Mulugeta A., Herrero M., Nieto J.N., 2009.** Risk factors for visceral leishmaniasis in a new epidemic site in Amhara region, Ethiopia *Am J Trop Med Hyg*, 81, pp. 34-39.
- Beck, L.R., Lobitz, B.M., Wood, B.L. 2000.** Remote Sensing and Human Health: New Sensors and New Opportunities. *Emerg. Infect. Dis.* 6, 217-227
- Belazzoug S., Addadi K., Mokrani T., Hafirassou N., Hamrioui B., et al., 1985.** Visceral leishmaniasis in Algeria: study of cases hospitalized between 1975 and 1984 [in French]. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale* 65: 329–335.
- Belazzoug, S., 1983.** Isolation of *Leishmania major* Yakimoff & Schokhor, 1914 from *Psammomys obesus* Gretzschmar, 1828 (Rodentia: Gerbillidae) in Algeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*..
- Belhadj, S., Pratlong, F., Hammami, M., Kallel, K., Dedet, J.P. and Chaker, E., 2003.** Human cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in the Sidi Bourouis focus (Northern Tunisia): epidemiological study and isoenzymatic characterization of the parasites. *Acta Tropica*, 85(1), pp.83-86.
- Ben Abda, I., Aoun, K. and Ben Alaya, N., 2009.** Données épidémiologiques, cliniques et parasitologiques actualisées de la leishmaniose cutanée en Tunisie. *Revue tunisienne d'infectiologie*, 2, pp.31-36.
- Ben Ismail R., 1993.** Incrimination of *Phlebotomus perniciosus* as vector of *Leishmania infantum*. *Arch Inst Pasteur Tunis*.; 70: 91–110.
- Ben Ismail, R., Ben Rachid, M.S., Gradoni, L., Gramiccia, M., Helal, H. and Bach-Hamba, D., 1987.** La leishmaniose cutanée zoonotique en Tunisie. Etude du réservoir dans le foyer de Douara. *Ann Soc Belg Med Trop*, 67(4), pp.335-343.
- Benabdennbi, I., Pesson, B., Cadi-Soussi, M. and Marquez, F.M., 1999.** Morphological and isoenzymatic differentiation of sympatric populations of *Phlebotomus perniciosus* and *Phlebotomus longicuspis* (Diptera: Psychodidae) in northern Morocco. *Journal of medical entomology*, 36(1), pp.116-120.
- Benikhlef R., Aoun K., Bedoui K., Harrat Z., Bouratbine A., 2009.** First identifications of *Leishmania infantum* MON-80 in the dog in Algeria and Tunisia. *Rev Méd Vét.*;160(10): 464–466.
- Benikhlef R., Harrat Z., Toudjine M., Djerbouh A., Bendali-Braham S., and Belkaid M., 2004.** Detection of *Leishmania infantum* MON-24 in the dog. *Med. Trop.* 64: 381-383.

Benikhlef, R., Harrat, Z., Toudjine, M., Djerbouh, A., Bendali-Braham, S. and Belkaid, M., 2004. Detection of *Leishmania infantum* MON-24 in the dog. *Medecine tropicale: revue du Corps de sante colonial*, 64(4), pp.381-383.

Benmously-Mlika, R., Fenniche, S., Kerkeni, N., Aoun, K., Khedim, A. and Mokhtar, I., 2008, May. Primary *Leishmania infantum* MON-80 endonasal leishmaniasis in Tunisia. In *Annales de Dermatologie et de Vénéréologie* (Vol. 135, No. 5, pp. 389-392).

Bennis, I., De Brouwere, V., Ameer, B., El Idrissi Laamrani, A., Chichaoui, S., Hamid, S., Boelaert, M. 2015. Control of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in south-eastern Morocco. *Trop Med Int Health*. 10, 1297–305.

Berchi S., Bounamous A., Louadi K., Pesson B., 2007. Différenciation morphologique de deux espèces sympatriques : *Phlebotomus perniciosus* Newstead 1911 et *Phlebotomus longicuspis* Nitzulescu 1930 (*Diptera: Psychodidae*). *Ann. soc. entomol. Fr. (n.s.)*, 43 (2) : 201-203.

Berdjane-Brouk, Z., Koné, A.K., Djimdé, A.A., Charrel, R.N., Ravel, C., Delaunay, P., Del Giudice, P., Diarra, A.Z., Doumbo, S., Goita, S. and Thera, M.A., 2012. First detection of *Leishmania major* DNA in *Sergentomyia* (*Spelaemyia*) *darlingi* from cutaneous leishmaniasis foci in Mali. *PloS one*, 7(1), p.e28266.

Bern C., Courtenay O., Alvar J., 2010. Of cattle, sand flies and men: a systematic review of risk factor analyses for South Asian visceral leishmaniasis and implications for elimination

Berzunza-Cruz M., Rodriguez-Moreno A., Gutierrez-Granados G., Gonzalez-Salazar C., Stephens C.R., Hidalgo-Mihart M., Marina C.F., (...), Becker I., 2015. PLoS Neglected Tropical Diseases, 9 (1).

Blum, J., Desjeux, P., Schwartz, E., Beck, B. and Hatz, C., 2004. Treatment of cutaneous leishmaniasis among travellers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(2), pp.158-166.

Boelaert M., Meheus F., Sanchez A., Singh S.P., Vanlerberghe V., Picado A., 2009. The poorest of the poor: a poverty appraisal of households affected by visceral leishmaniasis in Bihar, India *Trop Med Int Health*, 14, pp. 639-644.

Bounoua L., Kahime K., Houti L., Blakey T., Ebi KL., Zhang P., Imhoff ML., Thome KJ., Dudek C., Sahabi SA., Messouli M., Makhoulf B., El Laamrani A., Boumezzough A., 2013. Linking climate to incidence of zoonotic cutaneous leishmaniasis (*L. major*) in pre-Saharan North Africa. *Int J Environ Res Public Health*. Jul 31; 10(8):3172-91.

Bounoua, L., Kahime, K., Houti, L., Blakey, T., Ebi, KL., Zhang, P., Imhoff, ML., Thome, KJ., Dudek, C., Sahabi, SA., Messouli, M., Makhoulf, B., El Laamrani,

- A., Boumezzough, A. 2013.** Linking climate to incidence of zoonotic cutaneous leishmaniasis (*L major*) in pre-Saharan North Africa. *Int. J. Environ Res. Public Health* 10, 3172-91.
- Bouratbine A., Aoun K., Chahed MK., Ben Ismail R., 1998.** Epidemiological data on infantile visceral leishmaniasis in Tunisia. *Med Mal Infect.*; 28: 446–447.
- Bourdoiseau G., Franc M., 2008.** Leishmaniose canine et féline. Ed. Elsevier
- Boussaa, S., Kahime, K., Samy, AM., Salem, AB., Boumezzough, A. 2016.** Species composition of sand flies and bionomics of *Phlebotomus papatasi* and *P sergenti* (Diptera: Psychodidae) in cutaneous leishmaniasis endemic foci, Morocco. *Parasit Vectors* 9, 60.
- Boussaa, S., Pesson, B. and Boumezzough, A., 2009.** Faunistic study of the sandflies (Diptera: Psychodidae) in an emerging focus of cutaneous leishmaniasis in Al Haouz province, Morocco. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 103(1), pp.73-83.
- Braverann Y., 1994.** Nematocera and Control Methods, *Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz.* 13(4), 1175-1199.
- Burkom, HS., Murphy, SP., Shmueli, G. 2007.** Automated time series forecasting for biosurveillance. *Statist Med*, 30;26(22):4202-18.
- Bussieras (J.), Chermette (R.), 1991.** Abrégé de parasitologie vétérinaire, Fascicule IV, Entomologie Vétérinaire. Maisons-Alfort. Ecole Nationale Vétérinaire : Service Parasitologie. 163p.
- CDC, the U.S. Centers for Disease Control and Prevention, (2019).** Parasites - Leishmaniasis. [En ligne], [consulté le 19/03/2019]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>.
- Chaara, D., Haouas, N., Dedet, J.P., Babba, H. and Pratlong, F., 2014.** Leishmaniasis in Maghreb: an endemic neglected disease. *Acta tropica*, 132, pp.80-93.
- Chaffai, M., Rachid, B., Ben-Ismaïl, R., Osman, A.B. and Makni, N., 1988.** Formes clinico-épidémiologiques des leishmanioses cutanées en Tunisie. *Ann. dermatol. venerol.*, no. 115, 1988.
- Chiheb, S., Guessous-Idrissi, N., Hamdani, A., Riyad, M., Bichichi, M., Hamdani, S. and Krimech, A., 1999, May.** *Leishmania tropica* cutaneous leishmaniasis in an emerging focus in North Morocco: new clinical forms. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol. 126, No. 5, pp. 419-422).
- Chiheb, S., Hamdani, A., Riyad, M., Bichichi, M., Hamdani, S., Krimech, A., 1999.** Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica*; clinical features in a new focus in northern Morocco. *Ann. Dermatol. Venereol.* 126, 419–422

Chouihi E., 2009. Les cultures sur milieu NNN dans le diagnostic biologique des leishmanioses. *Pathologie Biologie*, 57, 219-224.

Costa CH, Werneck GL, Rodrigues L Jr, Santos MV, Araújo IB, Moura LS, Moreira S, Gomes RB, Lima SS, 2005. Household structure and urban services: neglected targets in the control of visceral leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol* 99: 229–236.

Deane L.M., & Grimaldi G.J.R., 1985 . Leishmaniasis in Brazil. In : *Leishmaniasis*, eds Chang K.P. & Bray R.S.P, pp. 247-281. Amsterdam, Elsevier Science Publishers.

Dedet J. P., 1999. Les Leishmanioses. Paris : Ellipses, 1999. Manuel Terrestre De l'OIE 2005. Chapitre 2.2.11. Leishmaniose.

Dedet, J.P., 1993. *Leishmania* et leishmanioses du continent américain. In *Annales de l'Institut Pasteur. Actualités* (Vol. 4, No. 1, pp. 3-25). Elsevier.V

Dedet, J.P., 2001. Répartition géographique des leishmanioses. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 31, pp.178-183.

Dejeux, P., 2004. Leishmaniasis, current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* ; 27: 305-18.

Del Giudice P., Marty P., Lacour JP., Prrin P., Pratlong F., and Haas H., 1988. Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum*: case report and review. *Arch Dermatol*, 134(2): 193-8.

DELM., 2007. Etat d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires. Direction épidémiologique de lutte contre les maladies. Rabat. Maroc. Santé en chiffre. Maroc.

Den Boer M., Argaw D., Jannin J., Alvar J., 2011. Leishmaniasis impact and treatment access. *Clin Microbiol Infect* 17:1471–1477.

Depaquit, J., Léger, N., Ferté, H., Rioux, J.A., Gantier, J.C., Michaelides, A. and Economides, P., 2001. Les phlébotomes de l'Île de Chypre III-Inventaire faunistique. *Parasite*, 8(1), pp.11-20.

Dereure J., 1986. Mise au point d'une réaction d'agglutination des particules de latex en vue du diagnostic immunologique et de l'étude sero-épidémiologique de la leishmaniose viscérale. Diplôme d'études approfondies. Parasitologie, Université de Montpellier.

Dereure, J., Rioux, J.A., Gallego, M., Perieres, J., Pratlong, F., Mahjour, J. and Saddiki, H., 1991. *Leishmania tropica* in Morocco: infection in dogs. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 85(5), pp.595-595.

Dereure, J., Rioux, J.A., Khiami, A., Pratlong, F., Perieres, J. and Martini, A., 1991. Écoépidémiologie des Leishmanioses en Syrie. 2—Présence, chez le chien, de *Leishmania infantum* Nicolle et *Leishmania tropica* (Wright) (Kinetoplastida—Trypanosomatidae). *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 66(6), pp.252-255.

Dereure, J., Velez, I.D., Pratlong, F., Denial, M., Lardi, M., Moreno, G., Serres, E., Lanotte, G., Rioux, J.A., 1986. La leishmaniose viscérale autochtone au Maroc méridional : Présence de *Leishmania infantum* MON-1 chez le Chien en zone présaharienne. *Leishmania*. Taxonomie et phylogénèse. Application écoépidémiologique. (Coll. int. CNRS/INSERM, 1984). IMEEE, Montpellier, 421-425.

Derreure J., Saddiki A., and Martini A., 1991.“*Leishmania tropica* au Maroc. Rôle du vecteur de P.sergenti. A propos de 89 isolats,” *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, vol. 66, no. 3, pp. 96–99.

Desjeux P., 2001. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 95: 239–243.

Desjeux P., and Alvar J. 2003. *Leishmania/HIV* co-infections: epidemiology in Europe.

Desjeux, P., 1996. Leishmaniasis: public health aspects and control. *Clinics in dermatology*, 14(5), pp.417-423.

Desta A., Shiferaw S., Kassa A., Shimelis T., Dires S., 2005. Module on leishmaniasis for the Ethiopian health center team Debub University, Ethiopia.

Dieter, k., Stefan, H.E. K. 2010. Methods in microbiology, immunology of infection, tird,ed. London, PP.316-317.

Dunan, S., Frommel, D., Monjour, L., Ogunkolade, B.W., Cruz, A., Quilici, M. and Phocan., 1989. Veterinary Study Group on Visceral Leishmaniasis. Vaccination trial against canine visceral leishmaniasis. *Parasite immunology*, 11(4), pp.397-402.

Echchakery M., Fajali N., Boussaa S., Nieto J., Ortega S., 2017. Premier cas autochtone de la co-infection *Leishmania infantum*-VIH dans la région Marrakech-Safi, Maroc, *Annales des Sciences de la Santé*, N° 14, Vol. 1: 1-12.

Echchakery, M., Boussaa, S., Kahime, K. and Boumezzough, A., 2015. Epidemiological role of a rodent in Morocco: case of cutaneous leishmaniasis. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(8), pp.589-594..

Edrissian G., Rokni MB., Mohebali M., Nateghpour M., Mowlavi G., Bahadori M., 2016. History of Medical Parasitology and Parasitic Infections in Iran. *Arch Iran Med.* Aug; 19(8):601-7.

Ehrenberg, JP., Ault, SK. 2005. Neglected diseases of neglected populations: Thinking to reshape the determinants of health in Latin America and the Caribbean. *BMC Public Health* 5, 119.

El Miri, H., Faraj, C., Himmi, O., Hmamouch, A., Maniar, S., Laaroussi, T., Rhajaoui, M., Sebti, F. and Benhoussa, A., 2016. Cutaneous leishmaniasis in Ouazzane and Sidi Kacem provinces, Morocco (1997-2012). *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 109(5), pp.376-380..

El Miri, H., Rhajaoui, M., Himmi, O., Ouahabi, S., Benhoussa, A. and Faraj, C., 2013, June. Etude entomologique de cinq foyers de leishmaniose cutanée dans la province de Sidi Kacem au nord du Maroc. In *Annales de la Société entomologique de France (NS)* (Vol. 49, No. 2, pp. 154-159). Taylor & Francis..

Elbuni AA., Edwebi, H. and Ben-Darif, AT., 1997. Prospective study among cutaneous leishmaniasis cases in Tripoli Central Hospital, Tripoli, Libya. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 74(1-2), pp.3-4.

Elbihari, S., Cheema, A.H. and El-Hassan, A.M., 1987. *Leishmania* infecting man and wild animals in Saudi Arabia. 4. Canine cutaneous leishmaniasis in the Eastern Province. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81(6), pp.925-927.

El-Buni A.A., Jabeal I., and Ben-Darif A.T., 2000. Cutaneous leishmaniasis in the Libyan Arab Jamahiriya: a study of the Yafran area. *East. Mediterr. Health. J.* 6: 884- 887.

enzymatique des agents pathogènes. DES. Fac. Sci Semlalia Univ. Cadi Ayyad, Marrakech.

Er-Rami, M., Benjelloun, S., Lahlou, H., Khalloufi, A., El, A.K., Zeroual, A., Jakar, A. and El, M.H., 2013. Cutaneous leishmaniasis in the military hospital Moulay Ismail of Meknes (Morocco): about 49 cases diagnosed between 2005 and 2011. *Pathologie-biologie*, 61(2), pp.49-53.

Es-Sette, N., Ajaoud, M., Charrel, R.N., Lemrani, M., 2016. [Molecular epidemiology of phlebovirus in four provinces in Morocco]. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique* 109, 143-150.

Ezra N., Ochoa MT., Craft N., 2010. Human Immunodeficiency Virus and Leishmaniasis. *J Glob Infect Dis*, 2: 248–257.

- Faraj, C., Adlaoui, E.B., Ouahabi, S., El Kohli, M., El Rhazi, M., Lakraa, L. and Ameer, B., 2012.** Distribution and bionomic of sand flies in five ecologically different cutaneous leishmaniasis foci in Morocco. *ISRN Epidemiology*, 2013., 1-8.
- Fellah, H., Rhajaoui, M., Ouahabi, S., Belghiti, D. and Lyagoubi, M., 2007.** Occurrence of human cutaneous leishmaniasis in Zouagha My Yacoub province (Morocco). *International Journal of Agriculture and Biology*, 9(1), pp.197-198.
- Fraga J, Veland N, Montalvo AM, Praet N, Boggild AK, Valencia BM, et al. 2012.** Accurate and rapid species typing from cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis lesions of the New World. *Diagn Microbiol Infect Dis.*;74(2):142–50.
- Francino O., Altet L., Sanchez-Robert E., Solano-Gallego L., Alberola J., Ferrer L., Sanchez A., Roura X., 2006.** Advantages of Real-time PCR assay for diagnosis and monitoring of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, 137, 214–221.
- Frías L., Leles D., Araújo A., 2013.** Studies on protozoa in ancient remains - a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz.*;108:1–12.
- Fryauff D.J., Modi G.B., Mansour N.S., Kreutzer R.D., and Soliman S., 1993.** Epidemiology of cutaneous leishmaniasis at a focus monitored by the multinational force and observers in the northeastern Sinai desert of Egypt. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **49**: 598-607.
- Gaud J., 1947.** Phlébotomes du Maroc. *Bull Soc Nat Maroc*, 27: 207-12.
- Ghatee, MA., Sharifi, I., Haghdoust, AA., Kanannejad, Z., Taabody, Z., Hatam, G., Abdollahipanah, A. 2013.** Spatial correlations of population and ecological factors with distribution of visceral leishmaniasis cases in southwestern. Iran. *J. Vector Borne Dis.* 50, 179-87.
- Ghrab J., Rhim A., Bach-Hamba D., Chahed M.K., Aoun K., Nouria S., and Bouratbine A., 2006.** *Phlebotominae (Diptera: Psychodidae)* of human leishmaniosis sites in Tunisia. *Parasite*. **13**: 23-33.
- Gomes, C.A., Coutinho, S.G., Paim, G.V., Galati, E.A., Nunes, M.P., Capinzaiki, A.N., Yamamoto, Y.I. and Rotter, P., 1990.** Ecological aspects of American tegumentary leishmaniasis: 8. Evaluation of the enzootic activity of *Leishmania (Viannia) braziliensis*, in forest and peridomestic environments of the Ribeira Valley region, São Paulo State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 32(2), pp.105-115.
- Goto H., Lindoso JAL., 2010.** Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 8:419–433.
- Graca GC, Volpini AC, Romero GA, Oliveira Neto MP, Hueb M, Porrozzini R, et al. 2012.** Development and validation of PCR-based assays for diagnosis of American cutaneous

leishmaniasis and identification of the parasite species. *Mem Inst Oswaldo Cruz.*;107(5):664–74.

Gradoni, L., Pozio, E., Gramiccia, M., Maroli, M. and Bettini, S., 1983. Leishmaniasis in Tuscany (Italy): VII. Studies on the role of the black rat, *Rattus rattus*, in the epidemiology of visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of tropical Medicine and Hygiene*, 77(4), pp.427-431.

Gramiccia M, Smith D.F, Angelici M.C, Ready P.D. & Gradoni L., 1992. A kinetoplast probe diagnostic for *Leishmanis infantum*. *Parasitology*, **107**, 509–517.

Guernaoui, S., Boumezzough, A. and Laamrani, A., 2006. Altitudinal structuring of sand flies (Diptera: Psychodidae) in the High-Atlas mountains (Morocco) and its relation to the risk of leishmaniasis transmission. *Acta Tropica*, 97(3), pp.346-351.

Guernaoui, S., Boumezzough, A., Pesson, B. and Pichon, G., 2005. Entomological investigations in Chichaoua: an emerging epidemic focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Journal of medical entomology*, 42(4), pp.697-701.

Guernaoui, S., Boussaa, S., Pesson, B. and Boumezzough, A., 2006. Nocturnal activity of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis focus in Chichaoua, Morocco. *Parasitology research*, 98(3), pp.184-188.

Guernaoui, S., Pesson, B., Boumezzough, A. and Pichon, G., 2005. Distribution of phlebotomine sandflies, of the *subgenus Larrousius*, in Morocco. *Medical and veterinary Entomology*, 19(1), pp.111-115.

Guessous-Idrissi, N., Berrag, B., Riyad, M., Sahibi, H., Bichichi, M. and Rhalem, A.N.D.A., 1997. *Leishmania tropica*: etiologic agent of a case of canine visceral leishmaniasis in northern Morocco. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 57(2), pp.172-173.

Guessous-Idrissi, N., Chiheb, S., Hamdani, A., Riyad, M., Bichichi, M., Hamdani, S. and Krimech, A., 1997. Cutaneous leishmaniasis: an emerging epidemic focus of *Leishmania tropica* in north Morocco. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(6), pp.660-663.

Guessous-Idrissi, N., Riyad, M., Chiheb, S., Hamdam, A., Hamdam, S. and Krimech, A., 1999. La leishmaniose cutanée à Taza. *Recherche Nationale, les Cahiers du Médecin*, 19, pp.37-40.

Guilvard, E., Rioux, J.A., Gallego, M., Pratlong, F., Mahjour, J., Martinez-Ortega, E., Dereure, J., Saddiki, A. and Martini, A., 1991. *Leishmania tropica* au Maroc. III—Rôle

vecteur de *Phlebotomus sergenti*-A propos de 89 isolats. *Annales de parasitologie humaine et comparee*, 66(3), pp.96-99.

Hakkour, M., Hmamouch, A., El Alem, M.M., Rhalem, A., Amarir, F., Touzani, M., Sadak, A., Fellah, H. and Sebti, F., 2016. New epidemiological aspects of visceral and cutaneous leishmaniasis in Taza, Morocco. *Parasites & vectors*, 9(1), p.612.

Handler, M.Z., Patel, P.A., Kapila, R., Al-Qubati, Y. and Schwartz, R.A., 2015. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: differential diagnosis, diagnosis, histopathology, and management. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 73(6), pp.911-926.

Handman E., 2001. Leishmaniasis: Current status of vaccine development. *Clin Microbiol Rev* 14(2):229-43.

Haouas N., Chaker E., Chargui N., Gorcii M., Belhadj S., Kallel K., Aoun K., Messaadi Akrouf F., Ben Said M., Pratlong F., Dedet J.P., Mezhoud H., Lami P., Zribi M., Azaiez R., Babba H., 2012. Geographical distribution updating of Tunisian leishmaniasis foci: about the isoenzymatic analysis of 694 strains. *Acta Trop*; 124(3): 221–228.

Haouas N., Chargui N., Chaker E., Ben Said M., Babba H., Belhadj S., Kallel K., Pratlong F., Dedet J-P., Mezhoud H. and Azaiez R., 2005. Anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Tunisia: presence of *Leishmania killicki* outside its original focus of Tataouine. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **99**: 499- 501.

Haralambous, C., Dakkak, A., Pratlong, F., Dedet, J.P. and Soteriadou, K., 2007. First detection and genetic typing of *Leishmania infantum* MON-24 in a dog from the Moroccan Mediterranean coast: genetic diversity of MON-24. *Acta tropica*, 103(1), pp.69-79.

Harrat Z., Pratlong F., Belazzoug S., Dereure J., Deniau M., et al. 1996. *Leishmania infantum* and *L. major* in Algeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 90: 625–629.

Harrat Z., Pratlong F., Belazzoug S., et al. 1996. *Leishmania infantum* and *L. major* in Algeria. *Trans R Soc Trop Med. Hyg.*, 90:625-9.

Hart, D.T. ed., 2013. *Leishmaniasis: The Current Status and New Strategies for Control: Proceedings of the NATO Advanced Study Institute, Zakynthos (Greece), 1987* (Vol. 171). Springer Science & Business Media.

Hasker E., Singh S.P., Malaviya P., Picado A., Gidwani K., Singh R.P., 2012. Visceral leishmaniasis in rural Bihar, India *Emerg Infect Dis*, 18, pp. 1662-1664.

Haut Commissariat au Plan (HCP). Indicateurs provinciaux de la pauvreté et de la vulnérabilité http://www.hcp.ma/Indicateurs-provinciaux-de-la-pauvrete-et-de-la-vulnerabilite_a648html. Accessed 10 Sep 2017.

Herbinger KH, Siess C, Nothdurft HD, von Sonnenburg F, Loscher T, 2011. Skin disorders among travellers returning from tropical and non-tropical countries consulting a travel medicine clinic. *Trop Med Int Health* 16: 1457–1464.

High Commission for Planning, Morocco: Demographics 2014.

Hjira, N., Frikh, R., Marcil, T., Lamsyah, H., Oumakhir, S., Baba, N. and Boui, M., 2014. Clinical, epidemiological and evolutionary aspects in 157 cases of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *The Pan African medical journal*, 17, pp.272-272.

Hlavacova J., Votypka J., Volf P., 2013. The effect of temperature on *Leishmania* (*Kinetoplastida: Trypanosomatidae*) development in sand flies. *J Med Entomol*; 50(5): 955-58.

Hodiamont CJ, Kager PA, Bart A, de Vries HJ, van Thiel PP, Leenstra T, et al. 2014. Species-directed therapy for leishmaniasis in returning travellers: a comprehensive guide. *PLoS Negl Trop Dis*; 8(5):e2832.

Imani M, Dehkharghani AD, Ghelman M, Mohammadloo M. 2014. Molecular technique for detection of *Leishmania infantum* isolates in Iran. *Trop Parasitol*; 4(1):35–7.

infantum, aspect physiopathologiques et immunologiques, essais de vaccination et séroprévalence dans la région du nord. Thèse de doctorat en biologie.

Izri M., Belazzoug S., Boudjebba Y., Dereure J., Pratlong S., et al., 1990. *Leishmania infantum* MON-1 isolated from *Phlebotomus perniciosus*, in Kabylia (Algeria). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 65: 151–152.

Kadiki O., and Ashraf M., 1971. Cutaneous leishmaniasis in the Libyan Arab Republic. Tripoli, Libyan Arab Jamahiriya, Department of Endemic Diseases, Ministry of Health.

Kahime K., Boussaa S., Laamrani-El Idrissi A., Nhammi H., Boumezzough A., 2015. Epidemiological study on acute cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Journal of Acute Disease* Volume 5, Issue 1, Pages 41-45.

Kahime, K., Bounoua, L., Messouli, M., Boussaa, S. and Boumezzough, A., 2017. Eco-Adaptation Strategies of Health to Climate Change: Case of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis (ZCL) as Vulnerability Indicator in Pre-Saharan Region of Morocco. In *Environmental Change and Human Security in Africa and the Middle East* (pp. 117-131). Springer, Cham.

- Kahime, K., Boussaa, S., Bounoua, L., Fouad, O., Messouli, M., Boumezzough, A. 2014.** Leishmaniasis in Morocco: diseases and vectors. *Asian. Pac. J. Trop. Dis.* 4, S530-S534.
- Kallel K., Pratlong F., Belhadj S., Cherif F., Hammami M., Dedet J.P., and Chaker E., 2005.** Cutaneous leishmaniasis in Tunisia: results of the iso-enzymatic characterization of 71 strains. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **99**: 11- 19.
- Kallel, K., Pratlong, F., Belhadj, S., Cherif, F., Hammami, M., Dedet, J.P. and Chaker, E., 2005.** Cutaneous leishmaniasis in Tunisia: results of the iso-enzymatic characterization of 71 strains. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 99(1), pp.11-19..
- Kamarianakis Y., Prastacos P., Salah A.B., Schlif S., and Alaya B.N., 2007.** 10th AGILE International Conference on Geographic Information Science, Aalborg University, Denmark.
- Kar K. 1995.** Serodiagnosis of Leishmaniasis. *Crit Rev Microbiol* 21:123–152.
- Karim A., Aïda B., 2014.** Cutaneous leishmaniasis in North Africa: a review.. *Parasite, EDP Sciences*, 21, pp.14. [ff10.1051/parasite/2014014ff](https://doi.org/10.1051/parasite/2014014ff).
- Karmaoui A., 2018.** The cutaneous leishmaniasis vulnerability index (CLVI). *Acta Ecologica Sinica*; Vol38, Issue 4, August 2018, Pages 288-295.
- Kbaich, M.A., Mhaidi, I., Ezzahidi, A., Dersi, N., El Hamouchi, A., Riyad, M., Akarid, K. and Lemrani, M., 2017.** New epidemiological pattern of cutaneous leishmaniasis in two pre-Saharan arid provinces, southern Morocco. *Acta tropica*, 173, pp.11-16.
- Kent AD, Dos Santos TV, Gangadin A, Samjhawan A, Mans DR, Schallig HD. 2013.** Studies on the sand fly fauna (Diptera: Psychodidae) in high-transmission areas of cutaneous leishmaniasis in the Republic of Suriname. *Parasit Vectors*.;6(1):318.
- Kharfi M., Fazaa B., Chaker E., and Kamoun M.R. 2003.** Mucosal localization of leishmaniasis in Tunisia: 5 cases. *Ann. Dermatol. Venereol.* **130**: 27-30.
- Killick-Kendrick R., 1990.** Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medical and Veterinary Entomology* 4: 1–24.
- Killick-Kendrick R., 1999.** The biology and Control of Phlebotomine Sandflies. *Clin. Dermatol.* 17,279-289.
- Killick-Kendrick, R., 1990.** Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Medical and veterinary entomology*, 4(1), pp.1-24.
- Killick-Kendrick, R., et Killick-Kendrick M., 1999.** Biology of sand fly vectors of mediterranean Canine Leishmaniasis. Barcelona, Spain: proceeding of international canine Leishmaniasis forum, canine leishmaniosis: an update, 1999. pp. 26-31.

- Kirkpatrick, C.E., Farrell, J.P. and Goldschmidt, M.H., 1984.** *Leishmania chagasi* and *L. donovani*: experimental infections in domestic cats. *Experimental parasitology*, 58(2), pp.125-131.
- Kolaczinski, J., Brooker, S., Reyburn, H., Rowland, M. 2004.** Epidemiology of anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Afghan refugee camps in northwest Pakistan. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 98, 373–378.
- Kreier J.P. & Baker J.R., 1987.** Parasitic Protozoa. Allen & Unwin, Boston, USA, 49–59.
- L'épidémiologie et de lutte contre les maladies. Rabat, Maroc.
- Laamrani El Idrissi A., Lyacoubi M., Ayoujil M., Mouki B., Barkia A., Lhayati M., 2000.** Programme de Lutte Contre Les Leishmanioses. Séminaire.
- Laqraa, E. Elkohli M, Adlaoui E., and Faraj C, 2015.** Les Phlébotomes du Maroc: Bulletin de L'institut National D'hygiène, Maroc.
- Laveran A., Cathoire M., 1904.** Presentation of the parasite *Piroplasma donovani*. *Bull Acad Med.* 51: 247–248.
- Lawyer, Phillip G., and Peter V. Perkins, 2000.** "Leishmaniasis and trypanosomiasis." In *Medical Entomology*, Springer Netherlands; p. 231-298.
- Lemaire X., 1911.** Premiers cas de leishmaniose en Algérie. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 4: 554–563.
- Lewis D.J., 1982.** A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae). *Bull. British Museum of Natural History (Entomology Series)*. 45, 121-209.
- Lewis, D.J., Young, D.G., Fairchild, G.B. and Minter, D.M., 1977.** Proposals for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). *Systematic Entomology*, 2(4), pp.319-332.
- Lumbreras H., Guerra H., 1985.** Leishmaniasis i Peru. In :*Leishmaniasis*. Eds Chang K.P. & Bray R.S, pp. 297-311. Elsevier Science Publishers B.V.
- Lysenko, A.J., 1971.** Distribution of leishmaniasis in the Old World. *Bulletin of the World Health Organization*, 44(4), p.515.
- Maazoun, R., Pratlong, F., Lanotte, G. and Rioux, J.A., 1986.** Le complexe *Leishmania major*. A propos de l'analyse numérique de 35 souches identifiées par la méthode enzymatique. *Leishmania; Taxonomy and Phylogeny; Applications to ecology and epidemiology*, pp.119-128.

- Mahdy, MAK., Al-Mekhlafi, MH., Al-Mekhlafi, MA., Lim, YAL., Bin Shuaib, NMO., Azazy, AA., Mahmud, R. 2010.** Molecular characterization of *Leishmania* species isolated from cutaneous leishmaniasis in Yemen. PLoS. One. 5, 1-4.
- Manna L., Reale S., Vitale F., Picillo E., Pavone Lm., Gravino Ae., 2008.** Real-time PCR assay in *Leishmania*-infected dogs treated with meglumineantimoniate and allopurinol, The Vet. Journal, 177, 279–282.
- Manson-Bahr PEC., 1996.** Old World leishmaniasis. In: Cox FEG, editor. The Wellcome Trust Illustrated History of Tropical Diseases. London: The Wellcome Trust;. pp. 206–17.
- Mansour N.S., Youssef F.G., Mohareb E.W., Dees W.H., and Karuru E.R., 1989.** Cutaneous leishmaniasis in the peace keeping force in East Sinai. J. Egypt. Soc. Parasitol. **19**: 725- 732.
- Marfurt J, Niederwieser I, Makia ND, Beck HP, Felger I. 2003.** Diagnostic genotyping of Old and New World *Leishmania* species by PCR-RFLP. Diagn Microbiol Infect Dis.;46(2):115–24.
- Martínez AM., Pérez AM., Aránguez E., Iriso A., Sevillano O., Bernal J., and Vilas F., 2013.** Reemergence of leishmaniasis in Spain: community outbreak in Madrid, Spain, 2009 to 2012. *Euro Surveill*,18 (30):1-9.
- Martin-Sanchez J., Gramiccia M., Di Muccio T., 2004.** Isoenzymatic polymorphism of *Leishmania infantum* in southern Spain. Trans R Soc Trop Med Hyg, 98(4): 228-32.
- Marty, P., Le Fichoux, Y., Pratlong, F., Rioux, J.A., Rostain, G. and Lacour, J.P., 1989.** Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in a young Moroccan child observed in Nice, France. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(4), p.510.
- Masmoudi A., Ayadi N., Boudaya S., Meziou T.J., Mseddi M., Marrekchi S., Bouassida S., Turki H., and Zahaf A. 2007.** Clinical polymorphism of cutaneous leishmaniasis in centre and south of Tunisia. Bull. Soc. Pathol. Exot. **100**: 36- 40.
- Masmoudi, A., Ayadi, N., Boudaya, S., Meziou, T.J., Mseddi, M., Marrekchi, S., Bouassida, S., Turki, H. and Zahaf, A., 2007.** Polymorphisme clinique de la leishmaniose cutanée du centre et sud tunisien. *Bull Soc Pathol Exot*, 100(Suppl 1), pp.36-40.
- Masmoudi, A., Ayadi, N., Khabir, A., Bouzid, L., Bouassida, S., Meziou, T.J., Akrou, F., Zahaf, A., Boudawara, T. and Turki, H., 2008, January.** Sporotrichoid cutaneous leishmaniasis in Tunisia: a clinical and histological study. In *Annales de dermatologie et de venerologie* (Vol. 135, No. 1, pp. 63-67).

- Masmoudi, A., Kitar, A., Rebai, M., Bouassida, S., Turki, H. and Zahaf, A., 2005.** La leishmaniose cutanée de la face dans la région de Gafsa, Tunisie. *Bull Soc Pathol Exot*, 98(5), pp.374-379.
- Maspero G., 1910.** The Dawn of Civilization - Egypt and Chaldaea. 5. London: Society for the Promotion of Christian Knowledge; p. 218. Masson, Paris. Pp1350.
- Medina, DC., Findley, SE., Guindo, B., Doumbia, S. 2007.** Forecasting Non-Stationary Diarrhea, Acute Respiratory Infection, and Malaria Time Series in Niono, Mali. PLoS ONE, 2(11): e1181. doi:10.1371/journal.pone.0001181
- Medlock JM, Hansford KM, Van Bortel W, Zeller H, Alten B, 2014.** A summary of the evidence for the change in European distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of public health importance. *J Vector Ecol*;39(1):72-7.
- Medlock JM., Hansford KM., Van Bortel W., Zeller H., Alten B., 2014.** A summary of the evidence for the change in European distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of public health importance. *J Vector Ecol*;39(1):72-7.
- Mehabresh, M., and El-Mauhoub, M., 1992.** Visceral leishmaniasis in Libya- review of 21 cases. *Ann. Trop. Paediatr.* 12: 159- 163.
- Mendoza-Leon A, Luis L, Fernandes O, Cupolillo E. & García L., 2002.** Molecular markers for species identification in the *Leishmania* subgenus *Viannia*. *Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 95 Suppl 1:p. S6570.
- Ministère marocain de la Santé (MS), 1997.** Lutte contre les leishmanioses. Direction de
- Ministère marocain de la Santé MS., 2010.** Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies, Guide des activités: Lutte contre les leishmanioses. Rabat, Maroc.
- Ministry of Health. 2016.** Santé en chiffres (edition 2017 en cours). http://www.sante.gov.ma/Publications/Etudes_enquete/Pages/default.aspx. Accessed 15 Nov 2017.
- Mohamed Mahmoud, E. A., Faiza, S., Lemine, M., Smaine, C., Adlaoui, E. B., Khalid, H., Hajiba, F. 2016.** Geographical Distribution and New Situation of *Leishmania* Species after the Control of Cutaneous Leishmaniasis Foci in Errachidia Province, Morocco, in 2014. *BioMed Research International*, 2016, 8642373. <http://doi.org/10.1155/2016/8642373>.
- Mohareb E.W., Mikhail E.M., and Youssef F.G., 1996.** *Leishmania tropica* in Egypt: an undesirable import. *Trop. Med. Int. Health.* 1: 251- 254.
- Molyneux D.H., 1983.** Host-parasite relationships of *Trypanosomatidae* in vectors. In : *Current topics in vector research*, Vol.1, eds Harris K.F, pp. 117-148. Praeger Sci. Press.

Molyneux D.H., & Ashford R.W., 1983. The Biology of *Trypanosoma* and *Leishmania*. *Parasites of Man and Domestic Animals*, Taylor & Francis, London, UK, 185–250.

Montalvo AM, Fraga J, El Safi S, Gramiccia M, Jaffe CL, Dujardin JC, et al. 2014. Direct *Leishmania* species typing in Old World clinical samples: evaluation of 3 sensitive methods based on the heat-shock protein 70 gene. *Diagn Microbiol Infect Dis.*;80(1):35–9.

Moreira OC., Yadon ZE., Cupolillo E., 2017. The applicability of real-time PCR in the diagnostic of cutaneous leishmaniasis and parasite quantification for clinical management: Current status and perspectives. *Acta Trop.* doi:10.1016/j.actatropica.2017.09.020

Moroccan Ministry of Health, 2012. Etat d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires. Direction épidémiologique de lutte contre les maladies. Rabat. Maroc.

Morsy, T.A., Michael, S.A., Bassili, W.R. and Saleh, M.S.M., 1982. Studies on rodents and their zoonotic parasites, particularly leishmania, in Ismailiya Governorate, AR Egypt. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*.

Morsy, T.A., Schnur, L.F., Feinsod, F.M., Salem, A.M., Wahba, M.M. and El Said, S.M., 1987. Natural infections of *Leishmania major* in domestic dogs from Alexandria, Egypt. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 37(1), pp.49-52.

Mukaka, M. 2012. A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal*. *Malawi Med J*, 24(3), 69–71.

Mukherjee, S., Hassan, M.Q., Ghosh, A., Ghosh, K.N., Bhattacharya, A. and Adhya, S., 1997. *Leishmania* DNA in *Phlebotomus* and *Sergentomyia* species during a kala-azar epidemic. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 57(4), pp.423-425.

Murray Hw., Berman Jd., Davies Cr., Saravia Ng., 2005. Advances in leishmaniasis, *Lancet* 2005, 366, 1561-77.

Nadim, A. and Rostami, G.S., 1974. Epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Kabul, Afghanistan. *Bulletin of the World Health Organization*, 51(1), p.45.

Nicolle C., 1908. Sur trois cas d'infection splénique infantile à corps de Leishman observés en Tunisie. *Archs Inst Pasteur Tunis*, 1:1-26.

Nitzulescu V., 1931. Essai de classification des Phlebotomes. *Annals Parasit Hum Comp.* 9, 271-275.

Nunes, WDS., Sócrates, RA., Cláudia, MLC., 2010. Epidemiological profile of leishmaniasis at a reference service in the state of Alagoas, Brazil, from January 2000 to September 2008. *Braz J Infect Dis.* 14(4):342–5. doi: 10.1590/S1413-86702010000400005

O.M.S., 1984 – Genes and Antigens of Parasites. *A Laboratory Manual*, Morel C.M, ed. Fundacao Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, 93–135.

O.M.S., 1984. Les leishmanioses. *Série des Rapports Techniques*: 701. Organisation Mondiale de la Santé, Genève, Suisse

O.M.S., 1990 – Guide pour la gestion des populations canines. Document OMS/WSPA, Genève, 1990. WHO Technical Report Series, 709.

O.M.S., 1990 – Lutte contre les leishmanioses. *Série des Rapports Techniques*: 793. Organisation Mondiale de la Santé, Genève, Suisse.

O.M.S., 1990. Guide pour la gestion des populations canines. Document OMS/WSPA, Genève, 1990. WHO Technical Report Series, 709.

Ochsenreither S., Kuhls K., Schaar M., Presber W., Schönián G., 2006. Multilocus microsatellite typing as a new tool for discrimination of *Leishmania infantum* MON-1 strains. J Clin Microbiol 44:495–503

Oliveira CL., Assuncao RM., Reis IA., Proletti FA., 2001. Spatial distribution of humanan canibe visceral leishmaniasis in Belo Horizonte , Minas Gerais State , Brazil , 1994-1997, Cadernos de Saude Publica , 17 : 1231-1239.

OMS, 2018. Report on Global Surveillance of Epidemic-prone Infectious Diseases – Leishmaniasis. [Internet]. 2000 [cited 2018 Feb 21]. Available from: http://www.who.int/csr/resources/publications/CSR_ISR_2000_1leish/en/.

OMS. 2012. Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases: a roadmap for implementation. http://appswho.int/iris/bitstream/10665/70809/1/WHO_HTM_. Accessed 19 July 2017.

OMS. 2012. Global Report for Research on Infectious Diseases of Poverty http://www.who.int/tdr/capacity/global_report/2012/chapitre1_webpdf?ua=1. Accessed 10 Sep 2017.

OMS. 2015. Centre des médias. Leishmanioses. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/fr/>.

OMS. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010.

OMS. 2019. La leishmaniose. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Accedé 26 Avr, 2019.

- OMS., 1990.** Control of the leishmaniasis 1990 Technical Report Series 793 Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva 1990.
- OMS., 1993.** Les Leishmaniose : Lutte contre les maladies tropicales. Brochure, Genève,
- OMS., 2010.** Control of the Leishmaniasis: Report of a Meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. World Health Organization Technical Report Series No. 949; WHO: Geneva, Switzerland.
- OMS., 2010.** Rapport de la réunion du comité OMS d'experts de la lutte contre les
- OMS., 2018.** La leishmaniose. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Accédé 26 Avr, 2019.
- Onorato, R., 1931.** Lo stato attuale delle nostre conoscenze sulla nosografia Tripolitana. [The current state of our knowledge of the nosography of Tripoli.] Archivio Italiano di scienze mediche Tripoli e coloniale. **12**: 137- 186.
- Oryan, A. and Akbari, M., 2016. Worldwide risk factors in leishmaniasis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(10), pp.925-932.
- Oryan, A., Alidadi, S., Akbari, M. 2014.** Risk factors associated with Leishmaniasis. *Trop. Med. Surg.* doi:104172/2329-90881000e118.
- Parvizi, P.A.R.V.I.Z. and Amirkhani, A., 2008.** Mitochondrial DNA characterization of *Sergentomyia* sintoni populations and finding mammalian *Leishmania* infections in this sandfly by using ITS-rDNA gene. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 9(1), pp.9-18..
- Pathak, K.M.L., Kochar, D. and Kapoor, M., 1990.** Cutaneous leishmaniasis in Rajasthan India. *Indian Journal of Animal Health*, 29(2).
- Patz JA., Olson SH., Uejio CK., Gibbs HK., 2008.** Disease emergence from global climate and land use change. *Med Clin North Am*; 92(6):1473-91.
- Pavli A, Maltezou HC, 2010.** Leishmaniasis, an emerging infection in travelers. *Int J Infect Dis* 14: e1032–e1039.
- Petrovic, Z., Bordjoski, A. and Savin, Z., 1975.** Les résultats de recherches sur le réservoir de *Leishmania donovani* dans une région endémique du Kala-azar. Proceedings of the 2nd European Multicolloquy of Parasitology, 2, pp.97-98.
- Pierre A., Buffet., Éric Rosenthal., Jean-Pierre Gangneux., Edward Lightburne., Pierre Couppié., Gloria Morizot., Laurence Lachaud., Pierre Marty., Jean-Pierre Dedet., 2010.** Traitement des leishmanioses en France : proposition d'un référentiel consensuel. *Presse Med.* 2011; 40: 173–184. *PLoS Negl Trop Dis*, 4, p. e599.

- Pratlong F., Rioux J., Dereure J., et al., 1991.**“*Leishmania tropica* au Maroc. IV — Diversité isozymique intrafocale,” *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, vol. 66, no. 3, pp. 100–104.
- Pratlong, F., Rioux, J.A., Dereure, J., Mahjour, J., Gallego, M., Guilvard, E., Lanotte, G., Perieres, J., Martini, A. and Saddiki, A., 1991.** *Leishmania tropica* au Maroc. IV— Diversité isozymique intrafocale. *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, 66(3), pp.100-104.
- Prudhomme, J., Gunay, F., Rahola, N., Ouanaïmi, F., Guernaoui, S., Boumezzough, A., Bañuls, A.L., Sereno, D. and Alten, B., 2012.** Wing size and shape variation of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) populations from the south and north slopes of the Atlas Mountains in Morocco. *Journal of vector ecology*, 37(1), pp.137-147.
- Quate L.W., & Fairchild G.B., 1961.** *Phlebotomus* sand flies of Malaya and Borneo. *Pacific Insects*. 3, 203-222.
- Ramaoui, K. 2006.** Contribution à l'étude des Phlébotomes (vecteurs de la leishmaniose) et du réservoir canidé dans les foyers Sud-ouest et partie centrale du Maroc. DES. Univ. Cadi
- Ramaoui, K., Guernaoui, S. and Boumezzough, A., 2008.** Entomological and epidemiological study of a new focus of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Parasitology Research*, 103(4), pp.859-863.
- Rami M., 2003.** Leishmaniose Canine : Mise au point d'un modèle expérimental chien *l*.
- Rami, M., Atarhouch, T., Sabri, M., Cadi, S.M., Benazzou, T. and Dakkak, A., 2003.** Leishmaniose canine dans le Rif (côte méditerranéenne marocaine): enquête séro-épidémiologique. *Parasite*, 10(1), pp.79-85.
- Ranjan A, Sur D, Singh VP, Siddique NA, Manna B, Lal CS, Sinha PK, Kishore K, Bhattacharya SK, 2005.** Risk factors for Indian kala-azar. *Am J Trop Med Hyg* 73: 74–78.
- Rathgeber EM, Vlassoff C, 1993.** Gender and tropical diseases: a new research focus. *Soc Sci Med* 37: 513–520.
- Ready P.D., 2014.** Epidemiology of visceral leishmaniasis. *Clin. Epidemiol.* 6, 147–154.
- Regional Disease Vector Ecology Profile, North Africa., 2000.** Defense Pest Management analysis Center, Armed Forces Pest Management Board, Walter Reed Army Medical Center. www.afpmb.org/pubs/dveps/nort_afr.pdf.
- Reithinger, R., Dujardin, J.C., Louzir, H., Pirmez, C., Alexander, B. and Brooker, S., 2007.** Cutaneous leishmaniasis. *The Lancet infectious diseases*, 7(9), pp.581-596.

- Reithinger, R., Mohsen, M., Aadil, K., Sidiqi, M., Erasmus, P., Coleman, PG. 2003.** Anthroponotic cutaneous leishmaniasis, Kabul, Afghanistan. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 727–729.
- Reithinger, R., Mohsen, M., Leslie, T. 2010.** Risk factors for anthroponotic cutaneous leishmaniasis at the household level in Kabul, Afghanistan. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 4, 639.
- Remilinger P., 1926.** Au sujet de la leishmaniose au Maroc. *Maroc Médical* ; 52 :117-118.
- Rhajaoui M., 2009.** Les leishmanioses humaines au Maroc : une diversité nosogéographique. *pathol biol* (Paris), 10.1016.
- Rhajaoui, M. 2011.** Les leishmanioses humaines au Maroc: une diversité nosogéographique. *Pathol. Biol.* 59, 226-229
- Rhajaoui, M., 2011.** Human leishmaniasis in Morocco: a nosogeographical diversity. *Pathologie-biologie*, 59(4), pp.226-229
- Rhajaoui, M., Fellah, H., Pratlong, F., Dedet, J.P. and Lyagoubi, M., 2004.** Leishmaniasis due to *Leishmania tropica* MON-102 in a new Moroccan focus. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98(5), pp.299-301.
- Rhajaoui, M., Nasereddin, A., Fellah, H., Azmi, K., Amarir, F., Al-Jawabreh, A., Ereqat, S., Planer, J. and Abdeen, Z., 2007.** New clinicoepidemiologic profile of cutaneous leishmaniasis, Morocco. *Emerging infectious diseases*, 13(9), p.1358..
- Rhajaoui, M., Sebti, F., Fellah, H., Alam, M.Z., Nasereddin, A., Abbasi, I. and Schönián, G., 2012.** Identification of the causative agent of cutaneous leishmaniasis in Chichaoua province, Morocco. *Parasite: journal de la Société Française de Parasitologie*, 19(1), p.81.
- Rijal S., Koirala S., Van der Stuyft P., Boelaert M., 2006.** The economic burden of visceral leishmaniasis for households in Nepal. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 100: 838–841.
- Rioux J.A, Lanotte G, Petter F, Derreure G, Akalay o, Pratlong F, Velez I.D, Fikri N.B, Maazoun R, Denial M, Jarry D.M, Zahaf A, Ashford R.W, Cadi-Sousi M, Killick-Kendrick R, Benmansour N, Moreno G, Pieres J, Guilvard E, Zribi M, Kennou M.F, Rispaïl P, Knechtli R. & Serres E., 1986.** Les leishmanioses cutanées du bassin méditerranéen occidental ; de l'identification enzymatique à l'analyse éco-épidémiologique. L'exemple de trois foyers Tunisien, Marocain et Français. In : *Leishmania*. Taxonomie et phylogénèse. *Applications éco-épidémiologiques*, eds Rioux J.A, pp. 365-395. IMEEE, Montpellier.
- Rioux J.A., 1969.** Epidémiologie des leishmanioses dans le midi de la France. Monographie INSERM. 37, 223.
- Rioux, J. A., F. Petter, O. Akalay, G. Lanotte, A. Ouazzani, M. Seguignes, and A. Mohcine. "[Meriones shawi (Duvernoy, 1842)[Rodentia, Gerbillidae] a reservoir of**

Leishmania major, Yakimoff and Schokhor, 1914 [Kinetoplastida, Trypanosomatidae] in South Morocco (author's transl)]." *Comptes rendus des seances de l'Academie des sciences. Serie III, Sciences de la vie* 294, no. 11 (1982): 515-517.

Rioux, J. A., G. Lanotte, F. Petter, J. Dereure, O. Akalay, F. Pratlong, I. D. Velez.,1986 ."Les leishmanioses cutanées du bassin Méditerranéen occidental. De l'identification enzymatique à l'analyse éco-épidémiologique. L'exemple de trois foyers, tunisien, marocain et français." *CollintCNRS/INSERM) IMEE, Montpellier* (1986): 365-395.

Rioux, J.A. and World Health Organization, 1986. *Leishmania*: taxonomie et phylogenèse: applications éco-épidémiologiques: colloque international CNRS/INSERM/OMS/2-6 juillet 1984.

Rioux, J.A., Guilvard, E., Dereure, J., Lanotte, G., Denial, M., Pratlong, F., Serres, E. and Belmonte, A., 1986. Infestation naturelle de *Phlebotomus papatasi* (Scopoli, 1786) par *Leishmania major* MON-25. A propos de 28 souches isolées dans un foyer du Sud Marocain. *Leishmania. Taxonomie et phylogenese. Applications éco-épidémiologiques*, pp.471-480.

Rioux, J.A., Mahjoub, J., Gallego, M., Dereure, J., Perieres, J., Lahmrani, A., Riera, C., Saddiki, A. and Mouki, B., 1996. Leishmaniose cutanée humaine à *Leishmania infantum* MON-24 au Maroc. *Bulletin de la Société française de parasitologie*, 14(2), pp.179-183.

Rioux, J.A., Rispail, P., Lanotte, G. and Lepart, J., 1984. Relations Phlébotomes-bioclimats en écologie des leishmanioses Corollaires épidémiologiques. L'exemple du Maroc. *Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques*, 131(2-4), pp.549-557.

Rioux, J.A., Rispail, P., Lanotte, G. and Lepart, J., 1984. Relations Phlébotomes-bioclimats en écologie des leishmanioses Corollaires épidémiologiques. L'exemple du Maroc. *Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques*, 131(2-4), pp.549-557.

Rioux, J.A., Rispail, P., Lanotte, G., Lepart, J., 1984. Relations phlébotomes-bioclimats en écologie des leishmanioses Corollaires épidémiologiques. L'exemple du Maroc. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 131549–131557.

Rioux.J-A., 1999.Eco-épidémiologie des leishmanioses eu Maroc : bilan de 30 ans de coopération.Bulletin épidémiologique.1er trimestre, Direction d'épidémiologie et de lutte contre les maladies N°37 : p 1-15.

Riyad, M., Chiheb, S. and Soussi Abdallaoui, M., 2013. Cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in Morocco: still a topical question.

- Riyad, M., Chiheb, S., Soussi-Abdallaoui, M., 2013.** Cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major* in Morocco: still a topical question. Eastern Mediterranean health journal = La revue de sante de la Mediterranee orientale = al-Majallah al-sihhiyah li-sharq al-mutawassit 19, 495-501.
- Rodhain F., & Perez C., 1985.** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Notions d'épidémiologie des maladies à vecteurs. Maloine s.a éditeur.
- Rodríguez-Morales, Alfonso, J. 2005.** Ecoepidemiología y epidemiología satelital: nuevas herramientas en el manejo de problemas en salud pública. Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica 22, 54-63.
- Rondani C. 1840.** Sopra iina Specie di Insetto Dittem, Memoria prima per servire alia ditteologia italiana nl, Donati, Parma, 16 pp.
- Rose K., Curtis, J., Baldwin, T., Mathis, A., Kumar, B., Sakthianandeswaren, A., Spurck T., Handman, E., 2004.** Cutaneous leishmaniasis in red kangaroos: isolation and characterisation of the causative organisms. International journal for parasitology, 34(6), 655-664.
- Rotureau B., Ravel C., Couppié P., Pratlong F., Nacher ML, Dedet J-PL, Carme B., 2006.** Use of PCR-restriction fragment length polymorphism analysis to identify the main new world *Leishmania* species and analyze their taxonomic properties and polymorphism by application of the assay to clinical samples. J Clin Microbiol 44:459–67.
- Sabri, M., 1994.** Leishmanioses humaines: diagnostic séro-immunologique et identification
- Sacks D.L. 2001.** *Leishmania*- sand fly interactions controlling species-specific vector competence. *Cellular Microbiology*, 3 (4) : 189-196.
- Schlein, Y., Jacobson, R.L. and Shlomai, J., 1991.** Chitinase secreted by *Leishmania* functions in the sandfly vector. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 245(1313), pp.121-126.
- Schönian, G., Nasereddin, A., Dinse, N., Schweynoch, C., Schallig, HD., Presber, W., Jaffe, CL. 2003.** PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 47, 349–58.
- Sebti, F., Hmamouch, A., Amarir, F., Fahmi, A., Delouane, B., Abbasi, I., Sadak, A., Habbari, K., Rhajaoui, M., Fellah, H. 2015.** Molecular epidemiological study of cutaneous leishmaniasis in Beni Mellal and Fquih ben saleh provinces in Morocco. Act Tropica 149, 106-112.
- Secombe, A.K., 1993.** *Catalogue of Old World phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae)*. Natural History Museum.

- Senghor, M., A. Niang, J. Depaquit, M. Faye, H. Ferté, B. Faye, O. Gaye et al.** "Canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* transmitted by *Sergentomyia* species (Diptera: Psychodidae) in Senegal: ecological, parasitological and molecular evidences." In *Proceedings of the 7th International Symposium of Phlebotomine Sandflies*, pp. 25-30. 2011.
- Sheets D, Mubayi A, Kojouharov HV, 2010.** Impact of socioeconomic conditions on the incidence of visceral leishmaniasis in Bihar, India. *Int J Environ Health Res* 20: 415–430.
- Snowden F. M., 2008.** Emerging and reemerging diseases: a historical perspective. *Immunological Reviews*; 225:9-26.
- Souhail, M., 1994.** La leishmaniose viscérale (revue de littérature nationale et internationale). Doctorat en Médecine, Fac. Médecine, Casablanca. Maroc. 90 p. Suisse. p. 16.
- Tesh RB, 1995.** Control of zoonotic visceral leishmaniasis: is it time to change strategies? *Am J Trop Med Hyg* 52: 287–292.
- Theodor O., 1948.** Classification of the Old World species of the subfamily Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). *Bull. ent. Res.* 1, 85-115.
- Thérèse Duriez., Lucien Dujardin., Daniel Afchain., 2002.** Cours de parasitologie. *Laboratoire de Parasitologie Faculté de Pharmacie Lille*. Site : <http://arachosia.univlille2.fr/labos/parasito/Internat/courspar/leishman.html>.
- UNAIDS., 1998.** *Leishmania & HIV* in Gridlock. Division of Control of Tropical Diseases & World Health Organisation, 29 pp.
- Van der Auwera G., Dujardin JC., 2015.** Species typing in dermal leishmaniasis. *Clin Microbiol Rev* 28:265–294.
- Van der Auwera G., Maes I., De Doncker S., Ravel C., Cnops L., Van Esbroeck M., Van Gompel A., Clerinx J., Dujardin J., 2013.** Heat-shock protein 70 gene sequencing for *Leishmania* species typing in European tropical infectious disease clinics. *Eurosurveillance* 18:20543.
- Van der Auwera G., Ravel C., Verweij JJ., Bart A., Schönian G., Felger I., 2014.** Evaluation of four single-locus markers for *Leishmania* species discrimination by sequencing. *J Clin Microbiol* 52:1098–104.
- Velez ID, Hendrickx E, Robledo SM, del Pilar Agudelo S, 2001.** Gender and cutaneous leishmaniasis in Colombia [in Spanish]. *Cad Saude Publica* 17: 171–180.

Vlassoff C, Manderson L, 1998. Incorporating gender in the anthropology of infectious diseases. *Trop Med Int Health* 3:1011–1019.

Ysmail-Dahlouk, M., Amar Khodja, A., Ysmail-Dahlouk, S. and Ait Belkacem, F., 1994. Leishmaniose lupoides. In *Annales de Dermatologie et de Vénéréologie* (Vol. 121, No. 2, pp. 103-106). Masson.

Zait, H. and Hamrioui, B., 2009. Leishmanioses cutanées en Algérie Bilan de 386 cas diagnostiqués au CHU Mustapha d'Alger de 1998 à 2007. *Revue francophone des laboratoires*, 2009(412), pp.33-39.

Zait, H., Bousaad, H., 2009. Leishmanioses cutanées en Algérie Bilan de 386 cas diagnostiqués au CHU Mustapha d'Alger de 1998 à 2007. *Revue francophone Laboratoires* 412, 33–39.

Zeledon R., 1985. Leishmaniasis in North America, Central America and Caribbean Islands. In : *Leishmaniasis*, eds Chang K.P. & Bray R.S, pp ; 313-351. Elsevier Science Publishers B.V.

Zink AR., Spigelman M., Schraut B., Greenblatt CL., Nerlich AG., Donoghue HD., 2006. Leishmaniasis in Ancient Egypt and Upper Nubia. *Emerg Infect Dis.*;12:1616–7.

ANNEXE I : Données sur la leishmaniose cutanée au Maroc

-Région Tanger-Tetouan-Al Hoceïma

Region	Population	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000
Chefchaouen	457 432	7	5	1	2	2	2	3	11	14	21	20	18	7	8	11	7	10	6
Fahs-Anjra	76 447				3		1	1	1	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0
Larache	496 687	22	27	25	18	16	16	15	10	6	7	12	8	1	3	3	8	1	4
Ouezzane	300 637	46	119	104	83	105	116	122	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tanger-Assilah	1 065 601		4					0	0	3	3	2	0	0	0	0	0	0	2
Tétouan	550 374	6	11	10	4	13	9	9	6	3	1	0	1	0	0	0	0	0	0
M'Diq-Fnideq	209 897				1			1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AL houceïma	399 654	21	16	22	10	20	19	14	16	9	11	11	8	1	6	4	4	2	2
Total	3 556 729	102	182	162	121	156	163	165	45	37	46	45	35	9	17	18	19	13	14
Incidence	100000	2,86	5,12	4,55	3,40	4,39	4,58	4,64	1,27	1,04	1,29	1,27	0,98	0,25	0,48	0,51	0,53	0,37	0,39

-Région Oriental

Region	Population	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000
Berkane	289 137	1	5	3			1	2	0	1	0	0	0	0	2	0	0	2	0
Driouch	211 059	7	14	15	25	42	70	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Figuig	138 325	77	70	39	34	39	74	146	225	204	244	353	629	344	63	3	26	29	65
Jerada	108 727	52	53	97		3	10	45	75	38	14	54	113	429	273	21	6	3	2
Nador	565 426	15	21	23	25	43	31	23	16	18	14	11	23	18	20	7	4	5	2
Oujda-Angad	551 767							0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Taourirt	233 188				1			1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Guercif	216 717	1	5	2	6	10	19	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	2 314 346	145	168	179	91	137	205	250	316	261	272	418	765	791	358	31	36	39	69
Incidence	100000	6,26	7,26	7,73	3,93	5,92	8,86	10,80	13,65	11,28	11,75	18,06	33,05	34,18	15,47	1,34	1,56	1,69	2,98

-Région Fès-Meknès

Region	Population	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000
Boulemane	197 596	15	33	59	68	96	97	78	105	124	50	71	90	112	39	6	6	1	3
Fès	1 150 131	7	5	3	3	2	9	9	5	5	3	9	12	13	14	13	7	67	20
Sefrou	286 489	67	77	53	79	77	72	112	126	81	64	159	117	62	62	105	145	125	40
Moulay Yacoub	174 079	59	37	8	12	14	17	4	21	15	9	6	5	1	1	13	71	585	96
Taounate	662 246	168	119	148	152	123	155	125	127	99	159	121	62	65	110	67	114	131	71
Taza	528 419	98	69	58	227	214	242	199	202	40	27	49	51	66	66	65	57	57	28
Meknès	835 695	7	12	8	4	11	27	6	6	9	2	4	5	3	3	2	2	3	2
El Hajeb	247 016	3		1	3	5	1	0	0	3	1	1	0	0	1	0	0	0	0
Total	4 081 671	424	352	338	548	542	620	533	592	376	315	420	342	322	296	271	402	969	260
Incidence	100000	10,38	8,62	8,28	13,43	13,28	15,19	13,06	14,50	9,21	7,72	10,29	8,38	7,89	7,25	6,64	9,85	23,74	6,37

-Région Rabat-Salé-Kénitra

Region	Population	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000
Khémisset	542 221	3		3			1	4	4	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
Rabat	577 827																		
Salé	982 163				2			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Skhirate- Témara	574 543																		
Kénitra	1 061 435		2	3				7	1	0	4	1	0	0	0	0	0	0	0
Sidi Kacem	522 270	134	144	79	57	51	61	68	238	168	192	213	148	68	50	75	58	51	23
Sidi Slimane	320 407	2	3	4	5	2		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	4 580 866	139	149	89	64	53	62	81	243	168	196	214	148	68	51	76	58	51	24
Incidence	100000	3,03	3,25	1,94	1,40	1,16	1,35	1,77	5,30	3,67	4,28	4,67	3,23	1,48	1,11	1,66	1,27	1,11	0,52

-Région Béni Mellal-khénifra

Region	Population	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000
Khouribga	542 125							0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Azilal	554 001	280	519	392	271	310	390	447	631	621	442	365	193	92	71	78	54	74	15
Béni Mellal	550 678	32	97	89	58	116	95	89	100	100	49	51	15	3	7	10	15	4	0
Fquih Ben Salah	502 827	61	100	44	49	51	40	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Khénifra	371 145		2				1	3	2	3	1	0	0	2	0	1	0	2	0
Total	2 520 776	373	718	525	378	477	526	545	733	724	492	416	208	97	78	89	69	80	15
Incidence	100000	14,79	28,48	20,83	15,00	18,92	20,87	21,62	29,08	28,72	19,52	16,50	8,25	3,85	3,09	3,53	2,74	3,17	0,60

-Région Casablanca-settat

Region	Population	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000
Casablanca	3 359 818																		
Mohammadia	404 648																		
El Jadida	786 716							0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Sidi Bennour	452 448																		
Benslimane	233 123																		
Berrechid	484 518																		
Settat	634 184	25	36	20	32	28	26	18	42	46	185	188	0	0	1	0	0	0	0
Total	6 355 455	25	36	20	32	28	26	18	42	46	185	188	1	0	1	0	0	0	0
Incidence	100000	0,4	0,57	0,31	0,50	0,44	0,41	0,28	0,66	0,72	2,91	2,96	0,02	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00

-Région Marrakech-Safi

Region	Population	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000
Al Haouz	573 128	56	85	39	50	67	94	76	61	47	62	78	93	66	82	37	60	16	1
Chichaoua	369 955	471	736	434	376	250	301	260	258	238	303	501	328	350	380	469	486	484	55
El Kelâa des Sraghna	537 488	20	23	16	34	20	21	9	5	4	4	4	0	0	0	0	0	0	0
Essaouira	450 527	79	72	61	77	53	36	74	49	33	90	79	58	22	26	18	16	25	28
Marrakech	1 330 468	3	4					0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3
Rehamna	315 077	6																	
Safi	691 983		1					1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Yousseoufia	251 943																		
Total	4 520 569	635	921	550	537	390	452	420	373	323	459	662	479	438	488	524	563	525	87
Incidence	100 000	14,06	20,37	12,17	11,88	8,63	10,00	9,29	8,25	7,15	10,15	14,64	10,60	9,69	10,80	11,59	12,45	11,61	1,92

-Région Draa-Tafilalet

Region	Population	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000
Ouarzazate	297 502	357	455	412	255	89	129	295	1037	515	380	259	388	679	865	2064	251	210	62
Tinghir	322 412	1 286	846	226	334	492	330	419											
Zagora	307 306	1 710	111	81	91	129	184	587	1134	1882	1421	304	645	159	103	52	22	60	161
Midelt	289 337	20	31	42	33	57	63	59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Errachidia	418 451	1 448	897	233	12	11	51	557	4153	1624	1333	337	304	379	4	3	4	56	40
Total	1 635 008	4 821	2 340	994	725	778	757	1 917	6 324	4 021	3 134	900	1 337	1 217	972	2 119	277	326	263
Incidence	100 000	294,86	143,12	60,79	44,34	47,58	46,30	117,25	386,79	245,93	191,68	55,05	81,77	74,43	59,45	129,60	16,94	19,94	16,09

-Région Souss-Massa

Region	Population	2017	2016	2015	2014	2013	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000
Agadir-Ida -Ou-Tanane	600 599	8	15	7	7	1		0	1	0	2	0	1	0	0	0	0	2	8
Chtouka- Ait Baha	371 102	2	2	3			2	5	1	0	3	0	0	0	2	0	0	1	1
Inezgane- Ait Melloul	541 118		9	2				1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	7	6
Taroudannt	838 820	26	31	48	39	23	69	42	27	27	17	21	11	19	58	0	0	4	5
Tiznit	207 367	1	4	3	1			1	1	0	0	0	2	0	1	0	0	1	0
Tata	117 841	99	16	12	11		12	16	8	29	6	1	31	76	2	0	0	0	1
Total	2 676 847	136	77	75	58	24	83	65	38	56	28	22	45	95	63	0	3	15	21
Incidence	100 000	5,08	2,88	2,80	2,17	0,90	3,10	2,43	1,42	2,09	1,05	0,82	1,68	3,55	2,35	0,00	0,11	0,56	0,78

Les travaux réalisés dans ce cadre ont fait l'objet des publications et communications suivantes :

Publications

1. **El Alem Mohamed Mahmoud Mohamed**, Maryam Hakkour, Asmae Hmamouch, MeryemHalhalib, KhalidHabbari, HajibaFellah, Abderrahim sadak, and FaizaSebti., “Risk factors and prediction analysis of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania tropica* in Southwestern Morocco”, Infection, genetics and evolution I journal, **2018**Jul;61:84-91. doi: 10.1016/j.meegid.2018.03.017.
2. **El Alem Mohamed Mahmoud**, Sebti Faiza, Med Lemine, Chichaoui Smaine, El Bachir Adlaoui, Habbari Khalid, Sadak Abderrahim, and Fellah Hajiba., “Geographical Distribution and New Situation of Leishmania Species after the Control of Cutaneous Leishmaniasis Foci in Errachidia Province, Morocco, in 2014,” BioMed Research International, vol. **2016**, Article ID 8642373, 7 pages, **2016**. doi:10.1155/2016/8642373.
3. Maryam Hakkour, Asmae Hmamouch, **Mohamed Mahmoud El Alem**, Abdelkbir Rhalem, Fatima Amarir, Mohamed Touzani, Abderrahim Sadak,HajibaFellah, and FaizaSebti. New epidemiological aspects of visceral and cutaneous leishmaniasis in Taza, Morocco, Parasites & Vectors**2016**9:612 DOI: 10.1186/s13071-016-1910-x.
4. Hmamouch A, **El Alem Mohamed Mahmoud**, Hakkour M, et al. Circulating species of Leishmania at microclimate area of Boulemane Province, Morocco: impact of environmental and human factors. Parasit Vectors. **2017** Feb 22;10(1):100. doi: 10.1186/s13071-017-2032-9.
5. Maryam Hakkour, Faiza Sebti, Bouchra El Mansouri, Amina Hajli,Abderrahim Sadak, **Mohamed Mahmoud EL ALEM**, Hajiba Fellah et Bouchra Delouane. Diagnostic microscopique de la leishmaniose cutanée et viscérale au Maroc: contrôle/confirmation et validation par PCR entre 2002 et 2014. Afrique Science. **2016** 12 (5).SSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>.
6. Sebti Faiza, Hakkour Maryam, Hmamouch Asmae, **El Alem Mohamed Mahmoud**, Bekhti Khadija, Fellah Hajiba, Sadak Abderrahim, and Habbari Khalid. Epidemiology status of cutaneous leishmaniasis in Morocco | Request PDF. Available from: https://www.researchgate.net/publication/313309766_Epidemiology_status_of_cutaneous_leishmaniasis_in_Morocco [accessed Aug 22 2018].

7. Maryam HAKKOUR, **Mohamed Mahmoud El Alem**, Hmamouch Asmae, Abdelkebir RHALEM, Bouchra DELOUANE, Khalid Habbari, Hajiba Fellah, Abderrahim Sadak, and Faiza Sebti. Leishmaniasis in Northern Morocco: Predominance of Leishmania infantum Compared to Leishmania tropica, BioMed Research International, **2019** (506): 1-14 |DOI: [10.1155/2019/5327287](https://doi.org/10.1155/2019/5327287).
8. Maryam HAKKOUR, Hmamouch Asmae, **Mohamed Mahmoud El Alem**, Abdelhakim Bouyahya, Balahbib Abdelaali, Hajiba Fellah, Abderrahim Sadak, and Faiza Sebti. Risk factors associated with Leishmaniasis in northern region Morocco. Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases, **2020** (3)|DOI: [10.1155/2020/6948650](https://doi.org/10.1155/2020/6948650).