



UNIVERSITÉ MOHAMMED V - AGDAL
FACULTÉ DES SCIENCES
Rabat



N° d'ordre : 2719

THÈSE DE DOCTORAT

Présentée par

Fatima AMARIR

Discipline : Biologie

Spécialité : Parasitologie

U.F.R : Biodiversité et aquaculture

ÉLIMINATION DE LA SCHISTOSOMIASE URINAIRE AU MAROC : ARGUMENTS SÉROLOGIQUES ET MALACOLOGIQUES ET APPROCHE DE LA SURVEILLANCE

Soutenue le 10 Juillet 2014 à 10 heures

Devant le jury

Président :

Ahmed YAHYAOUI Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat

Examineurs :

Abderrahim SADAK Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat

Mohamed RHAJAOUI Docteur en Biologie et Directeur de l'Institut National d'Hygiène de Rabat

Hassane JAZIRI Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat

Badre Eddine LMIMOUNI Professeur à la Faculté de Médecine et Pharmacie de Rabat

Abderraouf HILALI Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Settat

DEDICACES

A tout ceux qui m'ont appris le sens du savoir et le respect du devoir.

A ceux qui resteront pour moi, une source de bonheur, une puissance d'amour et d'affection.

A la mémoire de mes grand parent,

A la mémoire de mon père,

A la mémoire de mon frère,

A ma mère,

A mon mari, ma fille et mon fils,

A mon frère et mes sœurs,

A toute la famille Cherkaoui et Amarir,

A mes amies,

A tous les miens,

Qu'ils trouvent ici, l'expression de ma

Reconnaissance pour tout l'amour

et l'encouragement qu'ils m'ont témoigné.

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement le directeur de ma thèse **Monsieur SADAK Abderrahim**, professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, de m'avoir fait l'honneur d'accepter de diriger mon travail de thèse durant toutes ces années tout en portant un grand intérêt à ce travail. Je le remercie vivement aussi d'avoir accepté d'examiner ma thèse. La rigueur scientifique, le dynamisme et la disponibilité constante déterminent l'homme de science que vous êtes. Vos conseils et directives scientifiques ont toujours été d'une grande utilité pour réaliser l'étude et finaliser mes publications. Vous avez aussi pris une part prépondérante dans la réalisation définitive de ce manuscrit. Vos qualités scientifiques et humaines, votre patience, vos encouragements, et votre grande disponibilité, nous a aidé à gérer de pair nos responsabilités professionnelles et universitaires. Soyez assuré cher professeur de nos sincères remerciements et profond respect. Que Dieu vous accorde longue vie et santé.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à **Monsieur RHAJAOUI Mohamed**, examinateur de ma thèse, Docteur en Biologie et Directeur de l'Institut National d'Hygiène de Rabat, qui m'a proposé ce sujet de recherche, ou j'ai acquis des compétences et enrichis mes connaissances scientifiques. C'est avec une attention constante qu'il a suivi la progression de ce travail et il n'a ménagé aucun effort pour assurer son bon déroulement. Les multiples séances de discussions que nous avons tenues m'ont permis d'approfondir mes connaissances dans le sujet et de franchir de grands pas dans la finalisation de ce travail. Ses remarques toujours pertinentes ainsi que ses conseils judicieux ont été d'un apport inestimable dans l'avancement de cette étude. A ses compétences scientifiques indéniables, le Docteur RHAJAOUI allie aussi des qualités humaines que j'ai hautement appréciées. Qu'il trouve encore une fois ici l'assurance de mon grand respect et indéfectible reconnaissance.

Je remercie **Prof YAHYAOUI Ahmed**, professeur à la Faculté des Sciences de Rabat et président du jury, de m'avoir apporté son appui tout au long de ce travail et sa rigueur qui m'ont apporté un grand soutien et confort.

Je remercie vivement **Prof JAZIRI Hassan**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat et examinateur de ma thèse, pour sa participation au jury et pour s'être intéressé à mes travaux. Qu'il trouve ici le témoignage de mon profond respect.

Je remercie vivement **Prof LMIMOUNI Badre Eddine**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat et examinateur de ma thèse, pour sa participation au jury et pour s'être intéressé à mes travaux.

Qu'il trouve ici le témoignage de mon profond respect.

Je remercie vivement **Prof HILALI Abderraouf**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Settat et examinateur de ma thèse, pour sa participation au jury et pour s'être intéressé à mes travaux.

Qu'il trouve ici le témoignage de mon profond respect.

Je remercie vivement **Prof HANDALI Sukwan** du CDC d'Atlanta et **Prof ABASSI Ibrahim** de l'OMS, de leurs nombreux conseils et directives. Leurs précieuses recommandations ont grandement contribué à l'élaboration de cette thèse et ses perspectives.

Qu'ils trouvent ici, l'expression de ma profonde gratitude et de mes sincères remerciements.

A tous mes collègues de l'Unité de Bilharziose, l'immunoparasitologie et la biologie moléculaire de l'Institut National d'Hygiène de Rabat: Dr Hajiba Fellah, Dr Sebti Faiza, Ing. El Mansouri Bouchra, Ing. El Adlaoui El Bachir, Dr Delouane Bouchra, Dr Laboudi Majda, Ing. Chafika Faraj, Dr Amina Hajli, Dr Mustapha Mimouni, Inf. Fouzia, Inf Fatiha, Inf. Diouane Mohammed et tout le personnel du Département de Parasitologie. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude, et indéfectible attachement. Que Dieu vous garde tous, et vous accorde longue vie et prospérité.

Mes remerciements vont à tous le personnel du service des maladies parasitaire de la DELM, et tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail, de par leur gentillesse, m'ont encouragé à mener à bien ce travail.

Mes remerciements vont à tous ceux qui, de par leur gentillesse, m'ont encouragé à mener à bien ce travail.

Enfin que toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de ma sincère gratitude.

Liste des publications

- ❖ **Fatima Amarir**, Bouchra El Mansouri, Hajiba Fellah, Faiza Sebti, Lakranbi Mohammed, Sukwan Handali, Patricia Wilkins, Abderrahman Laamrani El Idrissi, Abderrahim Sadak and Mohammed Rhajaoui. National Serologic Survey of *Haematobium* Schistosomiasis in Morocco: Evidence for Elimination. (2011). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 84(1), pp 15–19.
- ❖ **Amarir Fatima**, Sebti Faiza, Abbasi Ibrahim, Sadak Abderrahim, Fellah Hajiba, Nhammi Haddou, Ameer Btissam, Laamrani El Idrissi Abderrahman, and Rhajaoui Mohamed. Molecular evaluation of *S. haematobium* infected snails by DraI PCR and sh110/SmSI PCR: another argument of elimination of schistosomiasis in Morocco. *Parasites & Vectors* 2014, **7**:288 doi:10.1186/1756-3305-7-288

Articles sur la biologie moléculaires des autres parasitoses:

- ❖ Hmamouch A, **Amarir F**, Fellah H, Karzaz Mbarek, Bekhti Khadija, Rhajaoui Mohamed, Sebti Faiza. (2014). Coexistence of *Leishmania tropica* and *Leishmania infantum* in Sefrou province, Morocco. *Acta tropica*, 130 : 94-99
- ❖ Rhajaoui M, Naserddin A, **Amarir F**, Fellah H, Azmi K, Al-Jawabreh A, Ereqat S, Planer J and Abdeen Z. (2007). Molecular typing reveals emergence of a new clinicoepidemiologic profile of cutaneous leishmaniasis in Morocco. *Emerging Infectious Disease*, 13, 9: 1358-60.

Communication orale:

- RHAJAOUI M and AMARIR F (2010). Schistosomiasis in Morocco: from endemicity to elimination. An informal consultation: diagnostic tools to guide and certify disease elimination. London School of Hygiene & Tropical Medicine. London, United Kingdom, 19-20 July, 2010.

Communications affichées:

- *Colloque scientifique des Infections émergentes et ré-émergentes*: actualités épidémiologiques, diagnostic et vaccination ; du 30 novembre au 1^{er} décembre 2012 à l'IAV Hassan II, Rabat, Maroc.

Titre du poster: National Serologic Survey of *Haematobium* Schistosomiasis in Morocco: Evidence for Elimination. AMARIR F et al., 2011.

- 4^{èmes} Journées Nationales de Biologie Praticienne ; les 30-31 mars 2012 à Agadir.

Titre du poster 1. National Serologic Survey of *Haematobium* Schistosomiasis in Morocco: Evidence for Elimination. AMARIR F et al., 2011.(Poster n°5)

Titre du poster 2. Molecular evaluation of *S. haematobium* infected snails by DraI PCR and sh110/Smsl PCR: another argument of elimination of schistosomiasis in Morocco. AMARIR F et al. 2014 (Poster n°6)

Ce travail est une collaboration entre le laboratoire de Zoologie et biologie générale (équipe de Parasitologie et écologie) de la Faculté des Sciences de Rabat, sous la direction du Professeur Abderrahim SADAK, le laboratoire de Bilharziose du département de Parasitologie de l'Institut National d'Hygiène de Rabat, sous la direction du Dr Rhajaoui Med, et le service des maladies parasitaires de la Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies de Rabat (DELM), sous la direction du Dr El Idrissi El Amrani Abderrahim, dans le cadre d'un projet intitulé : Étude sérologique et malacologique pour la confirmation de l'arrêt de la bilharziose urinaire au Maroc. Le projet a bénéficié du soutien du Centre de Contrôle des Maladies d'Atlanta de l'USA (CDC), et de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS/soutien financier Référence n 2008/237-0).

SOMMAIRE

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
PARTIE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I. LES BILHARZIOSES	3
1.1. Généralités et historique	3
1.2. Répartition géographique	3
1.3. Cycle biologique	6
1.3.1. Parasite	6
1.3.1.1. Taxonomie	
1.3.1.2. Morphologie	
1.3.1.3. Biologie	
1.3.2. Hôtes intermédiaires	14
1.3.2.1. Taxonomie et morphologie	
1.3.2.1. 1. Famille des Bulinidae	
1.3.2.1. 2. Famille des Planorbidae	
1.3.2.1. 3. Famille des Hydrobioidae	
1.3.2.2. Élément de biologie et écologie	
1.3.3. Réservoirs	19
1.3.3.1. Réservoirs des schistosomes anthropophiles	
1.3.3.2. Réservoirs des schistosomes hybrides	
1.3.4. Transmission	22
1.3.4. 1. Cycle	
1.3.4.2. Facteur d'évaluation	
1.3.4.3. Facteur de risque	
1.4. Relation entre les schistosomes et leurs hôtes	25
1.4.1. Hôtes intermédiaires	25
1.4.1.1. Infestation	
1.4.1.2. Infection prépatente	
1.4.1.3. Infection patente	
1.4.2. Hôtes définitifs	27
1.4.2.1. Permissivité	
1.4.2.2. Compatibilité	

1.4.2.3. Étiologie	
1.5. Immunobiologie	28
1.5.1. Réponse cellulaire Th1 et/ou Th17	29
1.5.2. Réponse cellulaire Th2	31
1.5.3. Balance Th1/Th2	32
1.5.4. Réponse humorale	33
1.5.5. Immunité et endémicité	34
1.6. Aspects cliniques	35
1.6.1. Phase d'infection cercarienne	35
1.6.2. Phase d'invasion	35
1.6.3. Phase de localisation digestive	36
1.6.4. Phase d'état	36
1.6.4.1. Manifestation uro-génitale	
1.6.4.2. Manifestation intestinale particulière	
1.6.4.3. Manifestation hépatique	
1.6.4.4. Forme atypique	
1.7. Diagnostic	41
1.7.1. Examen chez les patients à forte intensité de l'infection	41
1.7.1.1. Échographie	41
1.7.1.2. Examen biologique	
1.7.2. Examen chez les patients à faible intensité d'infection	42
1.7.2.1. Radiologie	
1.7.2.2. Technique immunologique et moléculaire	
1.8. Traitement	44
1.9. Lutte	45
1.9.1. Dynamique	45
1.9.2. Opportunités et défi	47
II. BILHARZIOSE URINAIRE AU MAROC	48
II.1. Historique	48
II.2. Programme de lutte et profil épidémiologique	48
II.3. Hôte intermédiaire	50
II.3.1. <i>Bulinus truncatus</i>	51

II.3.2. <i>Planorbarius metidjensis</i>	51
PARTIE II. ZONE D'ÉTUDE-MATÉRIEL ET MÉTHODES	53
CHAPITRE I. ZONE D'ÉTUDE	53
I. Tata	56
II. Chtouka Ait Baha	58
III. Errachidia	60
IV. El Kelâa des Sraghna	62
V. Béni Mellal	64
CHAPITRE II. MATÉRIELS ET MÉTHODES	64
I. VÉRIFICATION DE L'ÉLIMINATION DE LA BILHARZIOSE URINAIR AU MAROC	65
I. 1. Enquête sérologique	65
I.1.1. Type et période	65
I.1.2. Population d'étude	66
I.1.3. Variable	66
I.1.4. Éthique	66
I.1.5. Procédure	66
I.1.6. Prélèvement sanguin	67
I.1.7. Collecte et analyse des données	68
I.2. Étude sérologique	68
I.2.1. Détection sérologique de l'infection à <i>S. haematobium</i>	69
I.2.1.1. Principe de l'Enzyme Immuno Transfert Blot	69
I.2.1.2. Mode opératoire	69
I. 3. Prospections malacologiques	70
I.3.1. Période	70
I.3.2. Collecte des bulins	70
I.3.3. Identification et conservation	72
I.4.1 Étude malacologique	73
I.4.1. Principe de la PCR	73
I.4.2. Mode opératoire	73
I.4.2.1. Extraction d'ADN	73
I.4.2.2. Amplification par DraI PCR	75

I.4.2.3. Amplification par Sh110SmSI PCR	76
I.4. 2.4. Électrophorèse	76
II. APRÈS ÉLIMINATION DE LA BILHARZIOSE À S. HAEMATOBIMUM : APPROCHE DE DIAGNOSTIC ET DE SURVEILLANCE	77
II.1. Source d'information	78
II.2. Synthèse des résultats	79
II.3. Gestion de la surveillance/veille sanitaire humaine et malacologique	80
III. ÉTUDE MALACOLOGIQUE PILOTE PAR DRAI/SH73 PCR: ARGUMENT POUR LA CERTIFICATION DE L'ÉLIMINATION DE LA BILHARZIOSE	81
III.1. Collecte des bulins	81
III.2. Mode opératoire de la PCR DraI/Sh73	81
III.3. Évaluation de la PCR DraI/Sh73	80
III.4. Analyse moléculaire des bulins	82
PARTIE III. RÉSULTATS	83
PARTIE IV. DISCUSSION	100
CONCLUSION GÉNÉRALE	115
PERSPECTIVE	117
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE	119
ANNEXES	144
RÉSUMÉ	208

ABREVIATIONS

ADCC	Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFE	Aires à faible endémicité
B.	<i>Bulinus</i>
CAA	Antigène Anodique Circulant
CCA	Antigène Cationique Circulant
CDC	Centre of Disease Control
DELM	Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies
dNTP	Mélange des quatre désoxyribonucléotides: dATP (désoxy adénine tri-phosphate), dCTP (désoxy cytosine tri-phosphate), dGTP (désoxy guanine tri-phosphate), dTTP (désoxy thymine tri-phosphate).
DraI	Séquence répétée d'ADN spécifique de schistosomes à œufs à éperon terminal
EITB-HAMA	Enzyme Immuno Transfert Blot à base d'antigènes microsomaux des vers adultes de <i>Schistosoma haematobium</i>
ELISA	Enzyme linked Immuno sorbent Assay
GATC	Acides nucléiques (Guanine, Adénosine, Thymine, Cytosine)
IFN	Interferon gamma
IL	Interleukine
Ig	Immunoglobuline
IgG POD	Conjugué anti chaîne gamma humaine lié au substrat POD
INH	Institut National d'Hygiène
KDa	Kilo Dalton
MAMA	Antigènes microsomaux du vers adulte de <i>Schistosoma mansoni</i>
N. Pop	Nombre de population
N	Nombre
OMS/WHO	Organisation Mondiale de la Santé World Health Organisation
S.	<i>Schistosoma</i>
Sh110 Sm-	Séquence d'ADN répétée de <i>Schistosoma haematobium</i> et une

SI	Seconde amorce dérivé du <i>Schistosoma mansoni</i> splece reader
SP	Sporocyste
SEA	Soluble egg antigen- antigène soluble des œufs
TNF	Tomural necrose factor
P.	<i>Planorbarius</i>
PAGE SDS	Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
PCR	Polymérase chaine réaction
PPC	Partners for parasite control
PBS	Solution tampon buffer phosphate
PZQ	Praziquantel
WA	Worm antigen – antigène de ver adulte

LISTE DES FIGURES

Fig. n°	Titre	Page
1	Carte de la répartition des espèces des schistosomes	4
2	Situation globale du contrôle de la bilharziose dans le monde en 2005	5
3	Arbre phylogénétique schématique des espèces des schistosomes	7
4	Différents stades de développement de <i>Schistosoma</i>	8
5	Stades de développement de <i>Schistosoma japonicum</i>	9
6	Œufs des schistosomes	10
7	Morphologie et anatomie de <i>B. truncatus</i>	15
8	Morphologie et anatomie de <i>Biomphalaria pfeifferi</i>	16
9	Morphologie des mollusques de la Famille d'Hydrobioidae, hôtes intermédiaires de la bilharziose.	17
10	Hôtes définitifs naturels des schistosomes	20
11	Hybrides des schistosomes du groupe <i>haematobium</i> et leurs réservoirs	21
12	Cycle de développement des schistosomes	22
13	Réponses immunitaires Th1 et Th2 induites par les schistosomes	30
14	Granulome bilharzien dans le foie humain	32
15	Réactions de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante d'anticorps (ADCC)	33
16	Dermatite cercarienne	35
17	Lésions urinaires dues à <i>S. haematobium</i>	37
18	Hépatosplénomégalie : signe clinique de la bilharziose intestinale	38
19	Lésions dues à <i>S. mansoni</i>	39
20	Évolution des cas autochtones de la bilharziose urinaire au Maroc (1960-2009)	48
21	Carte de la situation géographique des différentes provinces de l'étude	53
22	Carte du secteur d'Akka de la province de Tata	56
23	Carte du secteur de Targa NTouchka de la province de Chtouka Ait Baha	58
24	Carte du secteur Meski Oued Ziz de la province d'Errachidia	60
25	Carte des secteurs sélectionnés de la province d'El Kelâa des Sraghna	62
26	Carte des secteurs sélectionnés de la province de Béni Mellal	62
27	Prélèvements sanguins réalisés pour l'enquête sérologique de la bilharziose urinaire par EITB, au Maroc, en 2009	67
28	Points de contact Homme/Bulins au niveau des gîtes étudiés	70

29	Lieu de récolte des bulins au niveau des canaux d'irrigation	71
30	Identification morphologique des bulins collectés (INH, 2009)	71
31	Groupe de bulins conservé dans de l'alcool dans des flacons étiquetés	73
32	Cycles thermiques de la PCR	74
33	Techniques de diagnostic de la bilharziose en fonction de la prévalence de la maladie	76
34	Profil électrophorétique de <i>S. haematobium</i> et <i>S. bovis</i> par DraI/Sh73 PCR	80
35	Répartition de la population d'étude sérologique de la bilharziose urinaire au Maroc, selon le sexe, en 2009	82
36	Répartition de la population d'étude sérologique de la bilharziose urinaire au Maroc, selon l'âge, en 2009	83
37	Série des bandelettes HAMA EITB négatives	85
38	Résultats de l'analyse DraI PCR des bulins collectés aux gîtes de Chtouka Ait Baha et Errachidia en 2009	86
39	Résultats de l'analyse DraI PCR des bulins collectés aux gîtes de Tata, El Kelâa des Sraghna et Béni Mellal en 2009	88
40	Résultats de l'analyse Sh110-SmSI PCR des bulins collectés aux gîtes de Tata, EL Kelâa et Béni Mellal en 2009	89
41	Approche de la surveillance et gestion de l'infection à <i>S. haematobium</i> , chez l'homme, après l'élimination de la bilharziose urinaire	90
42	Approche de la surveillance malacologique de l'infection à <i>S. haematobium</i> , après élimination de la bilharziose urinaire au Maroc	94
43	Bulins collectés de la localité Abdoune de Fkih Ben Saleh	96
44	Évaluation de la DraI/Sh73 PCR	97
45	Résultats de l'analyse DraI/Sh73 PCR des bulins collectés au gîte de Krifate de Fkih Ben Saleh en 2013	97
46	Résultats de l'étude sérologique de la bilharziose urinaire, réalisée chez les populations dépistées à Chtouka Ait Baha, Tata et Marrackech, en fonction de la tranche d'âge, en 2001	101
47	Planning des surveillances malacologiques dans la phase post élimination de la bilharziose urinaire	110

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°	Titre :	Page
1	Caractéristiques des principales espèces des schistosomes humains à œufs à éperon latéral	12
2	Caractéristiques des principales espèces des schistosomes humains à œuf à éperon terminal	13
3	Intensité de la bilharziose en fonction du nombre d'œufs excrétés	24
4	Répartition et densité des bulins et des planorbes au Maroc en 2004	51
5	Différents secteurs cibles de l'étude sérologique de la bilharziose urinaire au Maroc, en 2009	54
6	Résultats sérologiques de la bilharziose urinaire des enfants dépistés au Maroc, en 2009, à Errachidia, Chtouka Ait Baha, Béni Mellal, Tata et El Kelâa des Sraghna, par EITB	84
7	Résultats de l'examen moléculaire par DraI PCR et Sh110SmSI PCR des bulins récoltés au Maroc, en 2009	86
8	Caractéristiques des différents tests disponibles de diagnostic humain de <i>S. haematobium</i> dans les aires à faible endémicité	92
9	Caractéristiques des différents tests de diagnostic malacologique de l'infection à <i>S. haematobium</i>	95
10	Résultats de l'étude sérologique de la bilharziose urinaire, réalisée chez les populations dépistées à Choura ait Bahâï, Tata et Marrakech en 2001	100

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La bilharziose (ou schistosomiase ou fièvre des mollusques) est une affection parasitaire, eau dépendante, due à un ver plat du genre *Schistosoma* (*S*). Elle est transmise par des mollusques d'eau douce qui jouent le rôle d'hôtes intermédiaires (Cetron *et al.*, 1996). Cette maladie, liée à la pauvreté, compromet la croissance et le développement intellectuel des enfants et entraîne une baisse de la capacité de travail et de productivité des adultes (Tchuem., 2006; Sacko *et al.*, 2011). L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 207 millions de personnes sont infectées et 800 millions de personnes, en majorité des enfants, sont à risque dans le monde (Steinmann *et al.*, 2006). Il existe quatre espèces majeures de schistosomes, *S. mansoni*, *S. mekongi* et *S. japonicum* qui sont responsables de la bilharziose intestinale et hépatosplénique, tandis que *S. haematobium*, cause la bilharziose urogénitale. L'infection par *S. haematobium* est plus virulente, puisqu'elle prédispose au cancer de la vessie de type épidermoïde (Botelho *et al.*, 2010) et parfois au cancer de la prostate (Jenkins-Holick *et al.*, 2013) qui constitue 30% des types des cancers (Botelho *et al.*, 2010), dans les 54 pays endémiques, en Afrique, Madagascar et au Moyen Orient. Presque 150 millions de personnes sont infectées par *S. haematobium*, avec une mortalité de 280 000 personnes par an (Van Der Werf *et al.*, 2003; Labbo *et al.*, 2007; Webster *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2013). Durant les 20 dernières années, des progrès significatifs dans la lutte ont été réalisés suite aux stratégies recommandées par l'OMS. Plusieurs pays ont réduit l'endémicité de la bilharziose à un faible niveau (Égypte, Iraq, Syrie, Libye, Oman etc.) ; or le Maroc compte parmi les rares pays à avoir élaboré, exécuté et réussi un processus d'élimination de la maladie (Maroc, Iran, Liban, Tunis), grâce aux moyens de lutte antischistosomiase : dépistage actif des cas par l'examen microscopique des urines, traitement de masse, lutte contre les mollusques d'eau douce, mesures éducatives et sanitaires, collaboration intersectorielle (Barkia *et al.*, 2011, Farahat *et al.*, 2012). La prévalence a été réduite jusqu'à atteindre zéro cas autochtone en 2004. Cinq ans plus tard, aucun cas autochtone n'est détecté au Maroc, il ne subsiste que de rares cas résiduels et des cas importés de l'étranger (DELM, 2003 - 2007).

Selon les recommandations des experts de l'OMS, le Maroc et les pays qui ont réduit l'incidence de la bilharziose urinaire à zéro % pendant cinq ans consécutifs (2004-2008), doivent vérifier l'achèvement de l'interruption de la transmission de la maladie par:

- l'évaluation de l'infection à *S. haematobium*, chez les enfants, par une technique sérologique sensible. En effet, dans les zones à faible endémicité, la sensibilité du diagnostic de la bilharziose urinaire par l'examen microscopique des urines est fortement limitée par : la fécondité sporadique des vers adultes et par le faible nombre d'œufs récupérés des échantillons parasitaires (Cavalcanti *et al.* 2013).

- l'évaluation de l'infection à *S. haematobium*, chez le mollusque *Bulinus truncatus*, par la PCR DraI et la PCR Sh110 SmSI (WHO, 2008). Ces techniques moléculaires sont capables de détecter les infections prépatentes des bulins et de discriminer entre ceux infectés par les schistosomes humains (*S. haematobium*) et ceux infectés par les schistosomes d'origine animale (*S. bovis*). Or, les méthodes malacologiques standards (test lumière, dissection etc.) ne détectent que les infections patentes de ces mollusques (après émission des cercaires).

Dans cette étude, nous proposons de sélectionner les foyers de la bilharziose urinaire au Maroc, ayant un passé épidémiologique récent, et d'y mener de pair:

– une étude séro-épidémiologique de la bilharziose urinaire, chez les enfants, par la technique hautement sensible et spécifique, Enzyme Immuno-Transfert Blot, à base d'antigènes microsomaux des vers adultes de *S. haematobium* (HAMA EITB) ;

– une évaluation moléculaire de l'infectivité des bulins des gîtes de ces foyers, par *S. haematobium*, par la PCR DraI confirmée par la PCR Sh110 SmSI.

Après la confirmation de l'interruption de la transmission de la bilharziose urinaire au Maroc, la certification de l'élimination par l'OMS, consiste à maintenir l'incidence à zéro % pendant cinq ans consécutifs (2010-2014), et la surveillance/veille sanitaire doit être réalisée par des tests sérologiques de détection des anticorps, au lieu de l'examen direct des urines (WHO, 2008). Néanmoins, les recherches sont en cours pour développer des tests de diagnostic de *S. haematobium*, rapides et pas chers. Dans cette optique, nous réalisons une étude comparative des performances des tests rapides, sérologiques et malacologiques, disponibles dans la littérature jusqu'à 2013 et nous proposant une approche de stratégie de surveillance/veille sanitaire plus vigilante, basée sur des tests de diagnostic rapides plus sensibles, adaptée à la phase post élimination de la maladie. Pour rendre cette stratégie opérationnelle, une étude pilote sera réalisée à la province de Fkih Ben Saleh, afin d'argumenter la certification de l'élimination.

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. BILHARZIOSES

I.1. Généralités et historique

La bilharziose ou schistosomiase est une affection parasitaire, eau dépendante, due à un ver plat, le schistosome ou bilharzie, trématode hémaphogène à sexe séparé. Les schistosomes sont transmis par des mollusques d'eau douce (hôtes intermédiaires), et parasitent les endothéliums du système vasculaire de leurs hôtes définitifs. L'accumulation massive des œufs des schistosomes dans certains organes entraîne des troubles et des lésions qui peuvent être fatales en absence de traitement (Traore *et al.*, 2006).

Selon les papyrus Ebers (1550 av. J-C.) découverts à Louxor, une maladie caractérisée par l'hématurie régnait en Égypte. Leur valeur d'interprétation sera confirmée par la découverte d'œufs calcifiés de schistosomes, trouvés dans le cortex rénal des momies de la 20^{ème} dynastie, sauvées par Ruffer avant la mise sous eau du premier barrage d'Assouan (Ziskind *et al.*, 2009). L'hématurie et sa fréquence en Égypte furent plus tard notées par les médecins de l'ancienne Perse, en particulier par Avicenne (Abu Ali al-Hussein ibn-Abdullah Ibn-Sina, 980-1037). En 1851, Theodor Bilharz, médecin allemand exerçant à l'hôpital du Caire, décrit pour la première fois les vers parasites responsables de l'hématurie d'Égypte, qu'il a découvert dans les veines mésentériques.

Les techniques biologiques plus fines telle que la détection de l'antigène anodique circulant (CAA) ont permis d'identifier, grâce à un prélèvement de la jambe, une bilharziose bien plus ancienne chez une momie datée de 3200 av. J-C. Il s'agit d'un adolescent de l'époque prédynastique tardive, doté du matricule BM 32753. Il est devenu le plus ancien cas connu d'infestation humaine par *S. haematobium* (Deelder *et al.*, 1990). Ainsi, depuis 5 millénaires, la bilharziose urinaire sévit en Égypte - un bel exemple de fidèle adaptation d'un parasite à son hôte (Ferandel, 2001).

La première réunion d'experts de la bilharziose en 1952, patronnée par l'OMS, avait aidé à définir le problème et à planter des jalons pour la lutte antibilharzienne et établir les programmes de recherches. Durant la décennie 1970-1980, les efforts de lutte reposaient sur l'association de la lutte contre les mollusques, de la chimiothérapie et des mesures éducatives et sanitaires. Rares sont les pays qui sont déjà parvenus à l'élimination de la maladie (Tchuem., 2006; WHO 2013 b). De ce fait, les bilharzioses sont l'exemple même de maladies les plus anciennes et des plus actuelles de l'humanité.

1.2. Répartition géographique

La bilharziose est aujourd'hui endémique dans 76 pays (Figure 1).

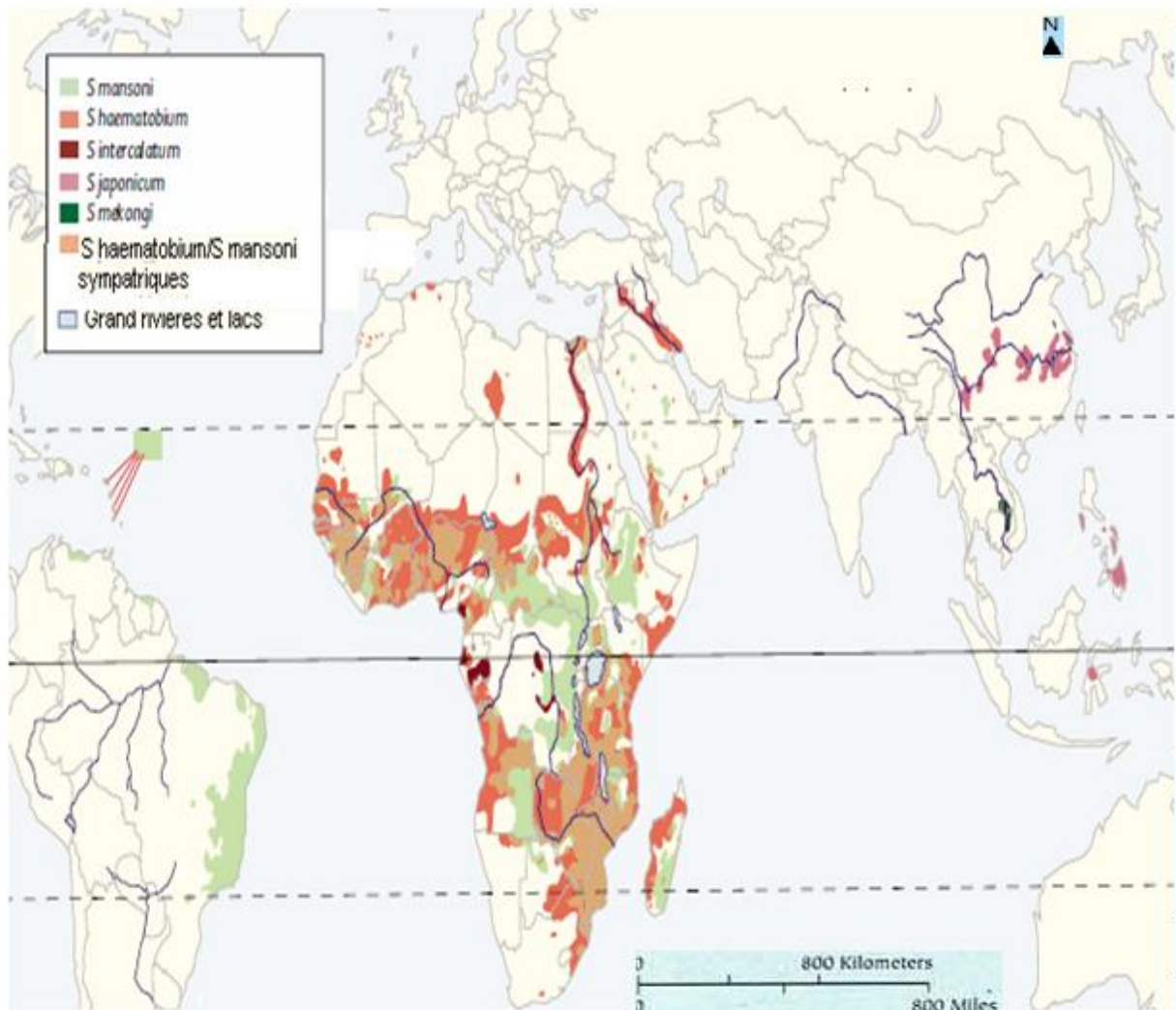


Figure 1 : Carte de la répartition des espèces des schistosomes (Chitsulo *et al.*, 2004)

Autrefois, l'infestation à *S. japonicum* sévissait chez l'homme dans 6 pays, aujourd'hui cette maladie n'intéresse plus que la Chine l'Indonésie et les philippines (Figure 2).

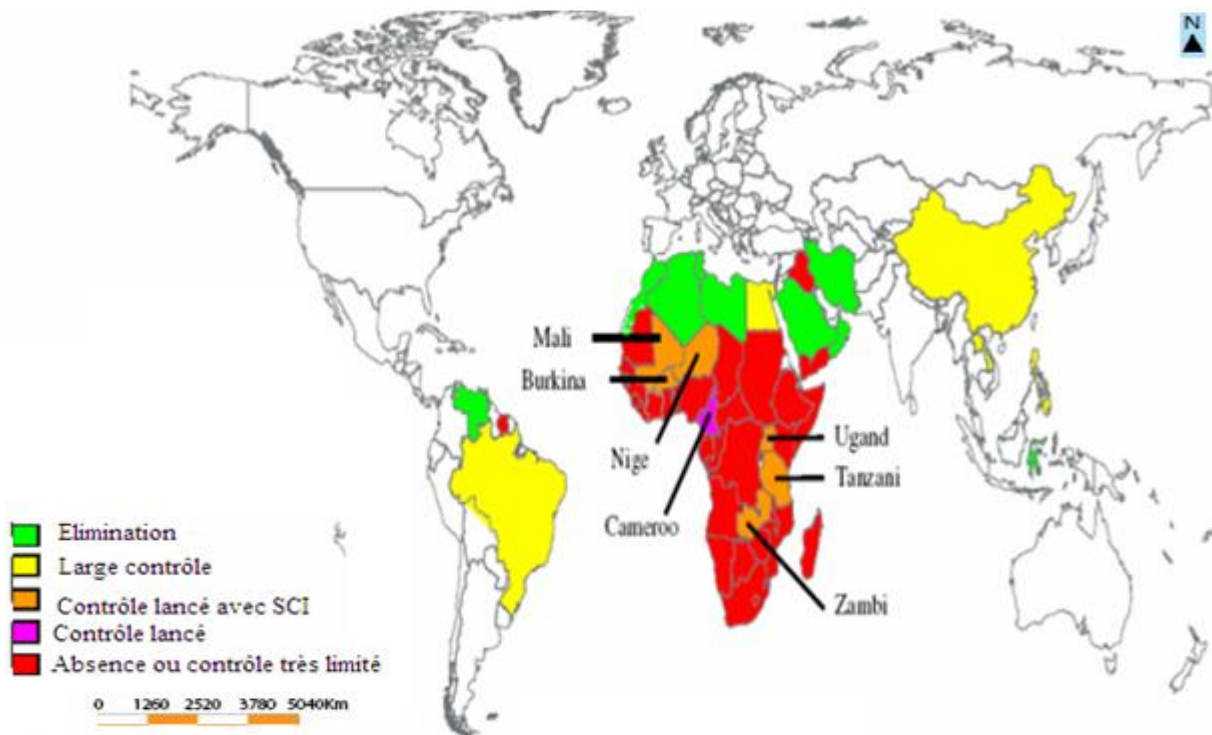


Figure 2 : Situation globale du contrôle de la bilharziose dans le monde en 2005 (Fenwick *et al.*, 2006)

L'infestation par *S. mekongi*, espèce proche de *S. japonicum* a été observée dans deux pays de l'Asie de Sud Est. L'espèce *S. haematobium* est endémique dans 52 pays d'Afrique et de la Méditerranée orientale, et a été récemment observée à Sao Tomé. L'infestation à *S. mansoni* existe dans 53 pays, allant de la Péninsule Arabique jusqu'au Brésil, au Suriname, au Venezuela et à certaines îles des Caraïbes. Aujourd'hui, elle est connue à Oman et au Niger.

I.3. Cycle biologique

1.3.1. Parasite

1.3.1. 1. Taxonomie

Les schistosomes appartiennent à l'embranchement des Plathelminthes, à la classe des Trématodes, à l'ordre des Strigeatida, à la famille des Schistosomatidés caractérisée par des cercaires libres (Mazeufouo *et al.*, 2011).

Le consensus sur la systématique des Schistosomatidae repose sur la présence d'un canal gynécophore chez le mâle, dans lequel vient se loger la femelle ; il est bien développé (Schistosomatinae) ou réduit voire absent (Bilharziellinae, Gigantobilharziinae) (Khalil *et al.*, 2002). Le genre *Schistosoma* est para-phylétique et l'étude de son évolution demeure un grand débat et sujet de recherche.

Les approches moléculaires et génétiques ont permis d'élucider les mouvements historiques de ces parasites de l'Asie vers l'Afrique, suite à la migration des vecteurs et réservoirs définitifs. La spéciation et la diversification des vers ont engendré six groupes monophylétiques et 23 espèces, dont seulement huit sont douées d'affinité anthropophile (Figure 3) : *S. haematobium*, *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. intercalatum*, *S. mekongi*, *S. malayensis*, *S. mattheei* et *S. guineensis* (Lawton, 2011).

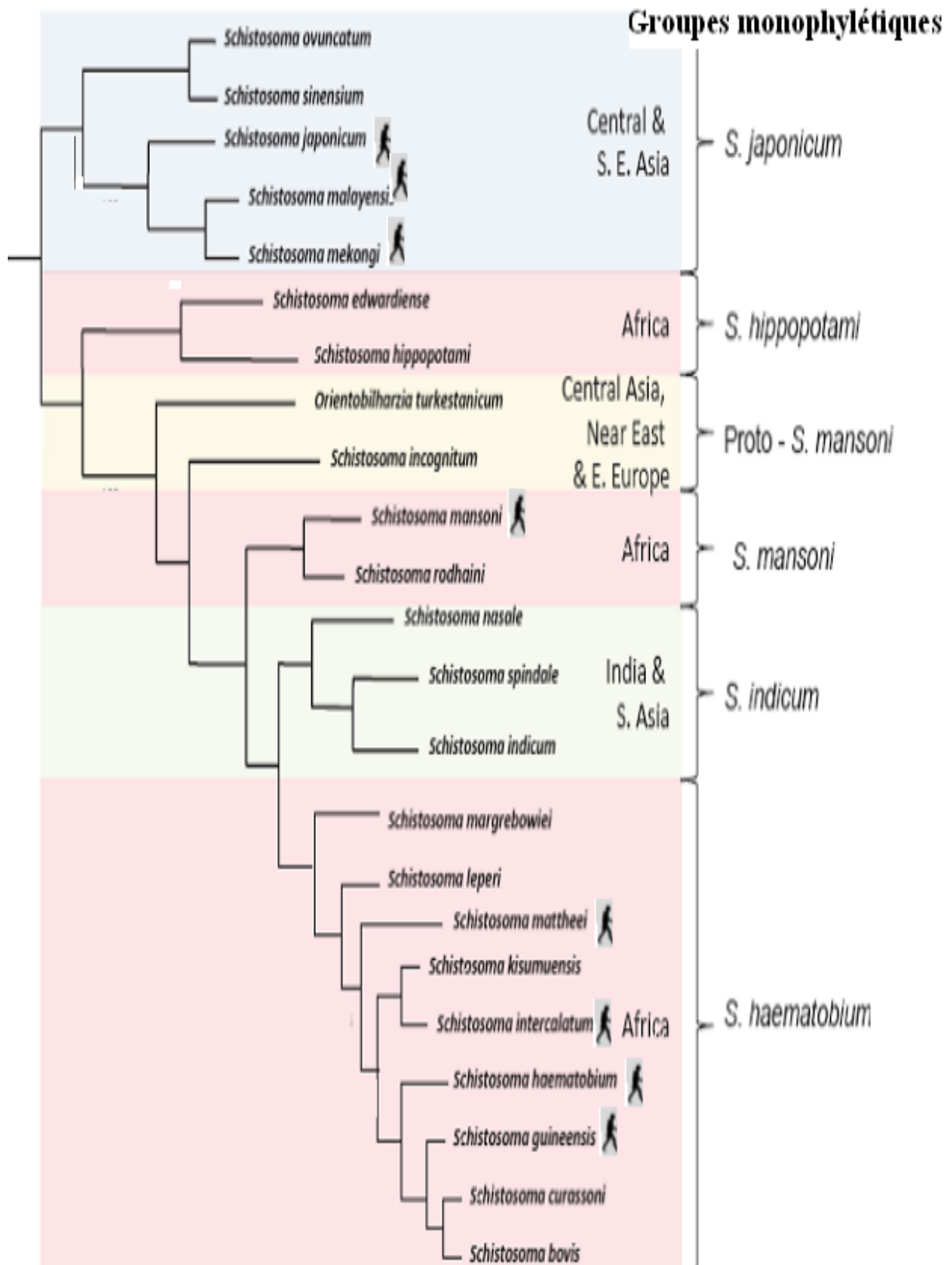



Figure 3: Arbre phylogénétique schématique des espèces des schistosomes (Webster *et al.*,

2006; Lawton, 2011). : Homme, SE: Sud Est, E: Est, S. *Schistosoma*.

1.3.1. 2. Morphologie

Le schistosome passe par plusieurs stades de développement : ver, œuf, miracidium, schistosomule, sporocyste, et cercaire (Figure 4).

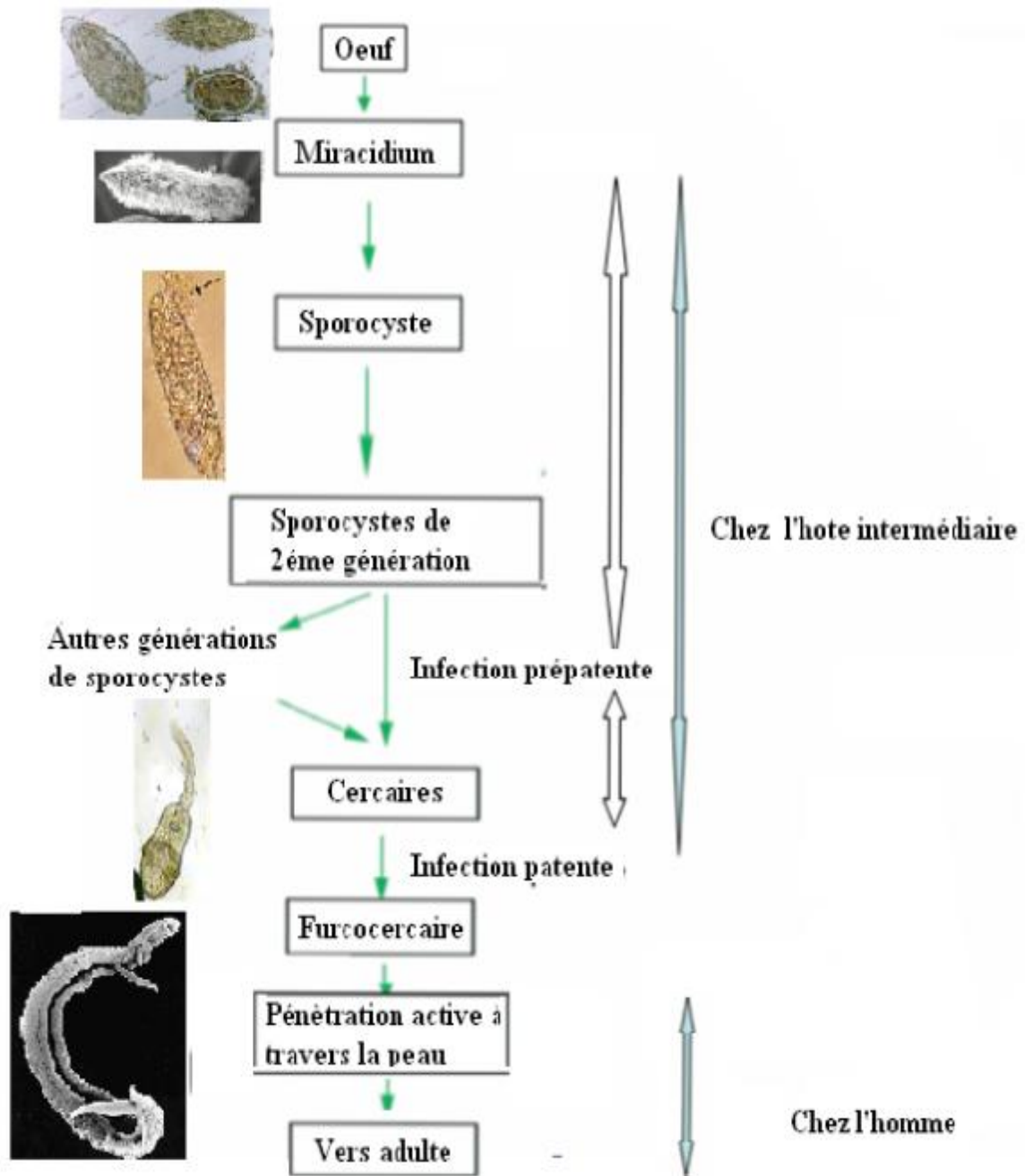


Figure 4 : Différents stades de développement de *Schistosoma* (Dreyfuss *et al.*, 2011).

Ver : le ver mâle mesure 6 à 20 mm de long suivant l'espèce. Il est cylindrique au niveau de son tiers antérieur qui porte 2 ventouses ; le reste du corps est aplati et les bords latéraux se replient ventralement pour délimiter le canal gynécophore où se loge la femelle. Les téguments sont couverts d'épines ou de tubercules. La femelle mesure 7 à 20 mm de long ; elle est cylindrique, filiforme, plus longue que le ver mâle de la même espèce et sa surface est lisse. Il existe, dans les deux sexes, une ventouse orale située à l'extrémité antérieure du corps qui s'ouvre dans l'œsophage et une ventouse ventrale, organe de fixation (Gentilini *et al.*, 2000). Les organes génitaux mâles et femelles sont situés face à face et permettent ainsi une copulation quasi permanente (Figure 5) (Gentilini *et al.*, 1993).

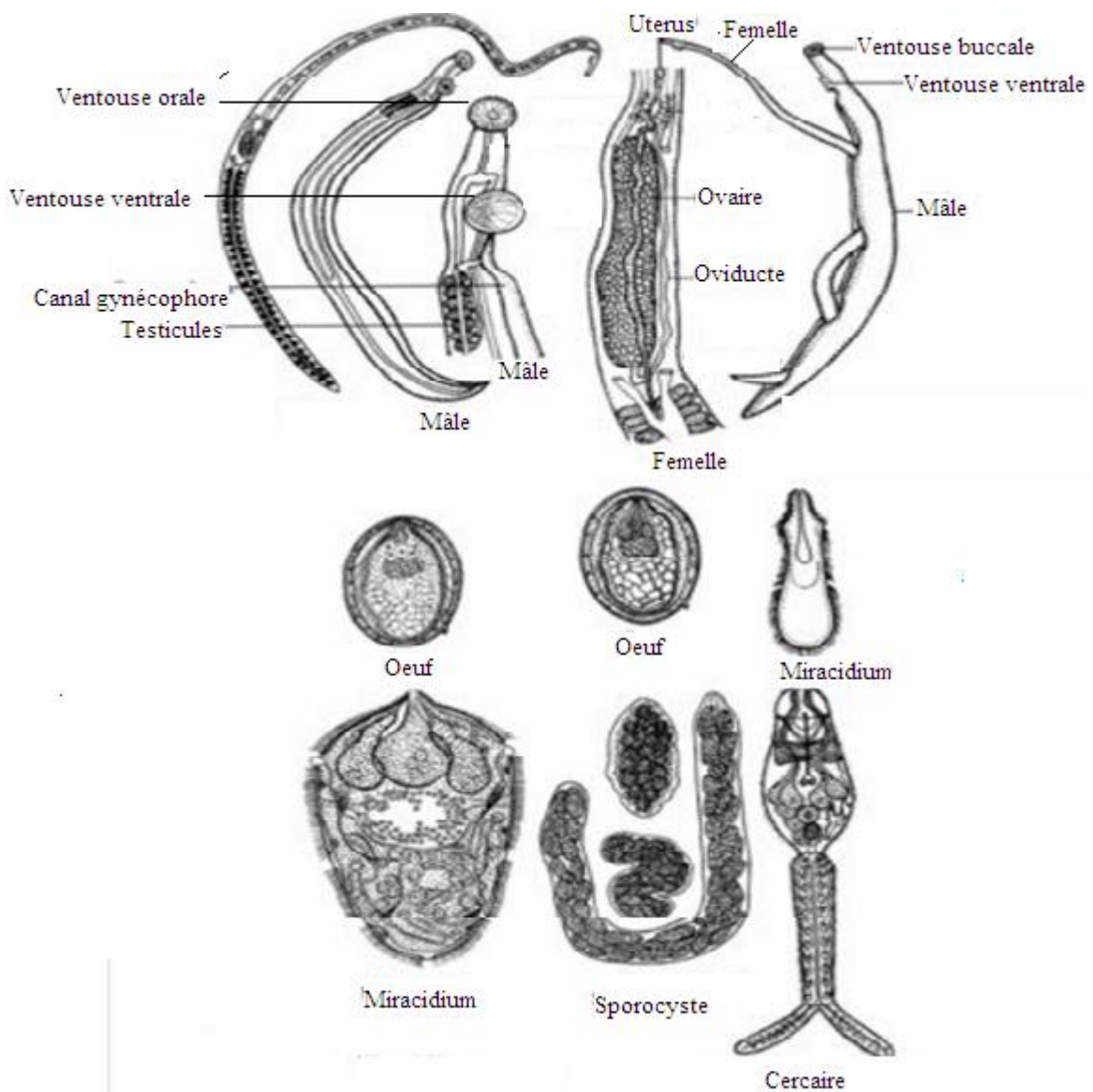


Figure 5. Stade de développement de *S. japonicum* (Preclinical Medical college de Chine, 2009)

Œufs : morphologiquement, les huit espèces de schistosomes peuvent être divisées en 2 groupes : (a) les schistosomes à œuf à éperon terminal du groupe de *S. haematobium*, à l'exception de *S. margrebowiei*, (b) les schistosomes à œuf à éperon latéral, du groupe de *S. mansoni* et *S. japonicum* (Figure 6) (Loker *et al.*, 1983; Mahmoud, 2001).

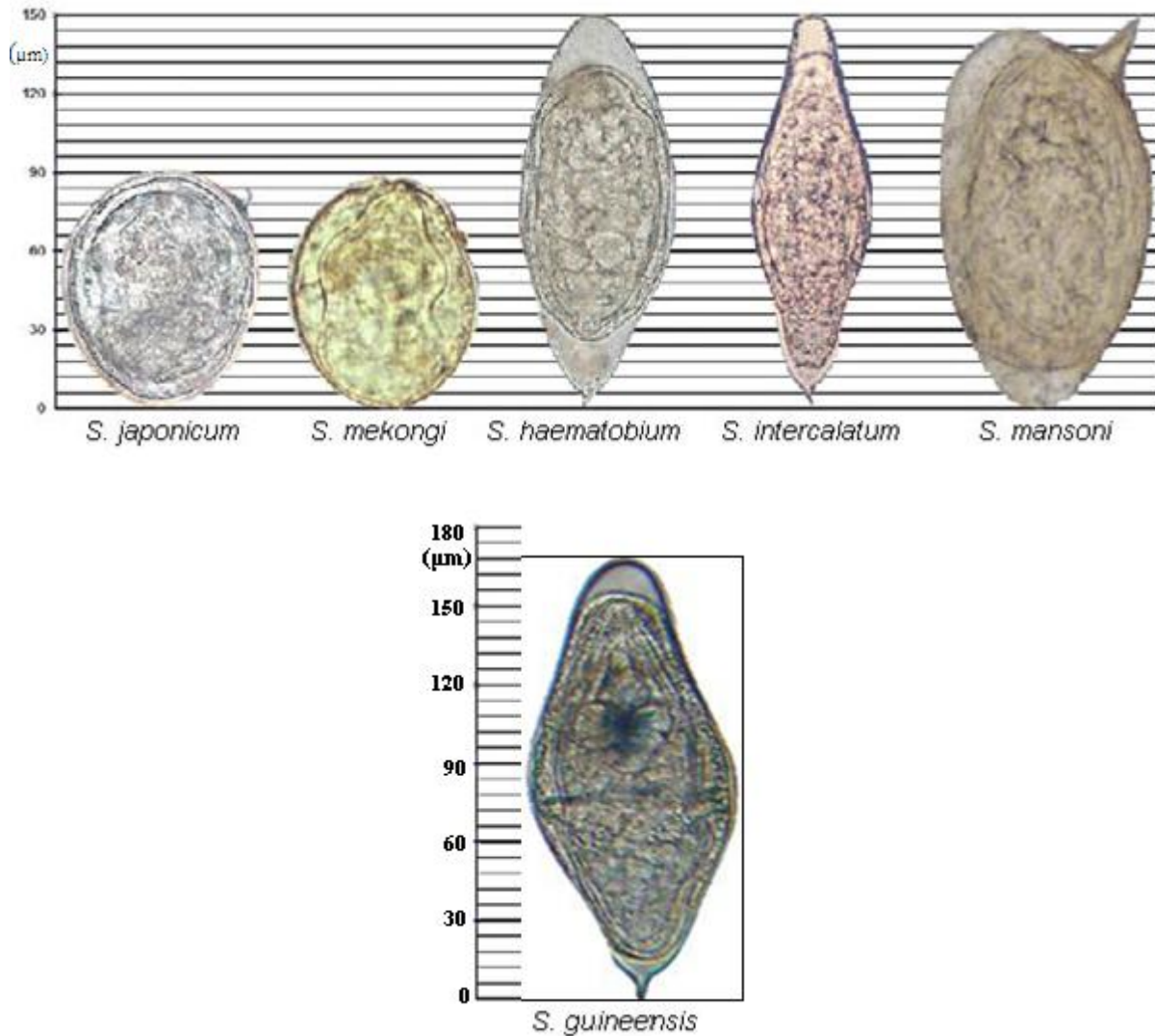


Figure 6 : Œufs des schistosomes (Moné *et al.*, 2012)

Miracidium : c'est la larve ciliée, à cuticule mince, libérée de l'œuf. Elle est de forme allongée, avec une longueur de 150 à 200 μm. Les cils sont insérés sur des plaques épidermiques bien délimitées, réparties en rangées (Figure 5). Le miracidium présente, dans sa région antérieure, deux glandes de pénétration (Dieng, 1999).

Sporocyste : le miracidium qui pénètre à l'intérieur du mollusque se transforme en sporocyste primaire (SP 1) qui s'individualise parfaitement à partir du cinquième jour post-infestation (Figure 5). La forme du SP 1 dépendrait de l'endroit où il se trouve dans le mollusque :

- le SP 1 tentaculaire ou péri-oculaire a la forme d'un sac très allongé et sinueux ;
- le SP 1 rénal ou palléal apparaît plus massif que le précédent. La seule fonction du SP 1 connue jusqu'ici semble être la production de sporocystes secondaires (SP II). Le SP II est d'abord relié à la paroi interne du SP I, puis il s'en détache pour devenir libre. A l'état jeune, le SP II est de forme allongée avec quelques étranglements sur le corps. Lorsqu'il devient plus âgé, sa forme est plus complexe avec notamment de nombreux bourgeonnements. Les SP II migrent vers l'hépatopancréas du mollusque où, certains entrent directement dans une phase de cercariogénèse, tandis que d'autres, à différents moments et sous l'influence de divers facteurs, subissent une reconversion et deviennent sporocystogènes. Ainsi, à partir d'un seul miracidium, on arrive à la production de plusieurs milliers de cercaires.

Cercaire : c'est une larve qui comprend essentiellement deux parties : le corps cercarien et l'appendice caudal terminé en forme de fourche. La cercaire a le corps recouvert d'un tégument épineux ; elle est de forme ovale et mesure de 250 à 450 μm de long pour 40 à 60 μm de large (Figure 5). La caractéristique majeure de ce stade est l'existence de glandes acétabulaires, situées en position antérieure, destinées à lyser les tissus de l'hôte (Dieng, 1999).

1.3.1. 3. Biologie

Les études monumentales de : Forsythe à Zanzibar, Ongon et Bradley dans la région du West Nile en Ouganda, Warren au Kenya, en Égypte, aux Phillipines et en Chine, et Kloetzel au Brésil, ont établi les bases de la dynamique des populations des schistosomes chez l'homme et les mollusques hôtes intermédiaires (Mahmoud, 2001). Ils ont montré que les vers adultes ne sont pas distribués aléatoirement chez leur hôte humain, mais en agrégation, limités aux segments infectés des individus. L'étude de l'étiologie des espèces des schistosomes est indispensable dans l'orientation des stratégies de contrôle. La différenciation entre les schistosomes du même groupe se base sur des critères morphologiques, anatomiques et biologiques décrits dans les tableaux 1 et 2 (Mahmoud, 2001).

Tableau 1 : Caractéristiques des principales espèces des schistosomes humains à œufs à éperon latéral (Mahmoud, 2001)

Schistosomes humaines à œuf à éperon latéral			
Espèces	<i>S. japonicum</i>	<i>S. mekongi</i>	<i>S. mansoni</i>
Ver adulte	Veines mésentériques sup Moyenne		Veines mésentériques inf. Très longue
Localisation chez l'hôte			
Longueur des caecums intestinaux postérieurs			
Mâle			
Longueur (mm)	10-20	15	6-13
Largeur (mm)	0,55	0,41	1,10
Nombre des testicules	6-7	6-7	4-13 (6-9)
Tubercules	Absents	Absents ?	Grossiers
Femelle			
Longueur (mm)	20-30	12	10-20
Largeur (mm)	0,3	0,23	0,16
Position de l'ovaire	Milieu	Tiers postérieur	Tiers frontal
Utérus			
Position	Moitié frontale	Moitié frontale	Moitié frontale
Longueur	Court	Court	Très court
Nombre d'œufs	50-200	10+	1-2
Œufs/femelle/jour/voie	3500/ intestin grêle	?/ intestin grêle	100-300/ côlon
Œufs matures			
Passage normale dans:	Selle	Selle	Selle
Forme (taille (µm))	Ronde (60 x100)	Ronde (57 x 66)	Ovoïde (61 x 140)
Épine	Latérale réduite	Latérale réduite	Latérale proéminente
Coque	Incolore		Incolore ou jaunâtre
Coloration <i>Ziehl-Neelsen</i>	Positive	?	Positive
Manifestation clinique	Artério-veineuse	Hépto- intestinale	Hépto-intestinale
Importance dans la santé publique	Grande	Modérée	Grande

Tableau 2: Caractéristiques des principales espèces des schistosomes humains à œuf à éperon terminal (Pitchford *et al.*, 1965 (a), Hira *et al.*, 1975 (b), Chandiwana *et al.*, 1987 (c), Mahmoud, 2001)

Schistosomes humaines à œufs à éperons terminal			
Espèces	<i>S. haematobium</i>	<i>S. intercalatum</i> / <i>S. guineensis</i>	<i>S. mattheei</i> (a, b)
Ver adulte			
Localisation chez l'hôte	Plexus veineux uro-génital	Plexus veineux péri-rectal	Veines mésentériques
Longueur des caecums intestinaux postérieurs	Courte	Courte	—
Mâle			
Longueur (mm)	10-15	11-14	
Largeur (mm)	0.9	0.3-0.4	—
Nombre de testicules	4-5	2-7 (4-5)	
Tubercules	Fins	Fins	
Femelle			
Longueur (mm)	16-26	10-14	
Largeur (mm)	0.25	0.15-0.18	
Position de l'ovaire	Moitié postérieure	Moitié postérieure.	—
Utérus			
Position	Deux tiers frontales	Deux tiers frontales	
Longueur	Long	Long	
Nombre des œufs	10-50	5-60	786 (a)
Œufs/femelle/jour/voie	20-300/ vessie	150-400/ rectum	
Œufs matures			
Passage normale dans:	Urine	Selle et urine	Selle et urine
Forme (taille (µm))	Ovoïde (62x150)	Ovoïde (61x176)	(144.5x48.3)
Épine	Terminale	Terminale proéminente	
Coque	proéminente Transparente	Jaune clair	
Coloration <i>Ziehl-Neelsen</i>	Négative	Positive	Négative (b)
Manifestation clinique	Uro-génitale	Rectale	Hépatointestinale
Importance dans la santé publique	Grande	Faible Zaire Gabon.	Faible Zambie, Rhodésie, Zimbabwe 1987 (c)

1.3.2. Hôtes intermédiaires

Parmi les nombreuses espèces de mollusques qui peuplent les milieux dulçaquicoles, un certain nombre de gastéropodes jouent un rôle déterminant dans le cycle de développement des schistosomes. Ils tiennent la place d'hôtes intermédiaires des schistosomes, en assurant la multiplication larvaire asexuée de ces parasites grâce à un phénomène de polyembryonie très actif.

L'identification de la faune malacologique et la connaissance du comportement des espèces est une nécessité pour assurer le contrôle efficace des bilharzioses puisque une prévalence parasitaire très faible (1 %) chez les mollusques suffit à maintenir l'endémicité d'une parasitose dans un foyer (Dreyfuss *et al.*, 2011)

1.3.2.1. Taxonomie et morphologie

Les mollusques d'intérêt médical et vétérinaire sont protégés par une coquille dont la morphologie sert encore de base pour la spéciation. La classe des Gastéropodes comporte deux sous-classes incluant les espèces hôtes intermédiaires de la bilharziose :

– Pulmonés, caractérisée par l'hermaphrodisme et l'absence d'opercule et de branchie. Ils respirent par une chambre pulmonaire, ce qui leur impose un contact fréquent avec l'air atmosphérique. Ils sont sensibles au dessèchement. La coquille, la forme des dents (radula), et la morphologie de l'appareil génital sert de base pour la spéciation. Seulement, deux familles de la sous-classe des pulmonés regroupent l'ensemble des hôtes intermédiaires : les Planorbidae et les Bulinidae.

– Prosobranches, caractérisée par une respiration branchiale, dont la coquille est souvent fermée par un opercule. Ils résistent assez bien à la dessiccation du milieu ou au transport passif. Les hôtes intermédiaires des schistosomes humaines sont regroupés dans la famille des Hydrobioidea (Lévêque *et al.*, 1980; Dreyfuss *et al.*, 2011).

1.3.2.1.1. Famille de Bulinidae

Les gastéropodes de la famille des Bulinidae sont caractérisés par une coquille non discoïde à enroulement senestre. La prostate est un organe compact (Lévêque *et al.*, 1980)

Le genre *Bulinus*, regroupe la majorité des hôtes intermédiaires de *S. haematobium*, *S. intercalatum*, *S. matthei* et *S. guineensis*. Il est caractérisé par une coquille ovale ou turrulée (Figure 7), plus haute que large, parfois presque cylindrique (groupes *africanus* et *truncatus*), ou plus haute (groupe *forskalii*).

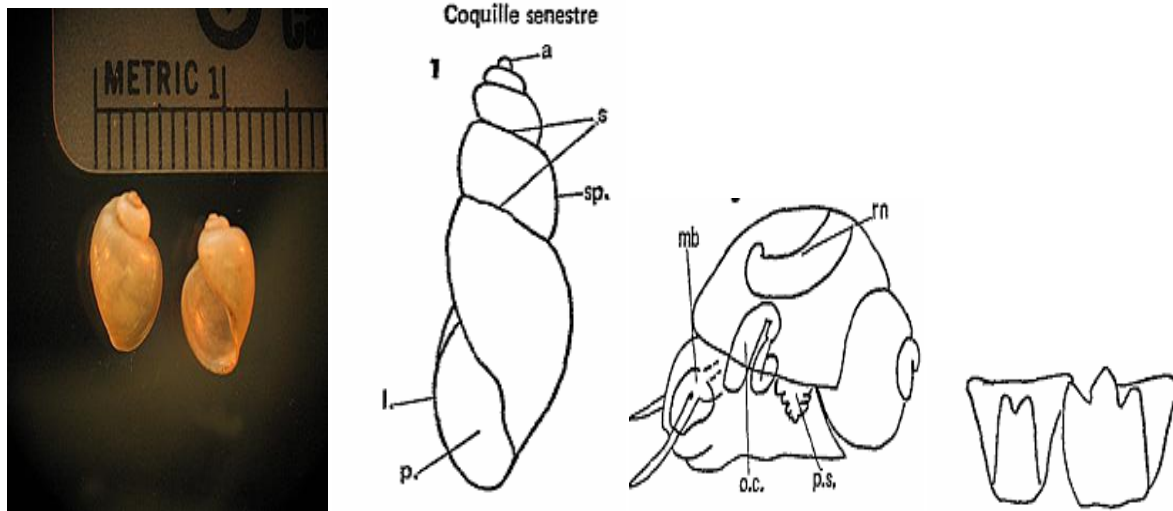


Figure 7 : Morphologie et anatomie de *B. truncatus* (Lévêque *et al.*, 1980)
B. truncatus. (1) coquille sénestre. a:apex; s:suture; sp: spire; p:péristome; l: lèvre. (2) Disposition des principaux organes. mb: masse buccale; oc: organe copulateur; ps: pseudo-branchie; rn: rein (3) dent centrale et dent latérale.

La taille dépend de l'âge du mollusque. L'enroulement des spires se fait vers la gauche (coquille dite sénestre) avec l'ouverture située à gauche du grand axe vertical. La couleur varie du blanc au brun foncé (Lévêque *et al.*, 1980; Farandel, 2001). Les bulins ont une pseudo-branchie plissée et un organe copulateur qui est complètement introversé au repos. Ce genre comprend 37 espèces de petits escargots dulçaquicoles réparties en 5 groupes (*africanus*, *truncatus*, *tropicus*, *forskalii* et *reticulatus*). Dans la région méditerranéenne, *S. haematobium* est transmis par *B. truncatus* dont la radula est composée d'une dent centrale et une dent latérale. *B. forskalii* est reporté comme hôte intermédiaire de *S. haematobium* au Niger (Labbo *et al.*, 2007), *S. bovis* en Afrique Ouest, et *S. intercalatum* en Afrique Centrale. *S. intercalatum*, est transmis naturellement par *B. globosus* (Morelet, 1866). *B. cristallinus* jouerait un rôle dans la transmission de ce parasite dans la région de Gamba au Gabon. Le groupe de *B. forskalii* est l'hôte intermédiaire de *S. guineensis spp* à l'île de São Tomé (Murinello *et al.*, 2006).

1.3.2.1.2. Famille de Planorbidae

Les gastéropodes de la famille des Planorbidae sont caractérisés par une coquille discoïde aplatie et prostrate formée de plusieurs diverticules le long du canal prostaticue.

Le genre *Biomphalaria* regroupe l'ensemble des hôtes intermédiaires de *S. mansoni* (Synonyme « Planorbes », « tropicorbis », « Australorbis »). Ils sont caractérisés par une radula composée de dent centrale, dent latérale et dent marginale et un appareil génital composé d'une glande génitale hermaphrodite, canal spermatique, oviducte et glande de l'albumine (Figure 8).

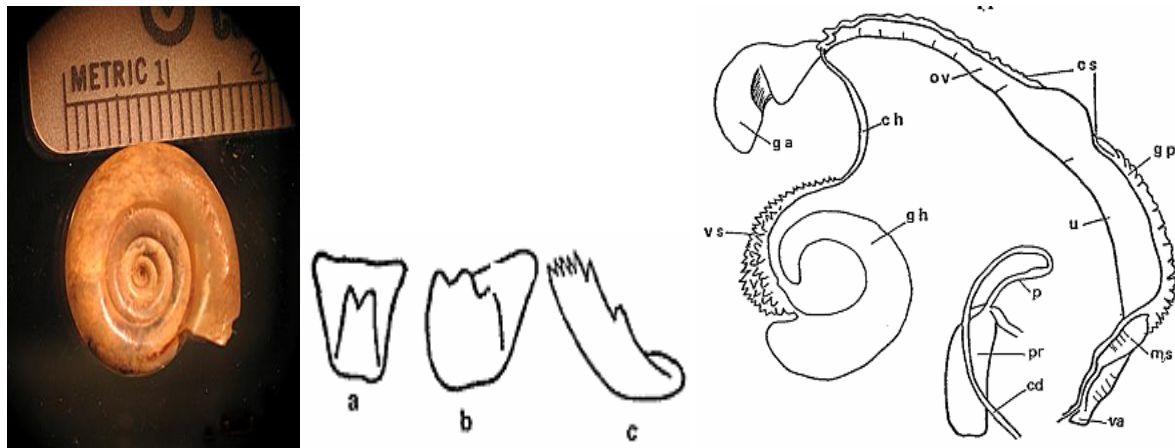


Figure 8: Morphologie et anatomie de *Biomphalaria pfeifferi* (Lévêque *et al.*, 1980).

(1) Radula. a: dent centrale; b: dent latérale; c: dent marginale (2) Appareil génital. cd: canal déférent; ch: canal hermaphrodite; cs: canal spermatique; ga: glande de l'albumine; gh: glande hermaphrodite; gp: glande prostaticue; ov: oviducte; p: fourreau du pénis; pr: prépuce; rs: réceptacle seminal; U: utérus; va: vagin; vs: vésicule seminale

Les espèces *Biomphalaria pfeifferi* et *Biomphalaria sudanica* sont impliquées dans la transmission des schistosomes en Afrique de l'Ouest. Ils ont une coquille discoïde ou en forme de lentille, un pseudo branchie présentant un lobe simple, une glande prostaticue constituée par une série de tubes glandulaires le long du conduit spermatique et un organe copulateur qui n'est pas complètement introversé quand il est au repos. Le genre *Biomphalaria* est représenté en Amérique par quelques 20 espèces, dont 15 ont été nettement définies par des critères d'Hydrobioidea morphologiques. Seules les espèces *Biomphalaria*

glabrata, *Biomphalaria Straminea*, et *Biomphalaria Tenagophila* se sont révélées naturellement infectées par *S. mansoni*.

Le genre *Planorbarius* (*P*), espèce *Planorbarius metidjensis* (*P*), est considéré comme un hôte intermédiaire probable du schistosome, dans les régions à haute altitude au Maroc, par certains auteurs (Gaud *et al.*, 1958 ; Zekhnini *et al.*, 2002), sans que ça soit confirmé par l'OMS (Barkia *et al.*, 2013).

1.3.2.1.3. Famille de Hydrobioidea

La famille de Pomatiopsidae regroupe deux sous familles :

– Pomatiopsina qui inclut le genre *Oncomelania*, responsable de la transmission de *S. japonicum*. Ce sont des petits mollusques allongés, amphibies, operculés, à sexes séparés dans lesquels l'évolution larvaire se fait en trois mois. La coquille est spiralée et tronquée à la pointe (Figure 9). Ils sont présents dans les rizières mal entretenues, dans les cours d'eau lents des canaux d'irrigation.

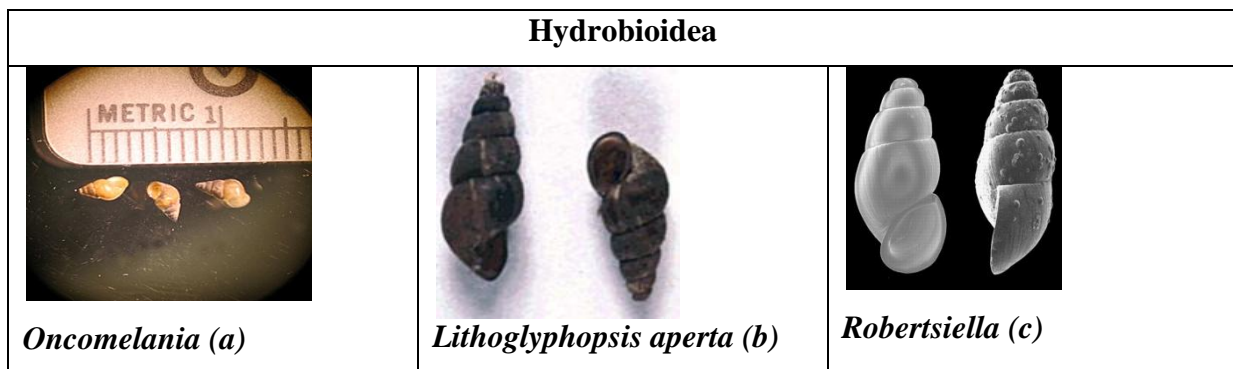


Figure 9 : Morphologie des mollusques de la Famille d'Hydrobioidea, hôtes intermédiaires de la bilharziose. (a) CDC, 2013; (b) Linder *et al.*, 1977; (c) Attwood *et al.*, 2005.

Les principales espèces «vectrices» sont *O. hupensis* en Chine, *O. quadrasi* aux Philippines et *O. nosophora* au Japon. Certaines classifications mettent *Oncomelania* dans la famille de hydrobiidae (Davis *et al.*, 1992, 1995, 2006).

– Triculinae qui regroupe deux genres :

* *Robertsella*, hôte intermédiaire de *S. malaysiensis*, caractérisé par une coquille de petite taille, conique avec des sculptures spiralées (Figure 9). Les principales espèces sont : *R. kaporensis*, *R. silvicola* et *R. gismanni* (Attwood *et al.*, 2005).

Au laboratoire, la clé de détermination des espèces est basée sur la morphologie, l'anatomie, la chromatographie du mucus de la surface du corps, l'étude des chromosomes, l'immuno-diffusion des protéines du muscle et des œufs, l'analyses enzymatiques (marqueurs biochimiques), et l'analyses d'ADN (marqueurs moléculaires) sont actuellement utilisées dans la systématique intra et interspécifiques (Njioko *et al.*, 1992).

* *Lithoglyphopsis* représenté par l'espèce *Lithoglyphopsis apetra* ou *Tricula apetra* ou *Neotricula aperta*, qui transmet *S. mekongi* dans le bassin du Mékong. C'est un mollusque operculé, à coquille dextre, globuleuse (Figure 9), qui vit sur les rochers immergés (Mayaka *et al.*, 2001)

1.3.2.2. Élément de biologie et écologie

Les espèces qui jouent le rôle d'hôte intermédiaire de parasitoses préfèrent en général les eaux tièdes (22 à 28 °C), ombragées, stagnantes ou à courant modéré et à végétation abondante (les cours d'eau, les marigots, les mares, les lacs naturels et artificiels, les barrages de retenue, les étangs ou les réseaux d'irrigation). L'habitat est très polymorphe, ils vivent en général à 20 ou 30 cm de profondeur sur les tiges des plantes, les feuilles mortes ou dans la boue du fond. L'enfouissement de certaines espèces en période sèche permet la reprise d'activité de certains mollusques, au retour de l'eau, tel que *Bulinus* et *Oncomelania* par exemple (Dreyfuss *et al.*, 2011).

Le cycle d'activité annuel et le cycle de reproduction sont conditionnés par le climat. Dans les collections temporaires, Brown (1994) a observé quatre rythmes de reproduction :

- une seule génération pour *G. truncatula* en Éthiopie ;
- deux générations pour *B. truncatus* en région méditerranéenne dans les canaux d'irrigation ;
- trois générations pour *Biomphalaria* et *Bulinus* en Afrique tropicale (contrées à deux saisons des pluies) ;

- plusieurs générations annuelles, de succession rapide, quand l'habitat se maintient de manière permanente (Dreyfuss *et al.*, 2011)

1.3.3. Réservoir

De nombreuses sortes d'animaux hébergent naturellement des espèces de schistosomes, mais leur rôle comme hôtes réservoirs considère les facteurs suivants : aptitude à produire des œufs viables ; nombre d'œufs produits ; taux d'éclosion des œufs produits ; ET infectivité des miracidiums issus des œufs (WHO, 1980).

1.3.3.1. Réservoirs des schistosomes anthropophiles

S. haematobium, *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. intercalatum*, *S. mekongi*, *S. malayensis*, *S. mattheei* et *S. guineensis* sont des espèces dont l'hôte définitif est l'homme.

- **Espèces : *S. japonicum*, *S. malayensis* et *S. mekongi***

S. japonicum a été identifiée chez plus de 40 espèces différentes d'animaux sauvages et domestiques et est une cause sérieuse de la morbidité et la mortalité dans certains d'entre eux, particulièrement chez le bétail et les chèvres. Dans la région du Lac Dongting, dans la province du Hunan en Chine, *S. japonicum* est plus répandue chez les animaux: 60 % de bétail et buffles; 24 % de porcs; 9 % de chiens domestiques. En revanche, seulement 7 % des personnes résidant dans les mêmes régions sont infectés. Néanmoins, les rongeurs sauvages peuvent constituer, dans quelques régions, un agent extrêmement important de diffusion de l'infection à *S. japonicum* et *S. malayensis* en Malaisie. Le chien apparaît être un réservoir de la nouvelle souche de *S. japonicum* découverte dans la région du Mékong, nommée *S. mekongi* (WHO, 1980). La lutte contre ces espèces est délicatement difficile vu la propagation des sources d'infection (Figure 10).

- **Espèces : *S. haematobium*, *S. intercalatum* et *S. guineensis***

En Afrique, ces trois espèces infectent certains animaux, sans que ceux-ci jouent un rôle important dans le maintien du parasite. L'Homme est principalement responsable du maintien de ces infections dans l'environnement par la contamination des eaux douces par les selles et les urines (Figure 10).

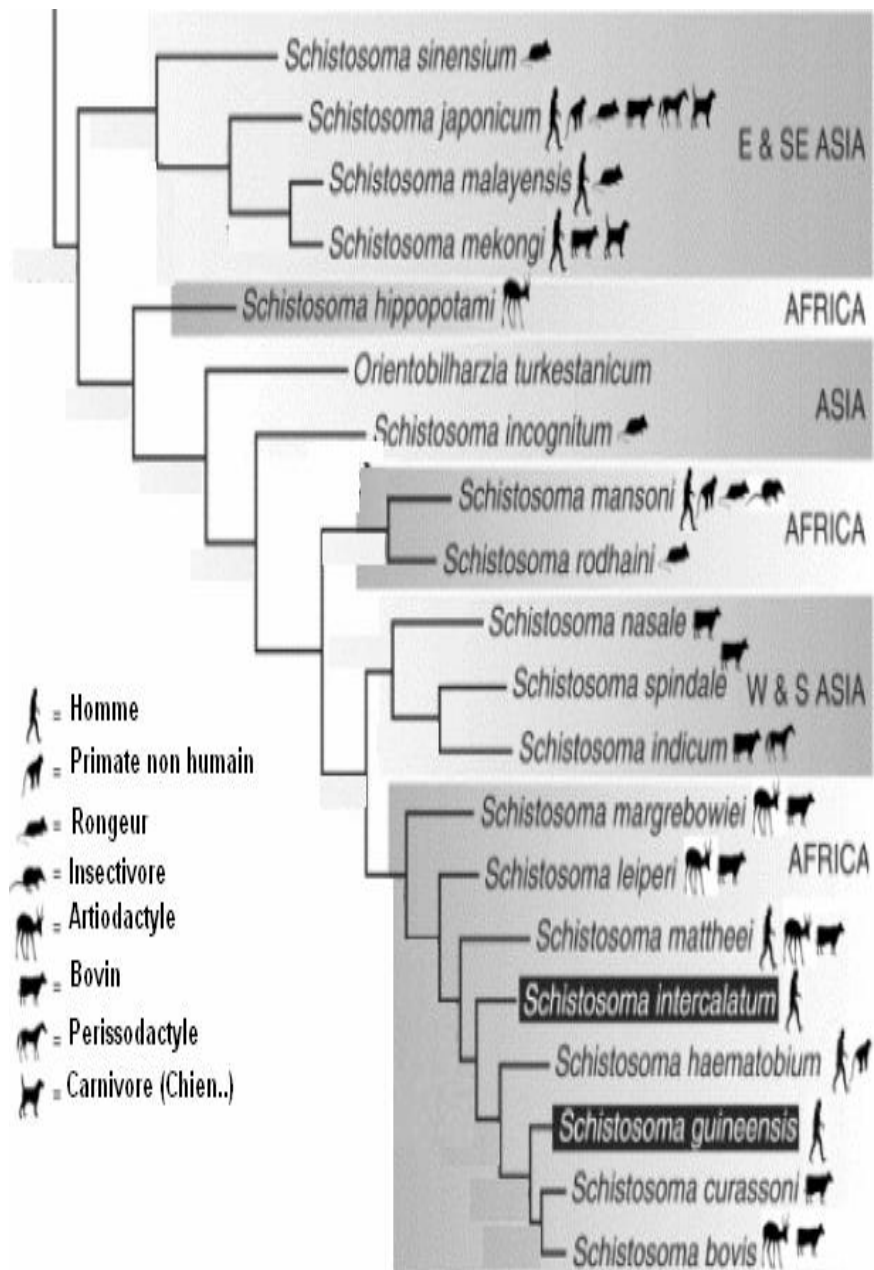


Figure 10 : Hôtes définitifs naturels des schistosomes (Standley *et al.*, 2012)

➤ **Espèce : *S. mansoni***

S. mansoni infecte naturellement les rongeurs, les babouins, les insectivores, les marsupiaux et les bovins. Dans quelques cas, ces animaux ont servi de source d'infection pour les humains.

➤ **Espèce : *S. mattheei***

S. mattheei est un parasite des moutons, bovins, chevaux, zèbres, rongeurs et des animaux sauvages (Standley *et al.*, 2012).

1.3.3.2. Réservoirs des schistosomes hybrides

La relation entre quelques espèces des schistosomes est soulignée par leur habilité de s'hybrider et de produire des œufs fertiles. Chez l'homme, des études récentes ont révélé l'existence d'hybrides naturels entre des espèces de schistosomes du groupe *S. haematobium* en Afrique et le groupe *S. mansoni*. Les réservoirs naturels et expérimentaux des espèces hybrides sont récemment découverts, et sont présentés dans la figure 11 (Webster *et al.*, 2006).

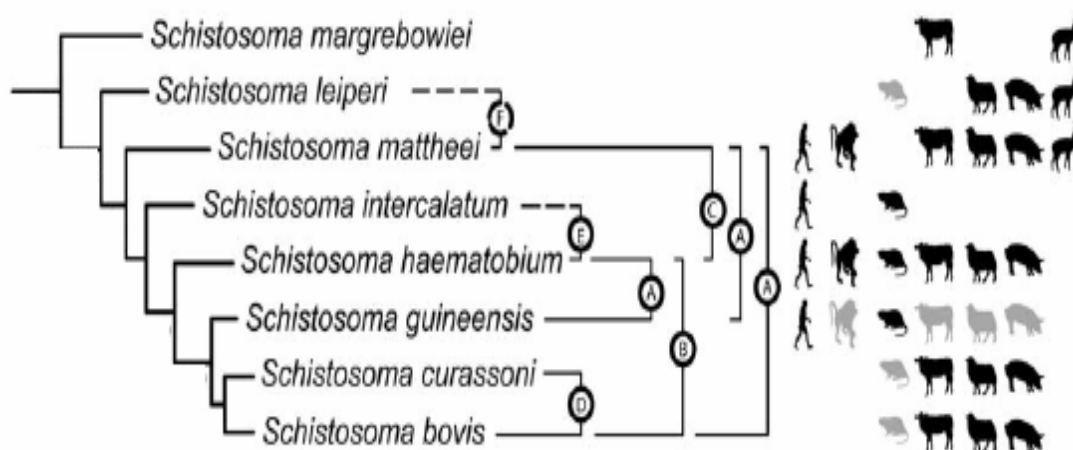


Figure 11 : Hybrides des schistosomes du groupe *haematobium* et leurs réservoirs (Webster *et al.*, 2006)

Réservoirs naturels (en noir) et expérimentales (en gris) : l'Homme, primates, rongeurs, bovins, ovins, antilope et autres animaux.

1.3.4. Transmission

La transmission des schistosomoses implique trois partenaires différents partageant un habitat commun, le milieu aquatique, pendant au moins quelques instants de leur vie.

1.3.4.1. Cycle de transmission

Le cycle de développement des schistosomes est dixène. Il comprend un hôte intermédiaire (mollusque), chez lequel se déroule la phase asexuée de la reproduction du parasite et un hôte définitif chez qui s'opère la partie sexuée de la reproduction du parasite (vertébré) (Figure 12).

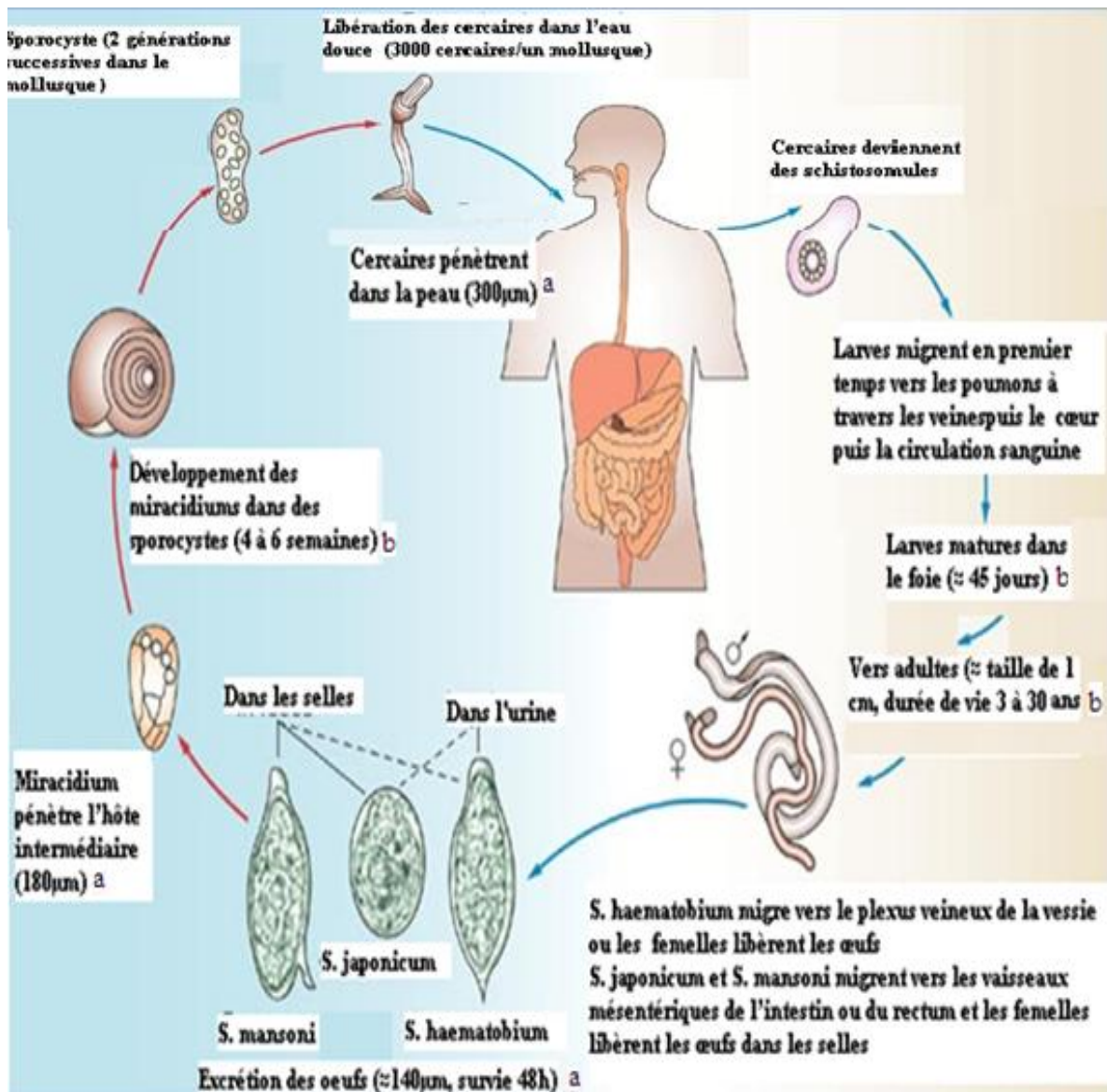


Figure 12 : Cycle de développement des schistosomes. (Charles *et al.* 2009).

(a) Hoffman *et al.*, 2003, (b) Scélo *et al.*, 2005.

L'homme s'infecte par le contact avec l'eau infestée par les furcocercaires. Ces derniers s'attachent à sa peau et lorsque celle-ci sèche, ils pénètrent activement dans l'épiderme grâce aux sécrétions protéolytiques produites par les glandes qu'elles possèdent. A ce moment, ces larves perdent leur queue et seront nommées schistosomules. En une demi-heure, l'épiderme est donc traversé ; les schistosomules migrent dans les tissus sous-cutanés et parviennent dans les veinules et les capillaires lymphatiques qui ouvrent la voie à la grande circulation veineuse et aux poumons, où elles se trouvent temporairement bloquées (3-4 jours) à cause de leur taille. De là, ils vont gagner le foie par la voie sanguine ou par effraction (trajet trans-tissulaire).

La phase migratoire dure au total 10 à 21 jours. Ces schistosomules qui atteignent les veinules, portes intra-hépatiques, vont pouvoir poursuivre leur développement jusqu'à la différenciation, la maturité sexuelle (en 3 semaines environ) et l'accouplement. Dans les veinules portes intra-hépatiques, les vers adultes accouplés se déplacent à contre courant vers les lieux de ponte (plexus péri-vésical ou plexus hémorroïdal). Arrivée dans les veinules des plexus, la femelle quitte le mâle pour s'engager dans les fines ramifications veineuses des parois vésicales ou intestinales, et remonter jusqu'à la sous-muqueuse où elle commence sa ponte. La femelle dépose ses œufs dans une veinule distendue : ils y restent emprisonnés lorsque la femelle se retire. Ces œufs percent, à l'aide d'enzymes lytiques, la paroi veineuse et les tissus péri vasculaires, puis passent activement dans les tissus de la paroi intestinale ou urétéro-vésicale (Figure 12), selon les espèces, pour atteindre la lumière intestinale ou la cavité vésicale, et être disséminés dans la nature avec les selles ou les urines 1 à 3 mois après l'infestation. La durée de vie de schistosomes chez l'homme a été estimée de 2 à 18 ans ; voire jusqu'à 20 ou 30 ans selon l'espèce schistosomiennes (Wilkins *et al.*, 1987, Mayaka, 2001; Charles *et al.*, 2009, Dreyfuss *et al.*, 2011). Une personne infectée peut héberger 10 à 1 000 vers (Gryseels *et al.*, 1996).

1.3.4.2. Facteurs d'évaluation

La transmission est évaluée par la prévalence, l'intensité et l'incidence des infections humaines :

Incidence (ou le taux d'incidence) : nombre de nouveaux cas d'une maladie qui apparaissent dans une population au cours d'une période donnée.

Prévalence : nombre de cas d'une affection, à un moment donné, rapporté à un chiffre donné de population, sans distinction entre les cas nouveaux et les cas anciens (Dieng, 1999). Selon l'OMS, ces paramètres épidémiologiques sont conventionnellement obtenus par des méthodes parasitologiques en détectant les œufs dans les selles et les urines (Tableau 3)

Tableau 3 : Intensité de la bilharziose en fonction du nombre d'œufs excrétés (WHO, 2013a).

Parasite	Faible intensité de l'infection	Moyenne intensité de l'infection	Forte intensité de l'infection
<i>S. mansoni</i>	1-99 œufs	100-399 œufs	400 œufs
<i>S. haematobium</i>	Inférieur de 50 œufs/10 ml	-----	50 œufs/ 10 ml

1.3.4.3. Facteurs de risque

La transmission est favorisée par plusieurs facteurs :

- **Géographique** : nombre d'études ont montré que la prévalence, l'intensité et l'incidence des infections humaines diminuent avec la distance du site de transmission connu (Sturrock *et al.*, 1983; Jordan *et al.*, 1983).
- **Degré d'exposition** : il y a une grande corrélation entre le degré d'exposition à l'eau (nage, lessive des vêtements, agriculture etc) et l'intensité de l'infection. Ainsi l'infestation à *S. haematobium* présente un pic d'intensité et de prévalence aux alentours de l'adolescence, puis décline par la suite (Dennis *et al.*, 1983; Traoré *et al.*, 1990; Shimada *et al.*, 1994). Pour *S. mansoni*, les sujets les plus lourdement parasités se retrouvent dans la tranche d'âge 10 - 24 ans (Chandour *et al.*, 1991; Eltoum *et al.*, 1993).
- **Sites de transmission** : la schistosomose à *S. mansoni* (intestinale) se transmet en général beaucoup plus dans les zones humides, tandis que celle causée par *S. haematobium* (urinaire) se rencontre en général en zones de savanes.

- **Chronobiologie de l'émission cercarienne** : les espèces infestant le bétail (*S. bovis*, *S. curassoni*...) ont un pic d'émission précoce (aux environs de neuf heures) à l'heure où le bétail est en train de s'abreuver, tandis que celles parasitant l'homme ont un pic d'émission plus tardif (vers onze heures) à l'heure où les travailleurs sont aux champs.
- **Comportements des hommes** : les regroupements spontanés des populations autour des points d'eau, les mouvements migratoires et l'absence d'hygiène.

1.4. Relation entre les schistosomes et leurs hôtes

La spécificité des schistosomes aux hôtes et la compatibilité des hôtes aux schistosomes est développée durant leur long processus d'évolution, et est formellement liées aux conditions environnementales et héréditaires. Le non adaptabilité entre les schistosomes et leurs hôtes est dû aux facteurs génétiques, immunologiques, cytobiologiques, moléculaires et physiologique (cheng *et al.*, 2013).

Le mucus des mollusques, riche en acides gras de faible poids moléculaire et en acides aminés, joue un rôle attractif non spécifique sur les miracidiums présents dans l'eau. Néanmoins, la majorité des espèces de schistosomes ont une spécificité assez étroite pour les espèces de mollusques hôtes (Dreyfuss *et al.*, 2011), contrairement à ce qui est observé avec l'hôte définitif vertébré où le spectre est plus large (Dieng, 1999).

1.4.1. Hôte intermédiaire

L'étude des relations entre les espèces de schistosomes et les mollusques hôtes intermédiaires fait apparaître des différences importantes en ce qui concerne le taux et la durée de l'infestation, la production de cercaires et la mortalité des mollusques. Ces différences s'expliquent, d'une part, par l'inégale sensibilité des espèces de mollusques (susceptibilité), et de l'autre part le pouvoir infestant du parasite (infectivité).

1.4.1.1. Infestation

L'infestation du mollusque par le miracidium est sous la dépendance d'un certain nombre de facteurs dont les principaux sont :

- la compatibilité génétique entre le miracidium et son gastéropode hôte (Preston *et al.*, 1994; Jourdan *et al.*, 1982) ;
- l'ancienneté du développement parasitaire chez le mollusque : les infections plus anciennes (présence de larves infectantes dans les tissus du mollusque) jouent un rôle de facilitation de la réinfection, mise en évidence par la concentration des parasites sur un faible nombre de mollusques ;
- la densité miracidiale associée qui est proportionnelle à la probabilité de rencontre du mollusque hôte intermédiaire et aux conditions climatiques (pluviométrie, en particulier) (Dreyfuss *et al.*, 2011)
- la température : en dessous d'un certain seuil (10 °C pour le genre *Biomphalaria*), l'infestation du mollusque n'est plus possible. La température optimale se situe aux alentours de 25 °C (Dieng, 1999).

La compatibilité du système hôte intermédiaire-parasite est évaluée par le taux de susceptibilité qui est le rapport du nombre de descendants parasités, par le nombre de descendants exposés survivants dans l'infestation expérimentale (Zekhnini *et al.*, 2002).

1.4.1.2. Infection prépatente

L'infection prépatente est la phase d'infection des mollusques par le parasite *Schistosoma*, durant la période de développement de sporocystes, avant l'émission des cercaires infectieuses. En fonction des conditions environnementales et de la susceptibilité du mollusque, la période prépatente peut durer 1 à 2 mois, jusqu'à un an. Cependant seulement, une fraction des mollusques infectés évolue de la phase prépatente à la phase patente émettrice des cercaires (Hambourger *et al.*, 1998; King *et al.*, 2006).

La compatibilité du système hôte intermédiaire-parasite est évaluée par la durée de la période pré-patente. En effet, courte période pré patente est un indice de grande compatibilité du système hôte parasite (Zekhnini *et al.*, 2002).

1.4.1.3. Infection patente

Le rythme d'émission des cercaires est déterminé par le parasite lui-même (Williams *et al.*, 1983). Cette émission de cercaires peut durer toute la vie du mollusque qui est de quelques mois à trois ans. Elle est influencée par certains paramètres tels que :

- la température : qui doit être entre 16 °C et 35 °C (Pfluger *et al.*, 1980) ;
- l'âge du mollusque : la dynamique de la production cercarienne est plus faible en début de production et beaucoup plus importante à la fin chez les mollusques âgés par rapport aux formes juvéniles;
- les mollusques non cibles émettant dans l'eau une substance stimulatrice de l'émission des cercaires (Moné *et al.*, 1984).

1.4.2. Hôte définitif

La gamme d'animaux susceptibles de servir d'hôte définitif aux schistosomes est très variable selon les espèces. Elle va ainsi du très restreint pour *S. haematobium* (anthropophile), au très étendu pour *S. japonicum*.

1.4.2.1. Permissivité

Habituellement, les hôtes définitifs des schistosomes sont classés en fonction de leur permissivité naturelle vis à vis d'une infestation expérimentale. On distingue ainsi:

- hôtes permissifs ou l'infestation aboutit à une population pérenne de vers adultes, et d'assurer la continuité du cycle par l'excrétion d'œufs viables vers le milieu extérieur.
- hôtes non permissifs : l'infestation cercarienne n'aboutit pas à une population détectable de vers adultes; c'est le cas du babouin infesté par *S. bovis* où les vers ne parviennent pas à la maturation complète;

- l'infestation peut décliner au fil du temps après avoir pourtant débutée normalement ; c'est le cas de la combinaison singe rhésus - *S. mansoni*.

1.4.2.2. Compatibilité

La compatibilité peut être influencée par plusieurs facteurs :

- mécanique : barrière cutanée infranchissable ; exemple du singe tamarin infecté par *S. mansoni* (DelPortillo *et al.*, 1986) ;
- métabolique tel que le parasite ne rencontrant pas tous les éléments nécessaires à sa maturation (cas de l'infection de rat de laboratoire par *S. mansoni*, (Maddison *et al.*, 1970) ;
- immunitaires (Cioli *et al.*, 1976) : au laboratoire, selon le mode de stimulation du système immunitaire (infestation, larves atténuées, antigène purifiées) des mécanismes de nature, d'intensité et de site d'action complètement différents peuvent se déclencher.

1.4.2. 3. Étiologie

Les signes cliniques suite à l'infection par *Schistosoma* dépendent largement des facteurs génétiques et immunologiques ; les travaux sont en cours pour élucider cet aspect. Georlitz *et al.* ont montré, par exemple, que le cancer de la vessie causé par *S. haematobium* est favorisé par le tabagisme et le polymorphisme génétique de la quinone oxydoréductase 1 (NQO1) et superoxide dismutase 2 (SOD2), modulateurs de la réaction oxydatives des espèces et responsable de la susceptibilité des patients aux cancers (Goerlitz *et al.*, 2014)

1.5. Immunobiologie

La bilharziose est l'exemple idéal où une forme du parasite est responsable de l'immunité protectrice contre la réinfection (ver adulte), alors qu'une autre forme est responsable de la pathologie (œuf). Après l'exposition aux schistosomes, l'épiderme s'épaissit à cause du grand afflux cellulaire des neutrophiles, macrophages et des cellules dendritiques du derme sous-jacent (Montford *et al.*, 2004). Les cellules dendritiques stimulées par la nature de l'antigène et les médiateurs proinflammatoires ou inflammatoires, migrent vers les organes lymphatiques et induit la polarisation des cellules T naïves à devenir des cellules Th

effectrices. La nature et le degré de la réponse immunitaire sont influencés par le degré d'endémicité du foyer (degré d'exposition aux cercaires, acquisition de l'immunité prénatale ou acquisition de l'immunité protectrice).

1.5.1. Réponse cellulaire Th1 et/ou Th17

La schistosomiase silencieuse, phase entre l'infection par la furcocercaire et l'apparition des œufs dans les selles ou les urines, dure 5 à 6 semaines pour *S. haematobium*, et 10 à 12 semaines pour *S. mansoni*. Durant cette phase, l'hôte est exposé à la migration des parasites immatures (cercaire, schistosomule et ver). Les antigènes des cercaires sont présentés, par les cellules dendritiques et les basophiles, aux cellules lymphocytes T naïves au niveau des organes lymphoïdes, qui subissent une polarisation vers des cellules Th1 et/ou Th17 effectrices (El Ridi *et al.*, 2001 et 2009).

Au niveau du système vasculaire, les antigènes larvaires des schistosomes et les molécules costimulatrices, associés aux cellules endothéliales, induisent les lymphocytes Th1 et Th17 à produire des cytokines pro inflammatoires qui activent les cellules immunitaires (monocytes, les basophiles, les éosinophiles et les neutrophiles). Les cytokines pro-inflammatoires, tels que l'interféron gamma (IFN gamma) et le facteur de nécrose tumorale (TNF), induisent les monocytes et les cellules endothéliales à produire des anions super-oxydes, des radicaux H₂O₂ et NO, potentiellement larvicides, et des cytokines pro inflammatoires tel que IL1, IL6, et IL23. Le taux élevé de H₂O₂ et NO inhibe le sphingomyélinase, associé au tégument du schistosome, et autre processus de métabolisme. Par conséquent la couche lipidique devient rigide limitant l'accès des petites molécules. Néanmoins, les larves parasitaires possèdent des stratégies de protection immunitaires, et secrètent des molécules immunomodulatrices et enzymes qui préviennent leur destruction par les radicaux toxiques (El Ridi *et al.*, 2010). En outre, les cytokine proinflammatoires, IL12, TNF, et IFN activent l'arginase des macrophages, à transformer la L arginine en L hydroxy-arginine, qui est une voie antifibrinogène, incapable de synthétiser des fibres et des collagènes indispensable pour la formation des granulomes, qui entourent la coque et les débris ovulaires qui secrètent des produits toxiques. Ainsi, la réponse Th1 excessive en résulte, à long terme, un foie hépatotoxique et une hépatosplénomégalie (Figure 13). (Schramm *et al.*, 2010)

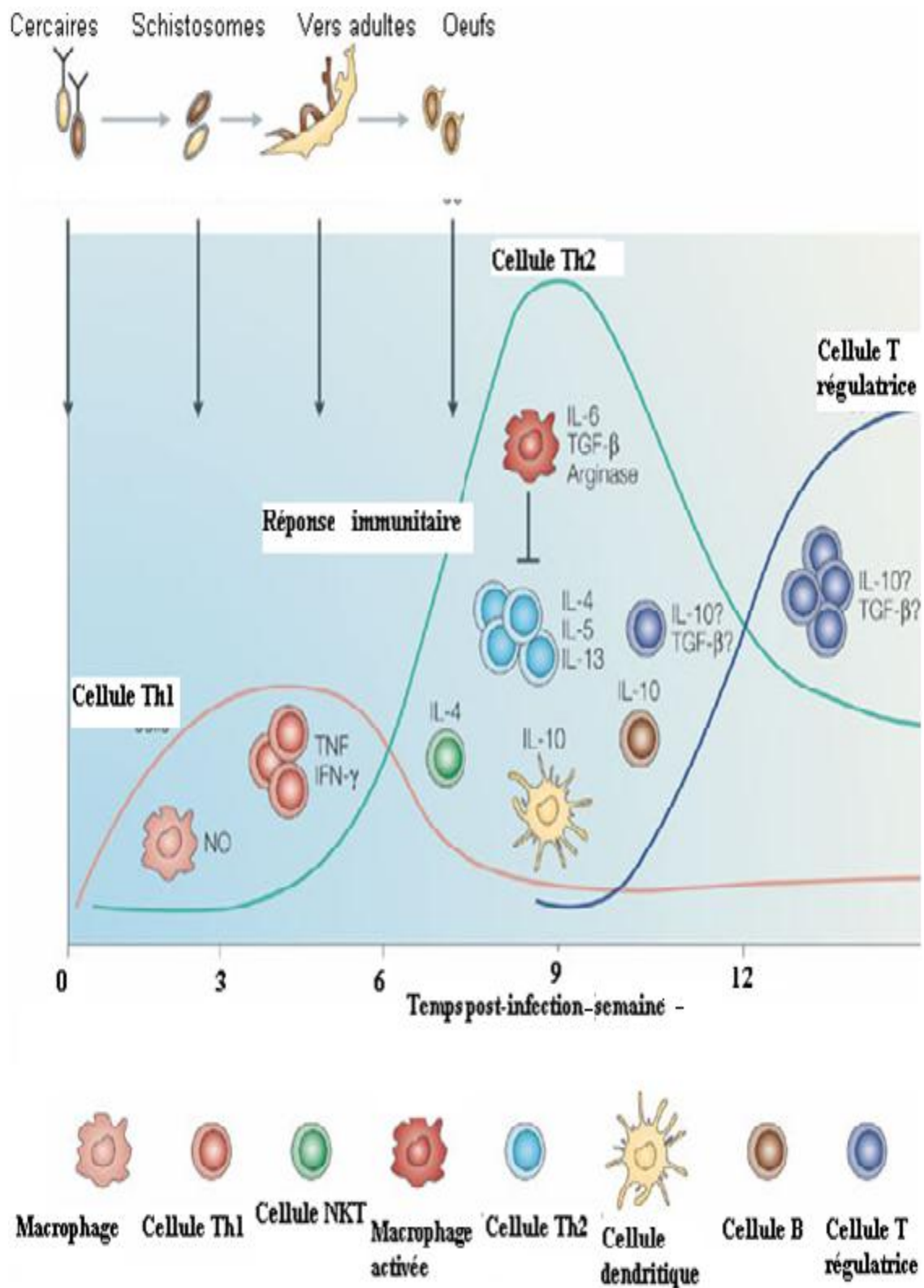


Figure 13 : Réponses immunitaires Th1 et Th2 induites par les schistosomes (David *et al.*, 2005)

1.6.2. Réponse cellulaire Th2

Dans la phase chronique de la schistosomiase, les parasites deviennent matures, s'accouplent et produisent des œufs dont les antigènes induisent plutôt la réponse immunitaire Th2. C'est spécialement, les carbohydrates des œufs qui sont intégrés dans le processus spécifique d'induction de la réponse Th2 (Figure 13). Des travaux récents ont montrés que le sucre spécifique est le polylectosamine (lactose N fuco-pentose III) des œufs qui agit comme adjuvant du Th2. La découverte du récepteur lectine type C, exprimé sur les cellules dendritiques, propose plusieurs cellules candidates dans la reconnaissance innée des œufs des schistosomes (Pearce *et al.*, 2002, Schramm *et al.*, 2010). D'autres travaux mettent en évidence les récepteurs PRR-PCS spécifiques des produits du groupe Oméga 1 et IPE alpha, les plus secrétés par les œufs. La nature de l'antigène (œuf ou ver) et le signal des cytokines et chémokines des cellules inflammatoires, évoquent des changements fonctionnelles des cellules dendritiques et des basophiles (perte de la fonction phagocytose, régulation des molécules costimulatrices CD80 et CD60, production des cytokines IL4, IL10 et IL 12). Ces cellules migrent vers les organes lymphatiques et induisent la polarisation des cellules T naïves à devenir des cellules Th2, actives. Les basophiles-IgE dépendantes qui sécrètent les histamines, les leukotrines, et les cytokine IL4 et IL13, amplifient la réponse Th2 (Schramm *et al.*, 2010). L'IL4 et IL13 agissent sur les macrophages en induisant la synthèse de l'arginase, enzyme qui dégrade la L arginine et produit la proline, les fibres et les collagènes.

Ainsi, dès que les œufs traversent la barrière endothéliale du site de ponte, elles sont immédiatement attaquées par les cellules immunitaires Th2. Chaque œuf est activement encapsulé par les cellules Th2 constitué de cellules T CD4+, éosinophiles, macrophages et les collagènes, formant ainsi un granulome précédant l'évolution vers la fibrose caractéristique de la bilharziose. Puis survient le plus souvent, la phase cicatricielle du granulome avec destruction de la coque ovulaire et du miracidium et calcification définitive du granulome.

Les cellules Th2 secrètent des médiateurs inflammatoires potentiellement dangereux tels que IL10, IL4, IL4 R alpha, IL5, IL13 et STAT6 (Peace *et al.*, 2002, Schramm *et al.*, 2010).

1.5.3. Balance Th1/Th2

Durant la phase chronique de l'infection, où les vers produisent des centaines d'œufs par jours, la réponse Th2 est modulée et les granulomes (Figure 14) qui se forment autour des œufs, nouvellement déposés, sont plus petites que lors de l'infection, ce qui semble protéger les hépatocytes, mais permettent le développement de fibrose (Peace *et al.*, 2002). En effet, basée sur le comportement du parasite à moduler la réponse immunitaire de l'hôte sans le tuer (perdre son habitat), et l'hôte à éliminer le parasite sans causer des dommages, durant cette coévolution, des cellules T régulatrices et des médiateurs anti inflammatoires se sont développés tels que IL10 TGF β Trgs, AAM (Schramm *et al.*, 2010) et l'IL 12 qui stimulent la production de l'IL10.

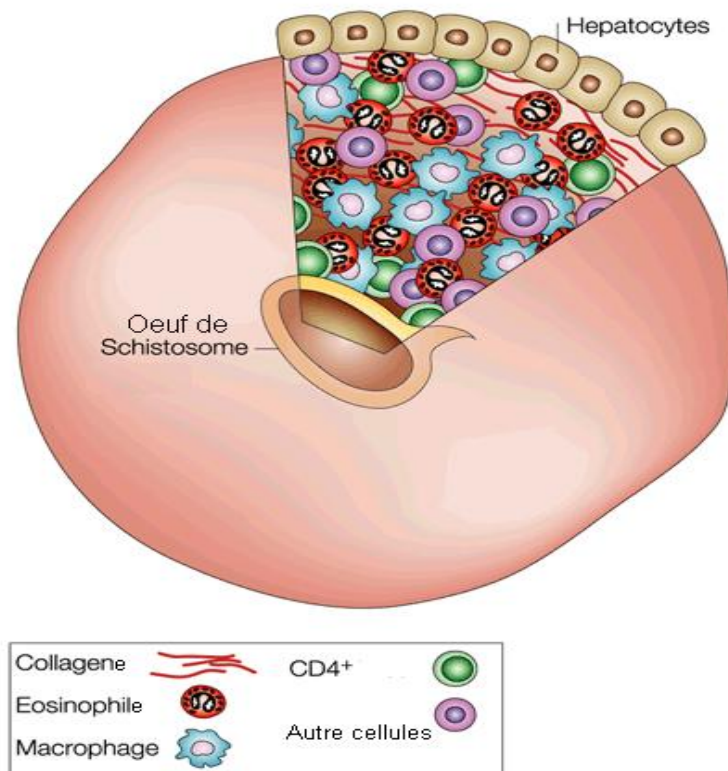


Figure 14 : Granulome bilharzien dans le foie humain (Peace *et al.*, 2010)

Le médiateur anti inflammatoire IL 10 a le rôle majeur dans la prévention de la réponse Th1 ou Th2 excessives, et par suite dans la régulation de la morbidité et la mortalité dues à la schistosomiase.

1.5.4. Immunité humorale

Les anticorps anti-*Schistosoma*, appartenant aux diverses classes d'immunoglobulines, apparaissent dès l'infection et persistent longtemps après l'élimination des parasites. La réponse humorale associée à la phase pré patente (Th1) est caractérisée par la synthèse accrue des IgM, qui ciblent les polysaccharides des œufs, et des IgE spécifiques et non spécifiques qui ciblent tous les stades parasitaires présents chez l'hôte : cercaires, schistosomules, antigènes CAA (antigène circulant anodique) somatiques et sécrétoires des vers adultes et antigènes CCA (antigène cationique circulant), œufs et antigènes solubles des œufs (Mayaka, 2001). Les antigènes des vers adultes induisent eux des anticorps létaux qui déclenchent une réaction immunitaire dite réaction cellulaire cytotoxique dépendante des anticorps IgE (ADCC) (Figure 15).

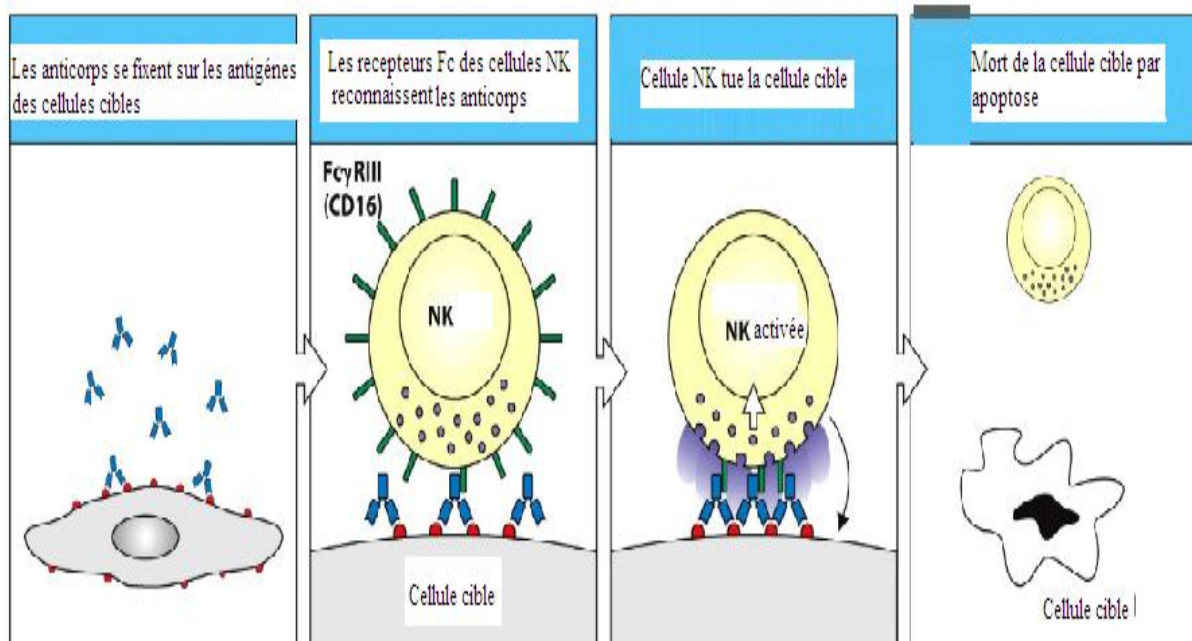


Figure 15 : Réactions de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante d'anticorps (ADCC) (Parham *et al.*, 2009)

Ces anticorps létaux (les IgE et les éosinophiles) se fixent sur les schistosomules et activent les lymphocytes, les éosinophiles, les macrophages, les plaquettes sanguines et même les neutrophiles et les basophiles à détruire ces schistosomules (Revillard *et al.*, 1998) par sécrétion active des enzymes, perforins, et TNF. Cette réaction cellulaire est sous le contrôle et la régulation des cytokines IL4, IL5, IL9, IL13 et IL10 (Couissinier Paris *et al.*, 1995; Rodrigues *et al.*, 1999); elle est dite immunité concomitante (Wynn *et al.*, 2000), terme

utilisé pour décrire une sorte d'immunité acquise qui protège la réinfestation du même individu par de nouvelles formes immatures du parasite (Petit prez *et al.*, 1998; Chapel *et al.*, 2004; Botros *et al.*, 2005).

Les Ac spécifiques des œufs (idiotypes) purifiés des patients avec maladie moins sévères stimulent la prolifération des cellules Th2. De ce fait, la réponse Th2 est toujours associée à une augmentation des IgE et d'éosinophilie. La réponse humorale est aussi associée à la production des IgA et des IgG2 (Peace *et al.*, 2002).

1.5.5. Immunité et endémicité

Dans les aires à forte endémicité, la préexistence de la réponse Th1 chez les enfants, fait que ces enfants ne développent pas la réponse pro-inflammatoire, car ils ont hérité le phénotype Th2 intra-utérine de leurs mères infectées (Peace *et al.*, 2002). Dans les aires à faible endémicité, l'intensité de l'infection, représentée par le nombre de parasites présents dans la population en un temps donné (Dieng, 1999), dépend de l'évolution des compétences immunitaire avec l'âge ou le traitement par le praziquantel (PZQ).

Les adultes sont résistants à la réinfection, tandis que les enfants sont plus susceptibles à la réinfection. La différence entre le groupe résistant et le groupe susceptible paraît au niveau du taux des IgE anti vers (Schramm *et al.*, 2010) et non pas anti œufs (Mutai *et al.*, 2002). Le mécanisme par lequel les IgE fonctionnent dans la capacité protectrice de l'homme n'est pas clair, mais l'interaction avec la réponse cellulaire ADCC est le modèle favorisé. Les Ac dirigés contre les vers affecteraient également la ponte ovulaire, causant une baisse significative du nombre des oeufs éliminés dans les urines, qui chute rapidement après 25 ans. Le développement lent de la réaction immunitaire protectrice contre les antigènes des vers, peut être due à la longue vie des vers adultes (*S. mansoni* 7 à 10 ans) ; tel que l'hôte ne devient exposé aux antigènes des vers qu'après la mort ou suite au traitement (Peace *et al.*, 2002). Le traitement des enfants, par le PZQ dans les aires endémiques, provoque une libération massive des antigènes solubles des schistosomes, ce qui entraîne une augmentation considérable de la production des IgE et IgG1 et une diminution des IgG4, et favorise la protection de l'homme contre la réinfection par *S. haematobium*, et *S. mansoni* (Peace *et al.*, 2002 ; Traore *et al.*, 2006).

I.6. Aspects cliniques

Les manifestations cliniques évoluent en trois phases dont chacune correspond à une phase physiopathologique du parasite chez l'homme (Bonnard *et al.*, 2000).

1.6.1. Phase d'infection cercarienne

La phase d'infection cercarienne correspond à la pénétration transcutanée des furcocercaires. Elle réalise, de manière inconstante, une dermatite allergique dans l'heure qui suit le bain infectant (Figure 16). Généralement, il s'agit d'un prurit localisé précédant l'apparition d'un érythème, puis de papules de 3 à 5 mm de diamètre pouvant se transformer en vésicules qui persisteront 10 à 15 jours (« swimmer's itch » = démangeaison du baigneur). Cette phase est discrète voire inapparente avec *S. haematobium*. Le prurit et la réaction urticarienne disparaissent en quelques heures, parfois en 1 à 2 jours dans la bilharziose à *S. mansoni* (Gentilini *et al.*, 1993). Cette phase, souvent silencieuse, ne s'observe qu'en cas de primo-infection (Klotz *et al.*, 1991; Barabe *et al.*, 1984)



Figure 16 : Dermatitis cercarienne (Hammedi *et al.*, 2013)

1.6.2 Phase d'invasion

La phase d'invasion débute 2 à 10 semaines après l'infection et traduit la réponse immuno-allergique à la migration et à la maturation des schistosomules. Elle est symptomatique essentiellement chez l'enfant et le voyageur non-immun. Elle est caractérisée

par une fièvre élevée (fièvre de safari pour *S. mansoni* (Huve *et al.*, 1989) et fièvre de Katayama pour *S. japonicum*), et est éventuellement associée à des manifestations variées : cutanées (urticaire, prurit, œdème), pulmonaires (toux sèche, dyspnée asthmatiforme), douleurs diffuses (myalgies, arthralgies) et digestives (douleurs abdominales, diarrhée) (Klotz *et al.*, 1990). L'examen clinique peut retrouver une hépato-splénomégalie (Klotz *et al.*, 1988). L'ensemble de ces symptômes est l'apanage de la primo-infection et peut durer de 2 à 12 semaines.

1.6.3 Phase de localisation digestive

La phase de localisation digestive correspond à la ponte des femelles. Elle s'exprime quelques mois à quelques années après le contact infectant. L'élimination des œufs dans la lumière colique est une constante de toutes les bilharzioses. Cependant, la gravité et l'intensité de l'expression clinique varie selon l'espèce de schistosome en cause : rapide et grave pour *S. japonicum* et *S. mekongi*, fréquente et sévère pour *S. mansoni*, fréquente et bénigne pour *S. intercalatum*, rare et bénigne pour *S. haematobium*.

Les espèces *S. mansoni* et *S. intercalatum* donnent le plus souvent une symptomatologie intestinale, qui n'est qu'occasionnelle pour les autres espèces. Enfin, si *S. mansoni*, *japonicum* et *mekongi* ont un tropisme hépatique électif, *S. haematobium* et *intercalatum* ne donnent que peu de lésions hépatiques cliniquement patentes (Klotz *et al.*, 1988; Klotz *et al.*, 1991). On peut alors observer des douleurs abdominales (souvent localisées au flanc et à la fosse iliaque gauche), une diarrhée glairo-sanglante et/ou des rectorragies isolées parfois abondantes notamment pour *S. intercalatum* (Lehman *et al.*, 1976). La présence de stries de sang entourant les selles est caractéristique de la bilharziose intestinale.

1.6.4 Phase d'état

La phase d'état correspond à la rétention des œufs soit dans la vessie, l'intestin, le foie, l'œil, ou système nerveux.

1.6.4.1. Manifestation urogénitale

Les manifestations uro-génitales sont le mode d'expression habituel de la bilharziose à *S. haematobium*. Le maître symptôme est l'hématurie. Accompagnée de signes d'irritation vésicale : douleurs mictionnelles, irradiant vers les bourses et le périnée, pollakiurie. En cas de complications, l'ensemble de l'arbre urinaire et le système génital des deux sexes peut être touché: urétrite, épидидymite, spermato-cystite, prostatite, salpingite, endométrite, vaginite, cervicométrite pouvant entraîner impuissance et stérilité (Bonnard *et al.*, 2000), ou même à long terme à un cancer de vessie (Figure 17) (Mamadou Dialou, 2003 ; Shewerta *et al.*, 2010).

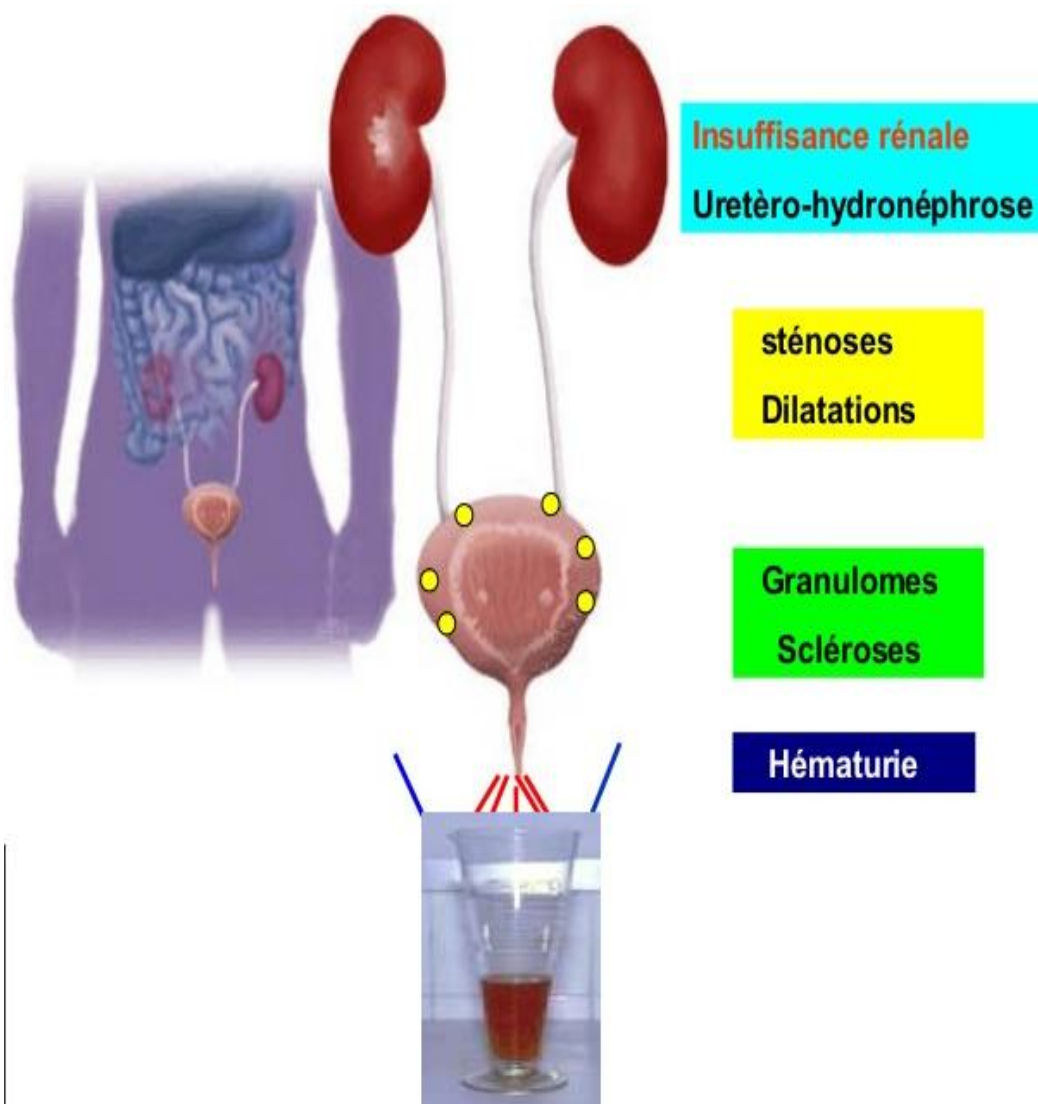


Figure 17 : Lésions urinaires dues à *S. haematobium* (Hammedi *et al.*, 2013)

1.6.4.2. Manifestation intestinale particulière

S. mansoni, *S. japonicum*, *S. mekongi* et à un moindre degré *S. intercalatum*, entraînent une pathologie hépatosplénique (Figure 18), avec dans les formes graves, apparition d'une hypertension portale qui conditionne le pronostic des bilharzioses intestinales et artério-veineuses.



Figure 18 : Hépatosplénomégalie : signe clinique de la bilharziose intestinale
(Benderly *et al.* 2009)

- **Manifestation digestive due à *S. mansoni***

Il s'agit de l'espèce affectant le plus souvent le tube digestif avec la symptomatologie la plus marquée (Bertrand *et al.*, 1971; Strickland *et al.*, 1982). Les symptômes apparaissent 3 mois environ après la contamination. La diarrhée est au premier. Des rectorragies peuvent s'y associer. Le ténesme est habituel, les épreintes sont rares. Un prolapsus rectal peut s'observer. L'état général est habituellement conservé (Bonfils *et al.*, 1968) La diarrhée et les douleurs abdominales disparaissant en quelques mois, même sans traitement. Les complications les plus fréquentes sont un état subocclusif et/ou une hémorragie intestinale. L'atteinte hépatosplénique est la complication la plus grave. Elle résulte d'embolies ovulaires dans le foie et la rate, déterminant une thrombose des veinules. Une fois bloqué, l'œuf devient

le centre d'un granulome (bilharziome), point de départ d'une fibrose, source d'une hypertension portale (Figure 19) (Bertrand *et al.*, 1971).

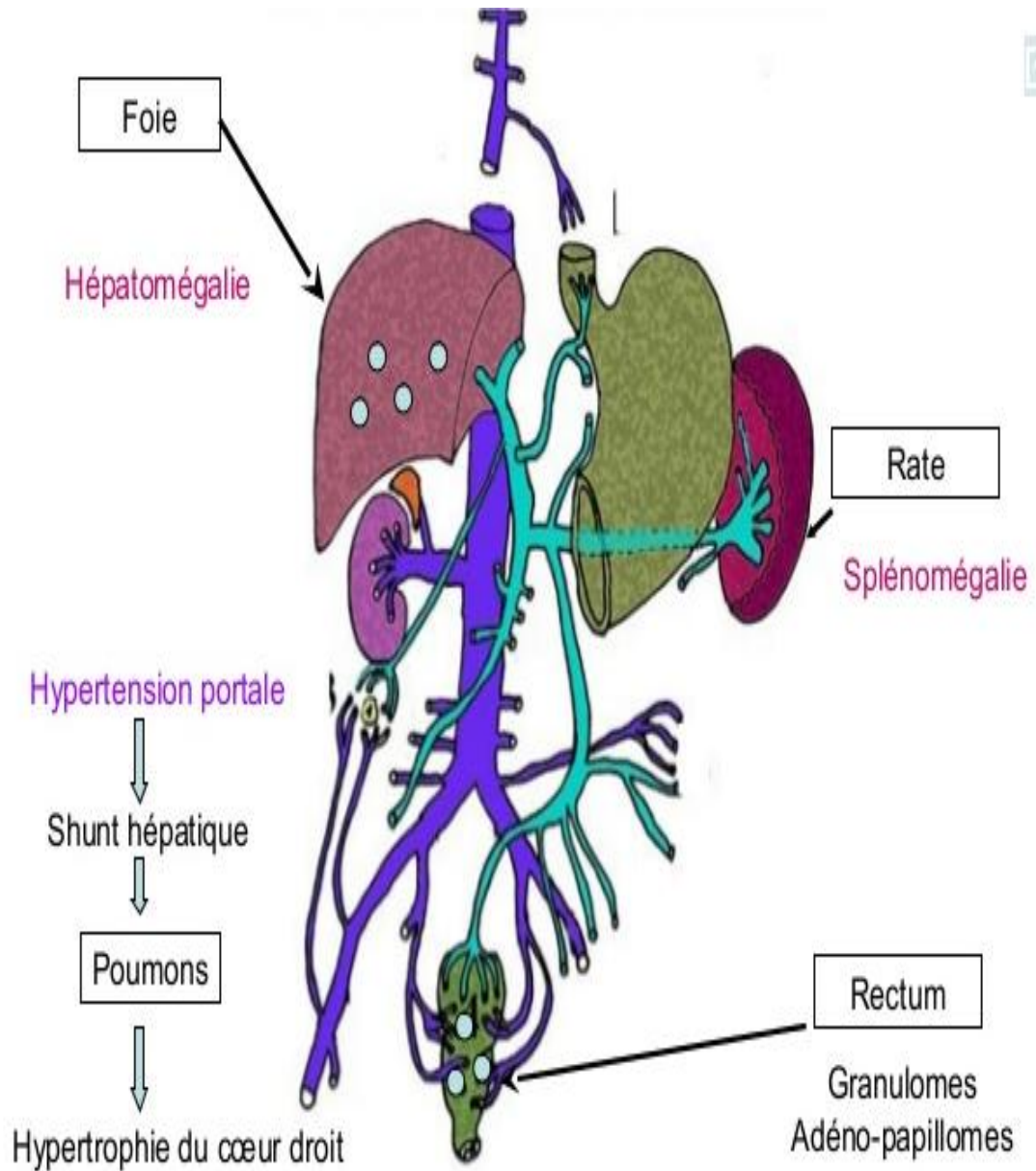


Figure 19 : Lésions dues à *S. mansoni* (Hammedi *et al.*, 2013)

- **Manifestation digestive due à *S. intercalatum***

La symptomatologie est articulée autour d'un syndrome rectal. On retrouve alors une diarrhée parfois glairo-sanglante, des douleurs rectales ou coliques, un ténésme, un prolapsus rectal voire des rectorragies (Bonfils *et al.*, 1968; Becquet *et al.*, 1972; Bourée *et al.*, 1977)

- **Manifestation digestive due à *S. japonicum* et *S. mekongi***

Des formes bénignes, sans hépatomégalie, sont fréquentes en zone d'endémie. Elles sont alors révélées par des épisodes diarrhéiques passagers (Gentilini *et al.*, 1993; Strickland *et al.*, 1994)

1.6.4.3. Manifestation hépatique

Le pronostic de la bilharziose est lié à l'atteinte hépatique. Cette dernière dépend du parasite en cause : *S. mansoni*, *japonicum* et *mekongi* ont un tropisme hépatique électif et déclenchent une atteinte souvent sévère, alors que *S. haematobium* et *intercalatum* sont moins agressifs. Plus que le ver adulte, c'est l'œuf, par son pouvoir antigénique plus important, qui est pathogène. La ponte par les parasites matures débute deux mois après le contagé. Les œufs embolisés dans les veinules portes intra-hépatiques vont déclencher une réaction inflammatoire. Cette dernière, relayée par des lymphocytes T, provoque un afflux de macrophages, d'éosinophiles et d'histiocytes, qui vont, à terme, former le granulome bilharzien, centré par l'œuf de schistosome. Parmi les lymphokines sécrétées par ces lymphocytes T activés, on a retrouvé chez la souris des substances chimio-attractantes et mitogènes pour les fibroblastes, ainsi que des peptides susceptibles d'accroître la synthèse de fibronectine et de collagène par les fibroblastes (Wyley *et al.*, 1992). C'est principalement la réponse de l'hôte à ce granulome qui conditionne la gravité de l'atteinte bilharzienne.

1.6.4.4. Forme atypique

Schistosoma peut affectée aussi la cornée de l'œil (Domenico *et al.*, 2011), les poumons (Graham *et al.*, 2013), le système nerveux, prostate, péritonéite, ou la peau (Coyle *et al.*, 2013 ; Ehsani *et al.*, 2013 ; Mazigo *et al.*, 2013 ; Vargas *et al.*, 2013)

1.7. Diagnostic

La confirmation du diagnostic repose sur des examens paracliniques (Bonnard *et al.*, 2000). Les examens non spécifiques orientent vers l'étiologie parasitaire. En effet, l'hémogramme est souvent normal, mais peut cependant montrer une cytopénie dans le cadre d'un hypersplénisme. L'hyper-éosinophilie est inconstante, elle fait rarement défaut à la phase d'invasion, mais manque souvent à la phase de localisation viscérale (Gentilini *et al.*, 1993). Cette hyper-éosinophilie peut atteindre 15 % mais n'a qu'une valeur d'orientation (Klotz *et al.*, 1991). Des perturbations de l'immunité à médiation cellulaire sont très fréquentes avec une baisse des lymphocytes T (CD4) et une augmentation du taux sérique de β 2-microglobuline. Ces anomalies régressent après le traitement antiparasitaire (Feldmeier *et al.*, 1986) L'activité sérique des enzymes hépatiques est souvent normale en dehors d'une augmentation modérée des phosphatases alcalines. Il existe par ailleurs une hypergammaglobulinémie. L'insuffisance hépatique est rare et doit faire évoquer une pathologie associée (hépatite virale en particulier (El Shazly *et al.*, 1994; Abdel Wahab *et al.*, 1994; Aceti *et al.*, 1993; Madwar *et al.*, 1989). La confirmation du diagnostic repose sur des examens parasitologiques spécifiques. Le choix du test dépend de la charge parasitaire et par conséquent de l'endémicité du foyer.

1.7.1. Examen chez les patients à forte intensité de l'infection

1.7.1.1. Échographie

Le diagnostic peut être orienté par l'échographie. Le signe le plus précoce et le plus sensible est l'épaississement de la paroi des veines portes. Une classification a été élaborée par l'OMS. Les items sélectionnés comportent des anomalies de l'échostructure du foie et des anomalies liées à la présence d'une hypertension portale (Cairo Working Group 1992). L'inconvénient de cette classification est d'inclure des mesures qui font l'objet d'une variabilité inter-observateur (Schwerdtfeger *et al.*, 1992), et qui sont donc peu reproductibles. Par ailleurs, d'autres pathologies tropicales peuvent être sources d'hépatomégalie et d'hypertension portale et perturbent alors le calcul de ce score (hépatite virale au stade de cirrhose notamment).

1.7.1.2. Examen biologique

La méthode d'enrichissement de Kato, dans laquelle on utilise un gabarit normalisé pour mesurer une quantité bien définie de matières fécales (allant de 10 à 50 mg), est préconisée pour le diagnostic des infestations par *S. mansoni*, *S. japonicum*, et *S. intercalatum* ; le dénombrement exact des œufs est obtenu 30 minutes après la préparation des lames (Weller *et al.*, 1945, Latty *et al.*, 1954). Dans certaines régions d'endémie, le degré d'infestation correspond en général à un nombre d'œufs inférieur à 100 par g de matière fécale.

Pour l'analyse des urines, les techniques de filtration remplacent de plus en plus souvent les techniques qualitatives de sédimentation. Pour le diagnostic de l'infestation à *S. haematobium*, il est recommandé de prélever au hasard un échantillon de 10 ml d'urine à la seringue et de le faire passer à travers un filtre Nyltel. L'intensité de la bilharziose dépend du nombre d'œufs excrétés (Tableau 3). Ainsi les examens parasitologiques ont une sensibilité de 60 % avec l'avantage d'un résultat semi-quantitatif. Néanmoins, l'excrétion des œufs est intermittente, et dépend de la fécondité du ver qui diminue avec le temps, suite à la réponse immunitaire de l'individu ou suite au traitement (Latty *et al.*, 1945, Weller *et al.*, 1945, Peters *et al.*, 1980, Bartholomew *et al.*, 1981, Rollinson *et al.*, 2013).

1.7.2. Examen chez les patients à faible intensité d'infection

Dans les régions à faible prévalence, l'infection à faible intensité est caractérisée par un nombre d'œufs généralement non détectables par les examens parasitologiques. La sérologie, la biologie moléculaire et l'endoscopie sont les techniques fiables.

1.7.2.1. Radiologie

Endoscopie : la recto-sigmoïdoscopie permet de mettre en évidence des lésions quelle que soit l'espèce en cause qui est dans la majorité des cas localisée dans les 20 derniers centimètres du côlon (Lehmann *et al.*, 1976). Il est intéressant de constater que chez plus de 50 % des malades, la muqueuse est macroscopiquement normale, alors que la biopsie révèle la présence de nombreux œufs. Ces lésions endoscopiques sont rencontrées dans toutes les espèces bilharziennes, mais sont dominantes et plus intenses au cours d'une infection

à *S. mansoni* et *S. intercalatum*. Dans une lésion non spécifique, on peut retrouver un oedème et une hyperhémie de la muqueuse, souvent associés à des varicosités rectales, une accentuation de la trame vasculaire, des suffusions hémorragiques, voire des ulcérations de tailles variables ; des rectites graves associant granulations, ulcérations et suffusions hémorragiques ont été décrites, surtout au cours d'infections à *S. intercalatum*, voire à *S. haematobium*. Ces biopsies ne donnent des résultats négatifs que 2 à 3 mois après le traitement (Klotz *et al.*, 1991).

I.8.3.2. Technique immunologique et moléculaire

- **Détection des anticorps**

La détection des anticorps est généralement possible 15 jours après l'infection parasitaire. Plusieurs essais spécifiques et sensibles sont développés tels que : la réaction cercarienne, le test de précipitation circumoval des œufs, le test d'hémagglutination des antigènes des vers adultes, le test d'Immunofluorescence indirect (IFI) à base de vers adultes ou section de foie infecté, l'ELISA et le Western blot ou l'immunochromatographie. Les anticorps apparaissent 15 à 30 jours après la contamination, ce qui donne tout son intérêt à la sérologie en phase d'invasion. Cependant, les résultats sont affectés par les réactions croisées avec d'autres helminthiases (Corea *et al.*, 1988) et la persistance des anticorps après la guérison.

Les tests de dépistage reconnu par l'OMS sont : SEA SMP-ELISA (à base d'antigènes solubles des œufs, métapériodate de sodium- ELISA), MAMA FAST ELISA dipstick (à base d'antigène microsomal des vers adultes de *Schistosoma mansoni*). Dans le cas de la bilharziose génitale, les œufs ne sont trouvés que par l'histopathologie. Après le traitement, le titre d'anticorps tend à augmenter. Les IgG1 sont l'isotype cible pour la détection des anticorps.

- **Détection des antigènes**

La détection des antigènes (protéines ou ADN) est importante dans le diagnostic de la maladie au début de l'infestation, et pour la confirmation des résultats des tests immunologiques de détection des anticorps. Al Sherbiny *et al.*, 1999 ont développé une

technique destinée à détecter des antigènes circulants grâce à des anticorps monoclonaux préalablement synthétisés: l'antigène CCA dans les urines et l'antigène CAA dans le sérum.

La détection de l'ADN schistosomiens, par les techniques moléculaires, peut offrir une autre approche de diagnostic très sensible. L'ADN de *Schistosoma* est détectable dans le sérum humain, les selles et l'urine. Dans les aires à faible endémicité ou le diagnostic parasitologique peut être insensible, les meilleurs approches de diagnostic sont basées sur la caractérisation des séquences nucléotidiques répétées caractéristiques de chaque espèce de *Schistosoma* (WHO-EMRO, 2007).

1.8. Traitement

Le praziquantel (PZQ) est le produit de traitement classique de la bilharziose humaine, peu cher et efficace contre toutes les bilharzioses et quelques espèces de cestodes. Pourtant, il est moins effectif sur les stades immatures de *S. mansoni*. Bien que le mode d'action du PZQ ne soit pas actuellement totalement élucidé, il semblerait que cette molécule aurait un effet sur les canaux calciques de la membrane du tégument et des cellules musculaires, provoquant des dommages du tégument et une libération massive des antigènes solubles des schistosomes à la surface du tégument du ver, ce qui rend ce dernier susceptible à la réaction immunitaire. En outre, il induit la production d'IL 5 indispensable pour la réaction immunitaire effectrice (Wilson *et al.*, 2013).

D'autres effets du PZQ ont été élucidés tels que, la réduction du taux de production de glutathion (GSH), l'inhibition du système excréteur du mâle et du cycle des nucléosides et la diminution de l'activité du transport MDR. La rareté des investigations pour le développement d'un nouveau traitement, fait que le PZQ est le seul traitement universel (Coeli *et al.*, 2013). Silva-Moraes *et al.*, ont montré que les canaux de Ca²⁺ sont susceptibles aux médicaments de la classe de dihydropyridine qui inclut la nifépidine. L'utilisation *in vitro* de ce médicament (cliniquement utilisé pour l'hypertension cardiovasculaire) a montré des effets antischistosomes agissant sur les schistosomules et les vers adultes, ce qui est prometteur dans le traitement des cas résistants au praziquantel (Silva-Moraes *et al.*, 2013, Vanaerschot *et al.*, 2014).

1.9. Lutte

De 1970 à 1980, l’OMS a joué un rôle de premier plan dans l’élaboration de la stratégie de lutte contre la schistosomose. Les efforts de lutte reposaient sur l’association de la lutte contre les mollusques, de la chimiothérapie et des mesures éducatives et sanitaires. Des initiatives de lutte ont ainsi été lancées dans de nombreux pays à travers le monde, et ont été couronnées de succès en Arabie saoudite, Maroc, Porto Rico, Tunisie et Venezuela, qui sont proches de l’élimination de la schistosomose ou y sont déjà parvenus. D’autres pays tels que le Brésil, la Chine, l’Égypte et les Philippines, ont pu mener des activités nationales de lutte sur une longue période et réduire le fardeau représenté par la schistosomose. En revanche, la lutte contre cette maladie en Afrique, le continent le plus atteint, n’a connu aucun progrès. Les raisons de cet échec de la lutte en Afrique subsaharienne sont nombreuses, les principales étant :

- la stratégie basée sur le contrôle des mollusques (hôtes intermédiaires), à l’aide de produits molluscicides tels que le niclosamide et de la chimiothérapie, est insuffisante compte tenu des ré-infections constantes – liées à l’absence d’amélioration des conditions d’hygiène. Le cycle de transmission continu, et les chiffres absolus mettaient rarement en évidence un recul à long terme ;
- l’approche verticale des programmes de contrôle de la maladie, financés par des organismes donateurs, est inefficace car ceux-ci sont interrompus dès l’arrêt du financement extérieur ;
- faible intérêt à tous les niveaux, ce qui entraîne un abandon progressif du soutien aux programmes de lutte ;
- le coût élevé des interventions a contribué à faire reculer la schistosomose sur la liste des priorités de santé publique et à réduire l’engagement des autorités sanitaires nationales en faveur de la lutte contre cette maladie (Tchuem., 2006).

1.10.1. Dynamique

Il existe une dynamique mondiale pour la lutte contre la schistosomose. Sous l’égide de l’OMS, tous les États membres de l’OMS (plus de 200 pays) ont endossé en mai 2001, à l’occasion de l’Assemblée mondiale de la santé, la résolution WHA 54.19 dont les trois objectifs majeurs sont :

- traiter régulièrement au moins 75 % de tous les enfants d’âge scolaire exposés au risque de schistosomose et d’infections dues aux helminthes transmis par le sol ;

- veiller à ce que les personnes vivant dans les zones endémiques aient accès aux médicaments vermifuges au niveau de l'infrastructure sanitaire locale ;
- fournir un traitement régulier à d'autres groupes à haut risque.

Dans cette lancée, et toujours sous l'égide de l'OMS, le PPC (*Partners for Parasite Control*) a été lancé, composé d'États membres de l'OMS, des agences des Nations unies, des instituts de recherche, des universités, des représentants de l'industrie pharmaceutique et d'une multitude d'ONG. Il offre une plateforme importante pour partager les connaissances et les expériences acquises au niveau des pays.

La *Schistosomiasis Control Initiative* (SCI) a joué, aussi, un rôle moteur dans le lancement de programmes nationaux de lutte contre la schistosomose et les vers intestinaux dans Ouganda, Tanzanie, Zambie, Mali, Niger et Burkina Faso. À travers l'initiative Hashimoto, le Japon entend faire bénéficier de son expérience et apporte son soutien à la lutte globale contre les maladies parasitaires. Trois centres de formation régionaux ont ainsi été créés respectivement en Thaïlande pour l'Asie, au Kenya pour l'Afrique de l'Est et du Sud, et au Ghana pour l'Afrique centrale.

L'intégration des activités de lutte dans les activités de divers partenaires et institutions internationales tels que l'UNICEF, le Programme alimentaire mondial, la Banque mondiale à travers le programme FRESH (*Focusing Resources on Effective School Health, Hygiene & Nutrition*), *Save the Children* et de nombreux autres, ont contribué à élargir la couverture du déparasitage et à renforcer les capacités des programmes nationaux de lutte.

Enfin, l'intérêt des donateurs (Fondation Bill & Melinda Gates, Fonds mondial, etc.) et des gouvernements des pays développés (sommet du G8) et des agences internationales (Nations unies) constituent des catalyseurs importants.

Aujourd'hui, la stratégie recommandée est centrée sur la lutte contre la morbidité. Elle repose prioritairement sur un traitement régulier et systématique des enfants d'âge scolaire (à l'école) et des groupes à haut risque d'infection (pêcheurs, travailleurs des zones irriguées, etc.). Il contribuera ainsi à l'amélioration de l'éducation des jeunes, car un enfant déparasité

régulièrement sera plus actif, grandira normalement, apprendra mieux et sera plus résistant aux autres infections (Tchuem., 2006).

1.10.2. Opportunités et défis

La nouvelle dynamique et le regain d'intérêt pour la lutte contre les maladies parasitaires offrent de nouvelles opportunités susceptibles de favoriser l'atteinte des objectifs de lutte fixés par l'OMS telle que :

- la baisse du prix des médicaments ; en effet, avant la levée du brevet déposé pour le praziquantel, ce médicament coûtait environ 3 \$ US, aujourd'hui un comprimé revient à moins de 0,07 \$ US (WHO, 1998).

- ensuite, les opportunités d'intégration et de synergie ; par plusieurs aspects, allant de l'épidémiologie au traitement, la lutte contre les maladies parasitaires peut se faire de manière conjointe. Par exemple, la schistosomose et les helminthiases intestinales sont liées à la pauvreté, sont souvent endémiques dans les mêmes communautés et touchent essentiellement les mêmes cibles, à savoir les enfants d'âge scolaire. En outre, les recherches sont en cours pour l'innovation d'un test Luminex de diagnostic multiplexe simultanément de toutes les parasitoses (Mami-Taniuchi *et al.*, 2013).

Certains auteurs proposent le dépistage et la gestion de la stratégie de surveillance des infections parasitaires chez les immigrés infectés par le SIDA (Salvador *et al.*, 2013), car les parasitoses latentes se réactivent suite à l'immunodépression.

Néanmoins, la lutte contre la schistosomose présente un certain nombre de défis tel que la faible sensibilité des tests de diagnostic, les facteurs socio-économiques des pays (Zhou *et al.*, 2012), le manque des collaborations intersectorielles, l'éducation sanitaire, le développement des recherches scientifiques et l'évaluation continu des programmes par l'OMS (Tchuem, 2006 ; Gleen *et al.*, 2013, Hua *et al.* 2013)

II. BILHARZIOSE URINAIRE AU MAROC

II.1. Historique

L'apparition de la bilharziose urinaire, due à *S. haematobium* et transmise par *B. truncatus*, remonte au XIV^e siècle chez des caravaniers traversant le Sahara de Tombouctou (Mali) au Tafilalet, qui étaient atteints de « pissement de sang » (Gaud *et al.*, 1951). L'origine égypto-soudanaise de l'affection est donc probable, et il semblait que la maladie s'est étendue rapidement pour atteindre le Nord du pays, en passant par le moyen Atlas et le Gharb. En 1912, le protectorat français et espagnol a été instauré officiellement au Maroc et s'est heurté aux effets néfastes de certaines maladies transmissibles, en particulier le paludisme, la peste et la schistosomiase. En 1915, Job, un médecin militaire français, publia pour la première fois l'analyse de quelques cas de schistosomiase à *S. haematobium*, contractés par des militaires européens à Marrakech en 1914 (Job *et al.*, 1915). Le vecteur *B. truncatus* abondait dans le bassin historique de la Ménara (Marrakech) et dans les canaux d'irrigation traditionnels des aires avoisinantes (Brumpt *et al.*, 1922). Le foyer de Marrakech fut considéré par les médecins français durant une longue période comme le seul foyer marocain. Après l'indépendance obtenue en 1956, la transmission de la schistosomiase s'est accrue suite au développement du réseau moderne d'irrigation à ciel ouvert, qui a causé, depuis 1967, une extension rapide de la maladie vers des zones jusqu'alors indemnes (DELM, 1982; Barkia *et al.*, 2011).

II.2. Programme de lutte et profil épidémiologique de la bilharziose

La stratégie de lutte contre la bilharziose, élaborée en 1982 au Maroc, était basée sur quatre principes fondamentaux, à savoir : l'éducation sanitaire des populations, la lutte contre le parasite par des activités de dépistage et de traitement des cas, collaboration intersectorielle et la lutte contre le mollusque hôte intermédiaire (*B. truncatus*) par des actions physiques et chimiques (utilisation du Bayluscide) (Barkia *et al.*, 2011 ; Rollinson *et al.*, 2013). Les objectifs fixés étaient : d'assurer le contrôle de la maladie dans les foyers connus ; d'empêcher l'implantation de nouveaux foyers de transmission en zones irriguées. L'évolution des cas autochtones entre 1960 et 1993, montre une régression continue du nombre de cas (Figure 20). Le processus de l'élimination de la bilharziose, instauré en 1994,

fut alors lancé en 1994 après information et sensibilisation de tous les partenaires sous le slogan « La schistosomiase est un problème maîtrisable, oeuvrons ensemble pour l'éliminer de notre beau pays », l'objectif fixé étant d'intensifier la lutte en vue d'éliminer la maladie de tous les foyers de transmission au terme de l'an 2004. Le processus de l'élimination était couronné de succès, puisque la prévalence a été réduite jusqu'à atteindre zéro cas autochtone en 2004. En effet, les derniers cas autochtones enregistrés remontaient à 2003 (DELM 2003), ce sont des enfants de Tata âgés de moins de 14 ans.

Entre 2004 et 2007, les investigations épidémiologiques effectuées pour tous les cas déclarés confirment qu'ils sont tous soit des cas importés des pays étrangers, ou des cas résiduels. Ces cas résiduels sont tous âgés de plus de 17 ans, dépistés par un examen direct des urines ou une biopsie et la charge parasitaire était faible (DELM, 2003-2006). Dans la majorité des cas sont d'anciens malades qui ont échappé au dépistage dans leur lieu de résidence principal, leur origine a été établie dans les provinces où la transmission existait auparavant.

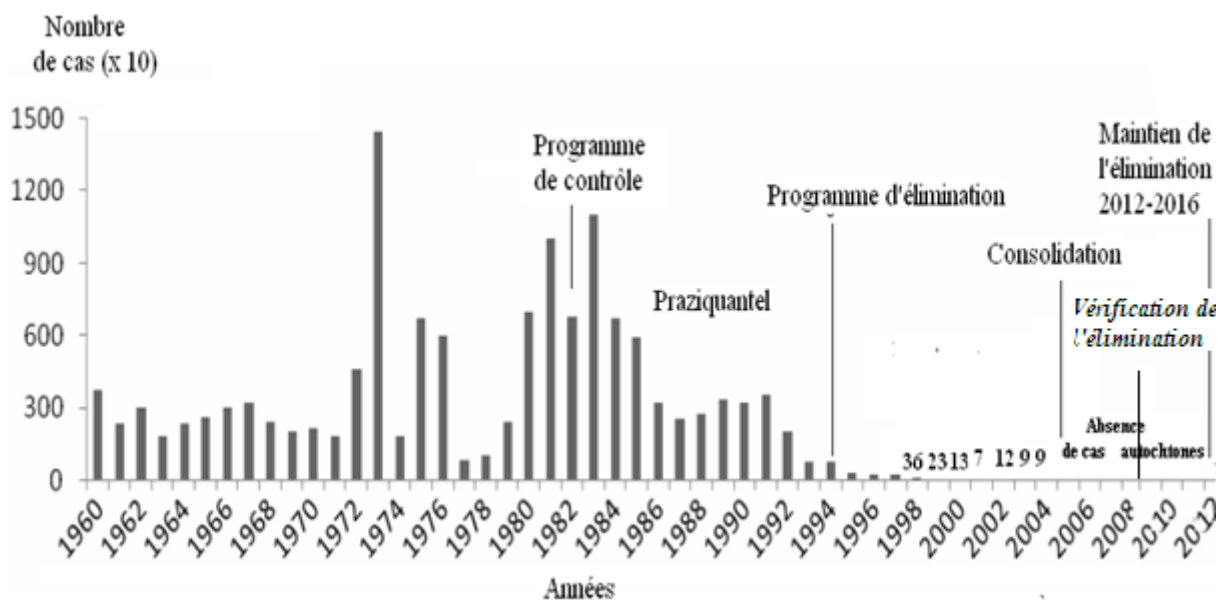


Figure 20 : Évolution des cas autochtones de la bilharziose urinaire au Maroc (1960-2009) (Amarir *et al.*, 2011)

En 2008, d'après les recommandations de l'OMS, le Maroc est inscrit parmi les pays qui doivent vérifier l'élimination de la bilharziose. L'OMS recommande de faire des enquêtes sérologiques et malacologiques chaque 5 ans, par des techniques hautement spécifiques et sensibles, dans toutes les zones à passé épidémiologique récent et présentant des gîtes du

mollusque vecteur de la maladie (WHO, 2008). En outre, les laboratoires provinciaux doivent maintenir leur vigilance vis-à-vis des cas importés et résiduels.

Le réseau des laboratoires regroupe un laboratoire national de référence de bilharziose et malacologie de l'Institut National d'Hygiène de Rabat et 20 laboratoires provinciaux, avec 41 microscopistes spécialisés dans la bilharziose, et dont les missions sont : la détection des cas passifs et actifs (pour les villages lointains de plus de 7 km des centres de santé) et la lutte contre les mollusques.

II. 3. Hôtes intermédiaires

Le Maroc est caractérisé par une grande diversité des mollusques. Seule *B. truncatus* et probablement *P. metidjensis* sont vecteurs de *S. haematobium* (Tableau 4).

II. 3.1. *Bulinus truncatus*

Au Maroc, le mollusque hôte de *S. haematobium* est *B. truncatus*. Il est hermaphrodite pouvant se reproduire par l'autofécondation (Hamza *et al.*, 2005). L'activité reproductrice de *B. truncatus* est optimale en été, minimale de décembre à mai. Les facteurs responsables de ces rythmes saisonniers sont généralement, la température et l'éclairage, l'assèchement des collections d'eau, les rythmes saisonniers des organismes susceptibles d'offrir de la nourriture aux mollusques et des organismes susceptibles de les détruire (Gaud *et al.*, 1958).

Les prospections effectuées par les autorités sanitaires dans le cadre de la surveillance malacologique routinière ont confirmé la réduction du nombre des gîtes de 533 en 1999 à 323 en 2005 (DELM, 1999 ; 2005).

Belkacem *et al.*, ont évalué l'impact positif de l'épandage du niclosamide et l'effet du curage répété des bassins et des puisards sur la densité et le taux d'infestation de *B. truncatus* dans le système d'irrigation de l'Oudaya (Belkacem *et al.*, 2006). Cependant, les produits dont nous disposons actuellement pour la lutte contre les bulins, n'aboutissent pas toujours à la destruction complète des populations de mollusques et sont moins efficaces contre les œufs des mollusques vecteurs ; par conséquent, le risque de transmission reste toujours présent. Ainsi, la disparition de *B. truncatus* peut être due à plusieurs phénomènes, à savoir :

- **Un phénomène biologique**, c'est-à-dire que le cycle biologique de ces escargots est irrégulier ce qui fait qu'il y'a des années où ils foisonnent. En effet, en 1947 et 1952, Gaud a signalé l'absence des bulins dans les canaux d'irrigation de Marrakech, alors que vingt ans plutôt Baltazard avait pu, en quelques jours, y récolter plus de 4 000 échantillons de *B. truncatus*. Notons que ces dernières années, la présence de ce mollusque a été signalée par les autorités sanitaires dans ces mêmes canaux d'irrigation (DELM, 2002). Donc, le développement de ces vecteurs, comme l'ont conclu Gaud et aussi Golvan (1990), est un phénomène très irrégulier (Golvan *et al.*, 1990, Barkia *et al.*, 2012).

- **Un phénomène anthropique** dû à la construction et l'exploitation du grand système d'irrigation, ce qui contribue à la réduction ou même la disparition des marais et Merja qui constituaient un habitat favorable à ces mollusques. D'après Laamrani *et al.*, (1999), contrairement à d'autres systèmes d'irrigation au Maroc Central et au Nord, la construction et l'exploitation du grand système d'irrigation du Gharb n'ont pas eu d'impact sur l'introduction de la schistosomiase. Selon ces auteurs, le système d'irrigation aurait contribué à la disparition de l'hôte intermédiaire et par conséquent à l'élimination de la schistosomiase de ce foyer de transmission connu.

L'utilisation intensive des pesticides et des engrais durant plusieurs décennies, la présence abondante du *Melanopsis praemorsa* qui est considéré comme un mollusque compétiteur de *B. truncatus* (Ghamizi *et al.*, 1998 ; El Ouali *et al.*, 1999), les travaux d'assainissement (comblement) et les années de sécheresse qui ont conduit à un assèchement total de ces gîtes, sont tous des facteurs de réduction du nombre des gîtes à l'échelle nationale.

II. 3.2. *Planorbarius metidjensis*

P. metidjensis est considéré comme un hôte intermédiaire expérimentale de *S. haematobium*, par plusieurs auteurs (Moukrim *et al.*, 1996), et comme un hôte possible par d'autres auteurs (Yacoubi *et al.*, 1999) mais non confirmé par l'OMS (Barkia *et al.*, 2013).

Yacoubi *et al.*, 1999 rapportent que les planorbes existent au Maroc à des altitudes de 340m à 1 380 m, présentent trois générations annuelles, diffèrent des observations effectuées en Espagne où l'espèce ne présente que deux générations annuelles. L'existence de ces trois

générations permet la présence de juvéniles tout au long de l'année, ce qui constitue un risque permanent de transmission de la maladie dans les habitats de *P. metidjensis*, car les juvéniles sont les plus sensibles à *S. haematobium*. À l'inverse des bulins qui vivent à faible altitude, les habitats de la planorbe se situent dans la haute vallée des oueds et leurs affluents. Ainsi, certain auteurs supposent que *P. metidjensis* pourrait être le principal mollusque hôte, lorsque l'altitude dépasse 500 m (Yacoubi *et al.*, 2007).

La répartition géographique et la densité de *B. truncatus*, et *P. metidjensis* varie d'une année à l'autre (Tableau 4), généralement selon les conditions climatiques. Le diagnostic des mollusques infectés se faisait dans le cas de recherche scientifique, par la technique de routine d'excitation photonique ou la dissection et recherche du parasite (Yacoubi *et al.*, 2007)

Tableau 4 : Répartition et densité des bulins et des planorbes au Maroc en 2004 (DELM, 2004)

Provinces et Préfectures	Secteur	Gîtes	Mollusque identifié		
		Recensé	Bulin	Plan	Autres
Agadir I. Outanane	4	4	0	0	34
AL Haouz	3	9	5	0	0
Assa Zag	1	1	0	0	139
Béni Mellal	8	14	591	0	3259 4
Berkane-Taourirt*	5	225	0	0	182
Chtouka Ait Baha	8	25	56	70	170
El kelaa	7	39	178	0	776
Errachidia	8	9	23	4	16
Figuig	1	8	0	0	0
Guelmim	1	1	0	14	0
Kénitra	4	4	0	0	25
Larache	7	9	0	0	1815
Marrakech	6	24	43	0	234
Nador	4	320	0	0	0
Tanger Asilah	1	2	0	0	0
Taroudannt	14	60	9	0	16
Tata	4	14	831	0	507
Tiznit	6	6	2	0	952
Zagora	5	6	0	0	0
Total	97	780	1738	88	37460

PARTIE II: ZONE D'ÉTUDE-MATÉRIELS ET MÉTHODES

Chapitre I: ZONE D'ÉTUDE

Depuis 1994, année de démarrage du processus d'élimination de la bilharziose, la situation épidémiologique de la bilharziose a été contrôlée dans la majorité des foyers. En 2004, le nombre de cas a chuté de 1108 en 1994, à seulement 8 cas en 2004 (DELM, 2004).

Cinq ans plus tard, aucun cas autochtone de bilharziose n'a été déclaré au Maroc (DELM, 2008). D'après l'OMS, la vérification de l'interruption de la transmission de la bilharziose urinaire doit être réalisée chez les enfants des régions à passé épidémiologique récent, avec présence de gîtes des mollusques vecteurs.

Les provinces ont été classées comme suit :

- les provinces indemnes ;
- les provinces ayant éliminées la maladie il y'a plus de 5 ans ;
- les provinces ayant éliminées la maladie il y'a moins de 5 ans ;
- les provinces en arrêt récent de la transmission, et qui sont Chtouka Aït Baha, Errachidia, El Kelaâ des Sraghna, Tata, Béni Mellal et Nador (Figure 21, Annexe 1).

Ces provinces ont fait l'objet de notre étude sérologique et malacologique. Néanmoins, la province de Nador a été éliminée de notre travail de recherche, vu l'absence de gîtes de bulins dans celle-ci durant la période de l'étude.

Pour l'étude sérologique, dans chaque province, nous avons sélectionné les secteurs et les localités où les derniers cas connus ont été détectés (Figures 22-26 et Tableau 5).

Pour l'étude malacologique, dans chaque province, nous avons sélectionné les stations à proximité des secteurs choisies dans l'étude sérologique. Chaque station représente un certain nombre de gîtes ayant le même biotope. Les prélèvements malacologiques sont effectués au niveau des points de contact homme/eau qui identifient les sites de transmission bulins/homme (lieux de lessive, baignade, irrigation ou autres) (Annexe 2 et 3).

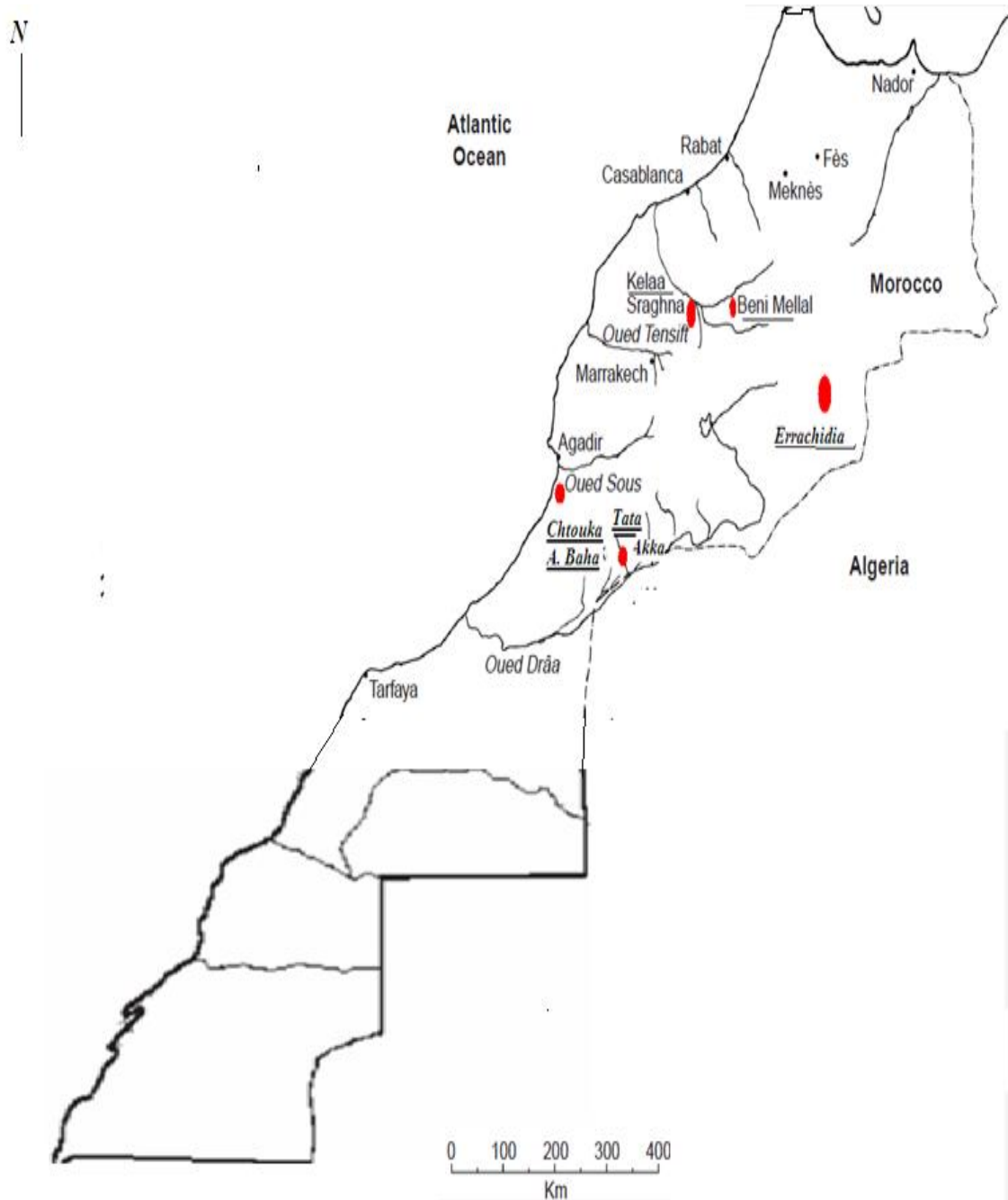


Figure 21 : Carte de la situation géographique des différentes provinces de l'étude
(Amarir *et al.*, 2011)

Tableau 5 : Différents secteurs cibles de l'étude sérologique de la bilharziose urinaire au Maroc, en 2009 (Amarir *et al.*, 2011)

Province	Secteur	Localité	Site de reproduction des escargots
Tata	Akka	Rahala	Traditionnel
	Akka	Taourirt	
	Tata	Agoujgal	
Chtouka Aït Baha	Targa	Laazite, Imzilene, Lmoudaa	Traditionnel
	Targa	Aït abdelhak, Tagadirt	
Errachidia	Kheng	Azrou	Traditionnel
	Mdaghra	Meski	
Kelaâ Des Sraghna	Zemrane	Hachadiya et charkia	Canaux modernes d'irrigation (artificielle)
	Attaouia	Ouled Marrak	
Béni Mellal	Krifat	Plan Agricole	Traditionnel (naturel)
	Bouaker	Laassara	

I. Tata

La province de Tata, située au Sud du Maroc, est le plus ancien foyer endémique de la bilharziose urinaire au Maroc. En 1983, un total de 3371 cas ont été détectés, et le taux d'incidence a été estimé à 34,39 / 1000 personnes (DELM, 1983).

En 2003, 60 % (75 cas) des cas déclarés au niveau national provenaient de cette province. La transmission s'est maintenue jusqu'à l'année 2004, où seulement 2 cas autochtones ont été signalés (DELM, 2004 ; 2005 ; 2006). La population totale de la province est estimée à 122 034 habitant dont 82 412 habitent les zones rurales.

Dans cette étude sérologique, nous avons sélectionné trois localités : Agoujgal du secteur de Tata, et Rahala et Taourirt du secteur d'Akka (Figure 22), situé dans le bassin du bas Drâa où l'agriculture dépend généralement d'un système d'irrigation traditionnel. Il couvre une superficie d'environ 1530 hectares (Connet *et al.*, 1937), et composé de 10 sources différentes avec des décharges émergentes sur les bords de la rivière d'Akka.

Les gîtes positifs aux bulins sont situés au niveau de 3 localités :

- Localité d'Agoujgal situé entre 2 gîtes : Tagoujgalte et Toufsirt ;
- Localité de Rahala regroupant 3 gîtes: Aïn Tahafit, Aïn Imazighen et Aïn Issoukine ;
- Localité de Taourirt, Aïn Tichoute et Aïn Tihirite.

La population dans cette oasis de palmiers est estimée à 13 000 personnes. La région a un climat saharien, hiver froid et sec et été chaud et sec (Ministère d'agriculture, 1996; Boelee *et al.*, 2004).

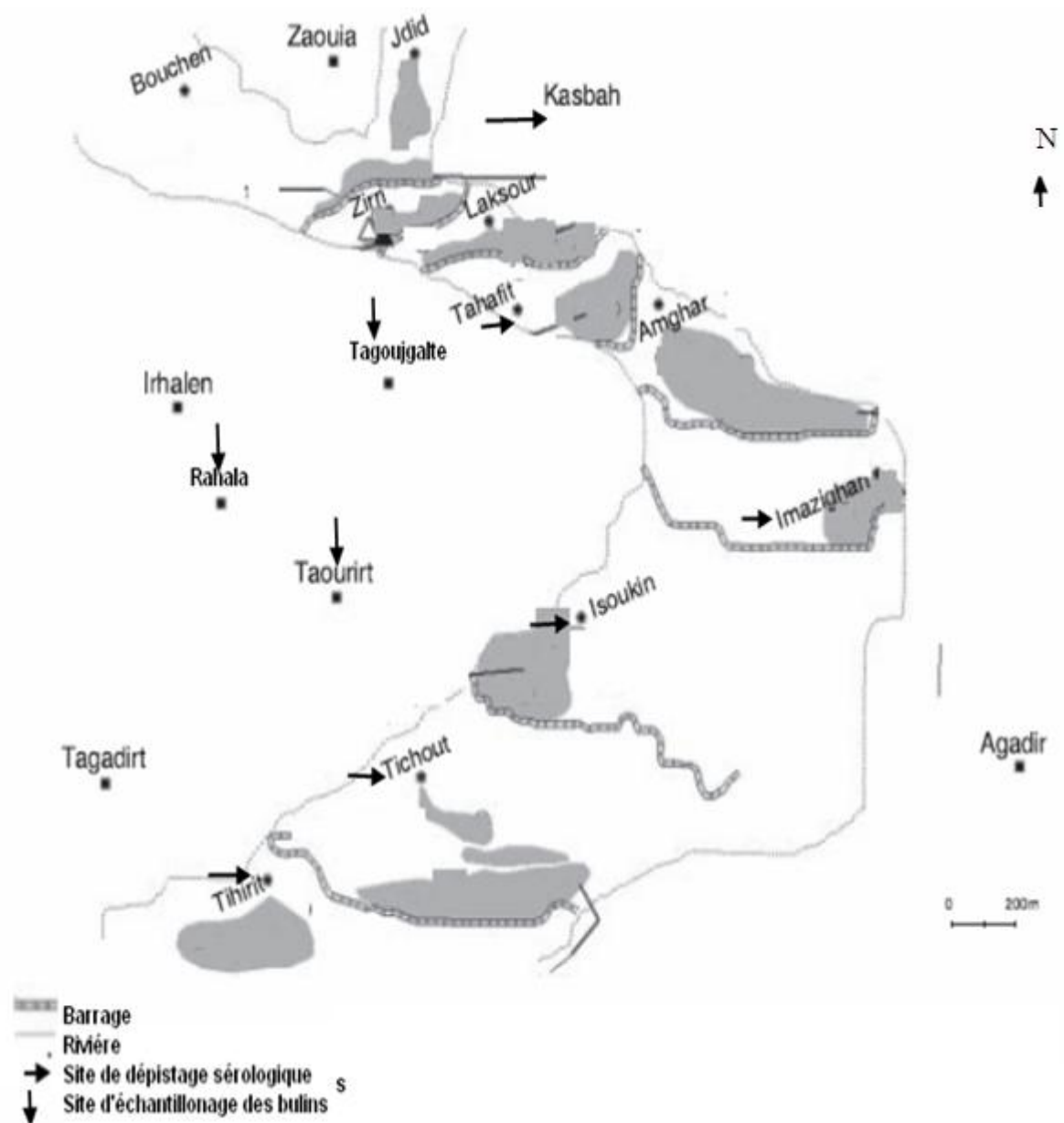


Figure 22 : Carte du secteur d' Akka de la province de Tata (Boelee *et al.*, 2004)

II. Chtouka Aït Baha

La province de Chtouka Aït Baha, située dans les montagnes de l'Anti-Atlas, est un ancien foyer endémique de la bilharziose urinaire. En 2001, 17 % (32 cas) du nombre total des cas détectés à l'échelle nationale ont été déclarés dans cette région, avec une prévalence de 60 % chez les personnes de plus de 60 ans, 40 % chez les personnes âgées de 30 à 59 ans, et 10 % chez les personnes âgées de 16 à 29 ans (WHO-EMRO, 2007). La population totale de la province est estimée à 309 140 habitant dont 266 148 habitent les zones rurales.

La transmission était maintenue dans ce foyer jusqu'à 2003, où huit cas ont été déclarés (Figure 23). Cette province a une superficie de 3,523 km² et une population de 320 000 habitants. Dans notre étude, nous avons choisi le secteur de Targa N'Touchka (localités de Laazite, Imzilene, Lmouda, Aït Abdelhak et Tagadirt) qui représente le point chaud de la bilharziose urinaire et où les huit derniers cas ont été détectés (Figure 23) (DELM, 2004 ; 2005 ; 2006).

La prospection malacologique sera réalisée aux points d'eau suivants : Aghou Niguer, Takchirane/Tizghine, Timintoudroute, Doussaghoute et Tamda N'Benmouss, représentant les points contact homme/bulins de la province.

Les gîtes positifs aux *B. truncatus* sont situés à la localité de Targa N'Touchka et sont au nombre de 6 : Tizghine, Imintandroute, Doussaghouch, Tamda NbenMouss, Aghour Niguer et Takchirane.

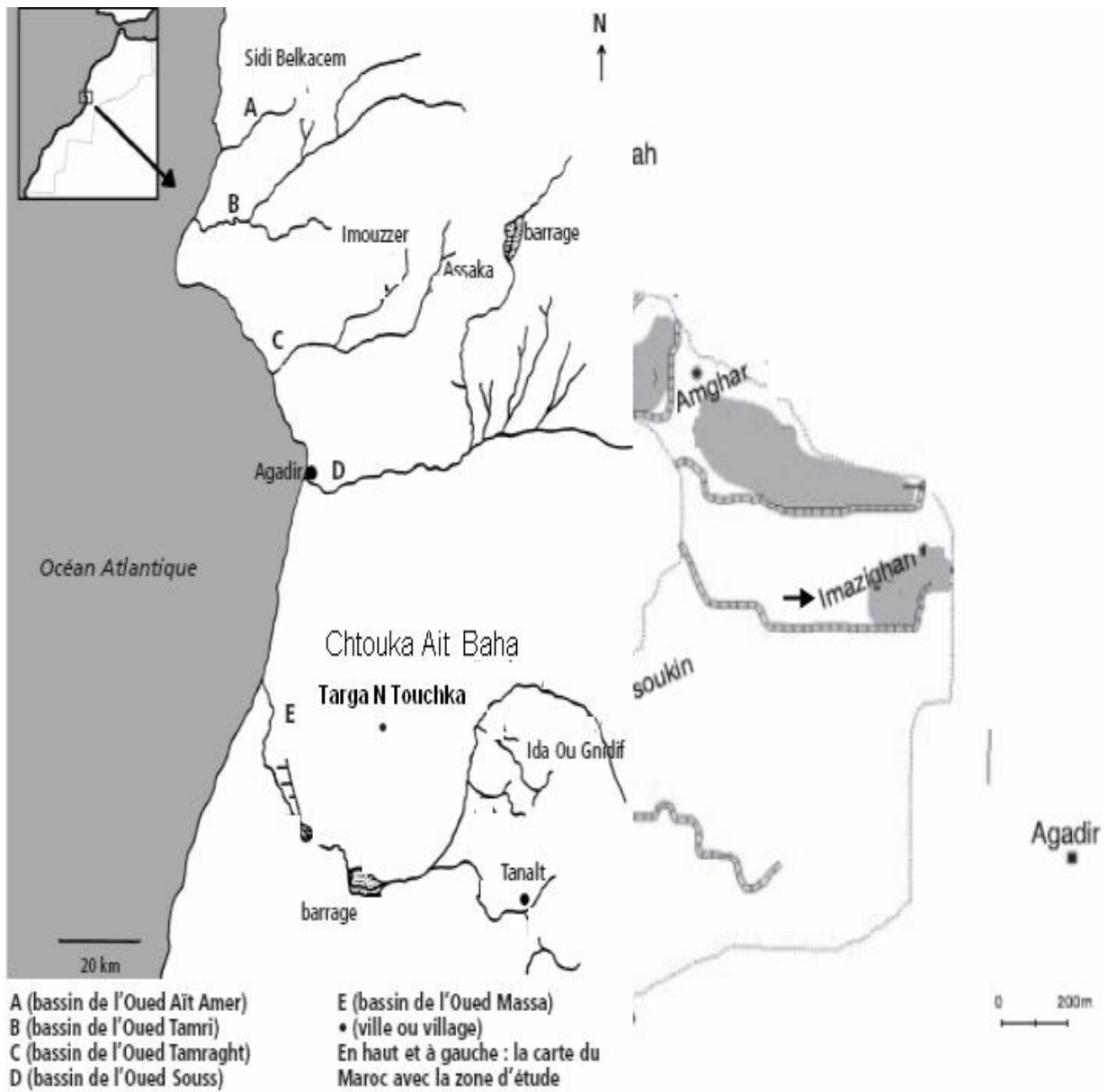


Figure 23 : Carte du secteur Targa N Touchka de la province de Chtouka Aït Baha (Yacoubi *et al.*, 2007)

III. Errachidia

La province d'Errachidia, située à l'Est du Maroc, est un grand foyer endémique de la bilharziose urinaire. En 1981, la prévalence était estimée à 60 % chez 2 000 personnes.

Une proportion de 80 % des cas étaient de la localité de Meski dans le secteur des Mdaghra et la localité d'Azrou dans le secteur de Kheng, situées sur Oued Ziz. Ces secteurs sont sélectionnés dans notre étude sérologique, avec les points contact d'eau associés: Agmmatine, Rjel, Louidi et Seguia.

La transmission a été documentée jusqu'à l'année 2004 (Figure 24) (DELM, 2004 ; 2005 ; 2006). En 2005, deux cas ont été détectés parmi les 23 125 personnes examinées (01 cas importé et 01 cas résiduels). La province d'Errachidia a une superficie de 59,585 km² et une population d'environ 600 000 personnes dont 359 127 personnes habitent les zones rurales.

La région a un climat désertique et l'agriculture dépend généralement d'un système d'irrigation traditionnel. Les apports d'eau viennent de l'Oued Ziz, Oued Ghris, Oued Todra et Oued Ferkla (Laaziri *et al.*, 1982 ; Doumenge *et al.*, 1984 ; Brahim *et al.*, 2008).

Le seul gîte positif aux bulins détecté est au niveau de l'Oued Ziz, à la localité de Meski. Les récoltes seront effectuées au niveau de trois points :

- Agmmatine : point d'eau où se fait la lessive et qui est un traversant vers l'autre rive d'Oued Meski ;
- Rjel : traversé par le canal d'évacuation des eaux usées de la station balnéaire Meski et qui présente une fuite dans ce point ;
- Louidi: lieu de lavage des légumes et vêtements, et c'est un traversant de la population vers l'autre rive en aval de Meski.

IV. EL Kelaâ des Seraghna

La province d'El Kelaâ des Sraghna est située au centre du Maroc, dans la wilaya de Marrakech. Les premiers cas sont détectés après la construction du barrage Moulay Youssef en 1970 (Lahlou *et al.*, 2001). En 1981, la prévalence de la bilharziose dans cette région était de 16,2 %, et la transmission s'est poursuivie jusqu'à l'année 2000 (un seul cas). En 2006, un cas résiduel a été détecté parmi 11 726 personnes examinées. Cette province a une superficie de 10,070 km² et une population de 775 000 personnes dont 573 188 habitent les zones rurales. El Kelaâ est traversée par l'Oued Lakhdar, Oued Tensift et Oued Chdat (Figure 25). Nous avons choisi deux secteurs caractérisés par une grande incidence de la maladie ou les derniers cas ont été détectés : Zemrane (localités de Hachadiya et Charkiya), et Laattaouiya (localité d'Ouled Marrek) (DELM, 2000). Les points contacts d'eau à proximité sont au niveau d'Ouled Marrek, Coop Falah, Coop Chabab et Coop Hahadia.

Les gîtes positifs aux *Bulinus* sont situés aux niveaux de 4 localités :

- Ouled Marrek, située entre 2 gîtes : Mbarkia et Noujania ;
- Coop Falah située à proximité de 2 gîtes : D6 et D7 ;
- Coop Chabab, situé à proximité du gîte D6 ;
- Coop Chahadia, abrite le gîte OGG

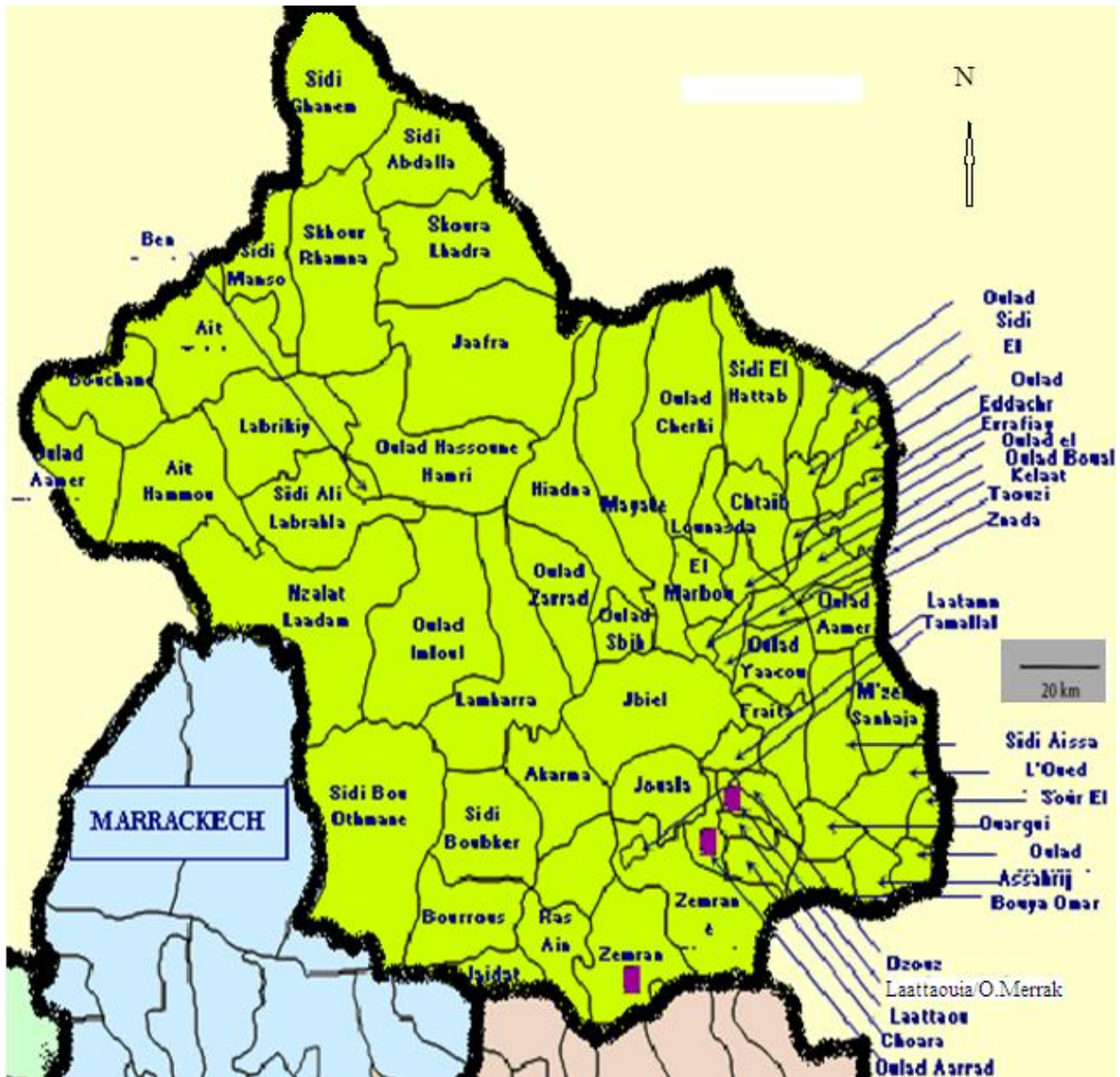


Figure 25 : Carte des secteurs sélectionnés de la province d'El Kelaâ Des Sraghna (Ministère de l'Intérieur, 2010)

Chapitre II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

Ce chapitre est subdivisé en trois parties selon les objectifs de l'étude :

- Une première partie est consacrée à la vérification de l'élimination de la bilharziose urinaire au Maroc, cinq ans après la déclaration du dernier cas. De ce fait, une étude sérologique et malacologique est réalisée, à Tata, Béni Mellal, Chtouka Aït Baha, El Kelâa des Sraghna et Errachidia.
- Une deuxième partie est consacrée à une approche de stratégie de veille sanitaire parasitologique et malacologique vigilante qui pourra appuyer la certification de l'élimination de la bilharziose urinaire du Maroc par l'OMS. L'approche est basée sur une analyse bibliographiques des performances des tests malacologiques et sérologiques, évalués au laboratoire, et/ou reportés dans la littérature.
- Une troisième partie est consacrée à l'évaluation du (des) test(s) le(s) plus performant(s), dans une étude pilote à la commune de Krifat de la province de Fkih Ben Saleh.

I. VÉRIFICATION DE L'ÉLIMINATION DE LA BILHARZIOSE URINAIRE AU MAROC

I. 1. Enquête sérologique

L'enquête sérologique dans les foyers à passé épidémiologique récent de la bilharziose urinaire au Maroc précités: Chtouka Aït Baha, Errachidia, Tata, Béni Mellal et El Kelâa des Sraghna.

I.1.1. Type et période

Il s'agit d'une étude descriptive transversale où on détermine la prévalence de la bilharziose urinaire, chez les populations des zones à passé épidémiologique récent, après cinq ans de la date d'interruption de la transmission de la bilharziose au Maroc notifiée en 2004. Les enquêtes ont été menées aux mois de mai, juin et juillet 2009.

I.1.2. Population d'étude

La population d'étude est représentée par les enfants nés avant et après l'année 2004, date du dernier cas de la bilharziose urinaire au Maroc. Elle est représentée par deux tranches d'âge :

- les enfants âgés de moins de 5 ans en 2009. Ces enfants sont les indicateurs de la nouvelle infection.
- les enfants âgés de 5 ans à 14 ans en 2009. Ces enfants sont l'indicateur de la transmission résiduelle de la maladie.

I.1.3. Variable

Un questionnaire a été rempli minutieusement (Annexe 4) ; il comporte les données suivantes :

- variables socio démographiques : nom, prénom, âge, sexe et adresse ;
- variables cliniques : symptômes urinaires ;
- variables CAP (connaissances, attitudes et pratiques) : facteurs d'exposition (natation ou autres), prise antérieure du traitement.

I.1.4. Éthique

L'étude a reçu l'approbation du Comité du Ministère de la Santé. La confidentialité et la sécurité des participants seront assurées. Le consentement sera obtenu des parents des enfants. Les échantillons biologiques seront recueillis en respectant les normes établies par le Ministère de la Santé.

I.1.5. Procédure

- **Critères d'inclusion**
 - Avoir moins de 16 ans au moment de l'enquête.
 - Avoir le consentement éclairé des parents de l'enfant (ou du tuteur légal) et l'assentiment des enfants de participer à la recherche.
 - Être disponible au lieu de dépistage le jour de la surveillance (centre de santé ou école)
 - Être originaire de la localité

- **Critères de non-inclusion**

- Enfants vivants dans d'autres lieux et sont de passage, ne sont pas inclus dans notre enquête sérologique.

- **Échantillonnage**

L'animateur, s'occupant des maladies parasitaire de la province, fait une liste des enfants âgés de 1 mois à 16 ans dans la localité et informe les parents des enfants listés, des objectifs de l'étude et de la date de la surveillance sérologique de la bilharziose. Les enfants absents le jour du dépistage sont considérés comme non consentants.

- **Dépistage et recrutement de la population d'étude**

Les enfants volontaires et leurs parents ont été largement informés des objectifs de la procédure de l'enquête, par l'animateur et le surveillant général de l'école. Les échantillons de sang prélevés sont étiquetés et joints aux questionnaires correspondants des enfants.

I.1.6 Prélèvement sanguin

Les échantillons de sang capillaire ont été recueillis entre le mois de mai et juin 2009. Les prélèvements sanguins des doigts, sont effectués à l'aide d'un vaccinostyle après désinfection du bout du doigt à l'aide d'un coton imbibé d'antiseptique.

Une piqûre est réalisée au niveau de la pulpe digitale, la goutte de sang est recueillie directement sur du papier buvard (papier filtre Nobuto) et immédiatement trompée dans un tube stérile contenant 900 µl de tampon d'extraction StabilZyme (SurModics, Inc, Edina, MN), dilué au 1/10 (Handali *et al.*, 2007). Les tubes sont conservés à 4 °C (Figure 27).



Figure 27 : Prélèvements sanguins réalisés pour l'enquête sérologique de la bilharziose urinaire au Maroc (INH, 2009).

1. Prélèvement sanguin du doigt sur la bandelette, 2. Solubilisation de la bandelette dans le stabilisant.

I.1.7. Collecte et analyse des données

Les informations démographiques, cliniques et autres, ont été collectées par un interrogatoire des enfants et des membres des familles (nom, âge, sexe, adresse, degré d'exposition à l'infection, activités favorisant l'exposition, traitements antibilharziens antérieurs, existence d'antécédents de diarrhée sanglante et d'hématurie). Les questionnaires ont été saisis dans le logiciel Excel 2007 (Annexe 5).

I.2. Étude sérologique

Les examens sérologiques des échantillons sanguins ont été effectués au laboratoire de Bilharziose de l'Institut National d'Hygiène de Rabat, par la technique Enzyme-Linked Blot

Immuno Electrotransfert (EITB), suite à une formation de 5 jours réalisée par un expert du CDC, Centers for Disease Control and Prevention, d'Atlanta (Dr Sukwan H.).

I.2.1. Principe de l'Enzyme-Linked Blot Immunoélectro-Transfert

S. haematobium EITB est un test qualitatif de diagnostic sérologique de la bilharziose urinaire. Les antigènes microsomaux des vers adultes de *S. haematobium* (HAMA), 31 kDa et 35 kDa, sont séparés, par électrophorèse sur gel de polyacrylamide, puis purifiés et fixés par électro-transfert sur la surface de bandelettes de nitrocellulose. Les bandelettes sont fournies, prêtes à l'emploi, par le laboratoire de Parasitologie du CDC d'Atlanta de l'USA.

Les anticorps anti-*Schistosoma*, 31 kDa et 35 kDa, éventuellement présents dans les prélèvements sanguins des sujets infectés (IgG), se fixent sélectivement sur les antigènes microsomaux présents sur les bandelettes. Chaque bandelette est ensuite incubée avec le conjugué goat anti-humain IgG-POD ladeled, qui se lie aux anticorps anti-*Schistosoma* précédemment fixés. Lors de la dernière étape, les immunocomplexes réagissent avec le substrat et sont révélés sous forme de bandes transversales violettes (Al Sherbiny *et al.*, 1999).

I.2.2 Mode opératoire

Les réactifs qu'on a utilisés sont reportés dans l'annexe 6.

On estime que la goutte de sang total, déposée sur le papier filtre, à un volume approximatif de 100 µl, elle est mise en suspension avec 900 µl de la solution stabilisante. On a ainsi une dilution de 1/10 du sang total et une dilution de 1/20 du sérum du sujet, puisque l'hématurie est estimée à 1/2.

Dans un canal de la plaque d'EITB, on dépose une bandelette sensibilisée par *S. haematobium* et 500 µl de la dilution du sérum du sujet (1/20), soit 100 µl de la dilution du papier filtre imbibé de sérum, 150 µl de PBS seul et 250 µl de la solution (PBS 0,6 % et Tween à 10 % et la poudre du lait). Après une incubation de 60 mn ± 5 mn à température ambiante sous agitation, les cupules sont lavées 4 fois par 2 à 3 ml de tampon de lavage dilué, PBS/0,3 % Tween. Une quantité de 500 µl du conjugué, spécifique des chaînes *gamma* humaines conjuguées à la peroxydase, est ajoutée à chaque canal, puis incubée à 37 °C pendant 60 mn ± 5mn à température ambiante et sous agitation. Après deux lavages par le PBS/Tween et deux lavages par PBS seul, la révélation de la peroxydase retenue est effectuée en ajoutant 500 µl de la solution du substrat chromogène OPD. L'incubation dure 10 minutes, à température

ambiante. L'observation du développement de la coloration toutes les 5 minutes, dure généralement entre 15 et 60 minutes.

L'arrêt est décidé lorsque les bandes éventuellement présentes sont bien contrastées par rapport à la couleur que prend la bandelette (gris-rosée).

L'arrêt se fait par l'aspiration du substrat et la distribution de 2 ml d'eau distillée dans chaque canal, puis son aspiration. Ce lavage est répété 10 fois. Les bandelettes sont séchées à l'air libre. La juxtaposition de la bandelette d'un échantillon et du standard de poids moléculaire (PM) coloré correspondant au lot des bandelettes, permet d'estimer le PM des bandes antigéniques révélées.

Le témoin positif de *S. haematobium* (provient du CDC d'Atlanta) et le témoin négatif étaient toujours insérés dans chaque manipulation pour contrôler d'éventuelles contaminations. L'échantillon qui se présente sous forme de 2 traits violets, qui correspondent aux protéines 31 et 35 kDa, sur la bandelette est interprété positif avec présence d'anticorps IgG anti-*Schistosoma* (Figure 28), (Amarir *et al.*, 2011).

I.3. Prospection malacologique

L'étude malacologique a été effectuée dans les provinces, à passé épidémiologique récent, prédéfinies dans l'étude sérologique : Béni Mellal, Errachidia, Tata, El Kelaâ des Sraghna et Chtouka Aït Baha (Amarir *et al.*, 2014). En 2008, l'aire de répartition de *B. truncatus* a été confirmée dans ces provinces.

I.3.1. Période

Les prospections malacologiques ont été menées en 2008, durant le mois d'avril à Tata, mai à El Kelaâ, et juin à Béni Mellal, Chtouka Aït Baha et Errachidia

I.3.2. Collecte des bulins

Les récoltes ont été effectuées au niveau des points contact homme/bulins (Figure 28), conformément à la méthode décrite dans le guide de la lutte contre la bilharziose du ministère de la santé du Royaume Maroc au niveau des canaux d'irrigation et des oueds (DELM, 1982).



Figure 28 : Points de contact homme/bulins au niveau des gîtes étudiés (INH, 2009)

1. Canaux d'irrigation lieu de baignade (El Kelâa),
2. Canaux d'irrigation lieu de lessive (El Kelâa),
3. Oued (Béni Mellal).

Dans un premier temps, une technique de recherche macroscopique, utilisée par plusieurs auteurs, est adoptée (Caméron *et al.*, 1980; Magin *et al.*, 1995; Gosteli, 1996). Les espèces visibles à l'œil nu sont ramassées à la main (Figure 29).

Pour les canaux d'irrigation et les oueds, une nasse rectangulaire (20 cm x 12,5 cm), munie d'un cadre tranchant recouvert d'un filet de maille ($d = 1\text{mm}$), a permis de racler les mollusques et la végétation de bordure leur servant de support (Khallaayoune *et al.*, 1992; Maqboul, 1996). Pour les autres gîtes, une nasse rectangulaire est poussée à travers la végétation ou sur la surface du substratum et le contenu est remué avec précaution avant d'être tiré. En procédant ainsi, on détache de la végétation la plupart des gastéropodes, et le contenu est mis dans un plateau à l'aide d'une pince, puis toutes les espèces de mollusques récoltées sont triées et mises dans une boîte à expédition. Une recherche complémentaire est faite à la main au niveau des pierres, des herbes, des feuilles et des branches immergées (Figure 29). Les mollusques récoltés sont ramenés au laboratoire où ils sont identifiés. La date de la récolte, l'heure, la durée et la fréquence ont été enregistrées dans les fiches de prospection.



Figure 29. Lieu de récolte des bulins au niveau des canaux d'irrigation (El Kelâa) et des oueds (Errachidia) (INH, 2009)

I.3.3. Identification et conservation

L'identification *in situ* de *B. truncatus* est réalisée par des techniciens d'hygiène expérimentés, de l'équipe du SIAAP (Service d'infrastructure d'actions ambulatoires provinciales et préfectorales) du Ministère de la Santé de chaque province, par référence à la morphologie comparée de la coquille (Figure 30, annexe 7).



Figure 30. Identification morphologique des bulins collectés et conservation dans de l'alcool dans des flacons étiquetés (INH, 2009)

B. truncatus est caractérisé par une coquille ovoïde globuleuse, spire courte 3-4 tours très convexes-bombés, le dernier tour dépassant la demi hauteur, ventru ovulaire, oblique ; test luisant, corné ambé long (Guide Bilharziose, 1982). Tout les bulins sont conservés dans de l'alcool dans des flacons étiquetés, et envoyés à l'INH pour confirmation et examen moléculaire (Figure 30).

I.4. Étude malacologique

L'étude moléculaire des bulins collectés des foyers à passé épidémiologique récent (Chtouka Aït Baha, Errachidia, Tata, Béni Mellal et El Kelâa des Sraghna), est réalisée à l'Unité de Biologie Moléculaire du Département de Parasitologie de l'INH, suite à une formation de 5 jours réalisée par un expert en malacologie de l'OMS (Professeur Abbasi Ibrahim).

I.4.1. Principe

L'analyse des bulins par biologie moléculaire, consiste à faire une extraction d'ADN des bulins, suivi d'une amplification de la séquence répétée spécifique des schistosomes à œuf à éperon terminal. C'est la séquence DraI (121 pb), site spécifique d'endonucléase. Le produit PCR est soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose, qui révèle la présence ou non de la bande 121 pb. Dans le cas de résultat positif par DraI PCR, la discrimination entre les espèces du groupe des schistosomes à œuf à éperon terminal, surtout entre *S. haematobium* et *S. bovis* (agent de la bilharziose chez les animaux), se fait par l'amplification d'une autre séquence répétée de *S. haematobium* (525 pb), nommée Sh110 Sm-SI, spécifique de *S. haematobium* puis révélation par électrophorèse (Hamburger *et al.*, 2001 ; Abbasi *et al.*, 2007, Amarir *et al.*, 2014).

I.4.2. Mode opératoire

I.4.2.1. Extraction de l'ADN par CTAB

Les réactifs utilisés sont reportés dans l'annexe 7. La méthode d'extraction utilisée est manuelle, nommé la méthode de bromure d'hexadécyltriméthylammonium (CTAB) décrit par Hamburger *et al.*, (2001) et Abbasi *et al.*, (2007).

Les bulins récupérés ont été séchés de l'alcool et débarrasser de leurs coquilles à l'aide d'une pince fine (Figure 31). Les bulins peuvent être regroupés en pool de 50 mg de masse total au maximum (3 à 5 bulins par pool) et broyés à l'aide d'un mini-broyeur électrique.

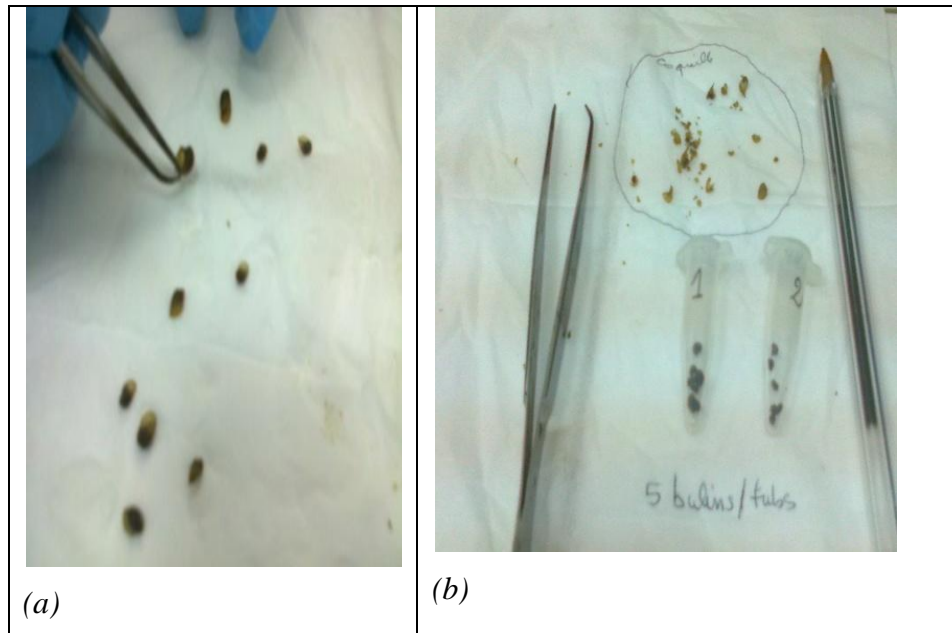


Figure 31 : Traitement des bulins collectés

Préparation des bulins à l'extraction par CTAB: séchage (a) et élimination de la coquille (b) (INH, 2009)

Le volume des tissus mous des bulins de chaque pool est ensuite estimé et incubé dans un volume égale, de 300 μ l à 400 μ l, de tampon de lyse CTAB (100 mM Tris-HCl pH 7,5, EDTA 20 mM, 1,4 M de NaCl, CTAB à 2 %, 0,2 % de 2-mercaptoéthanol) et 20 μ l de la protéinase K, à 60 °C pendant 1 à 2 heures, jusqu'à complète digestion. On estime le volume du lysat et on ajoute un volume égal de la solution Chisam (chloroforme et isoamyl alcool 1/24) (400 à 500 μ l). Après centrifugation à 14 000 rpm/min, on aspire le surnageant contenant l'ADN (vi) et on le met dans des tubes eppendoffs contenant 10 % du volume (vi) d'acétate de Na, puis on ajoute (2vi) de l'éthanol et on garde les échantillons à -20 °C à 70 °C pendant 30 min à une nuit. Après deux lavages de l'ADN (centrifugation à 14 000 rpm/min), suivi d'une aspiration du surnageant contenant l'alcool et mise en suspension dans 0,5 ml de l'éthanol à 70 %, puis centrifugation à 14 000 rpm/min, on sèche les tubes d'ADN par incubation dans un four à 50 °C et on les met en suspension dans 50 μ l de tampon TE (Tris 10 mM EDTA 1 mM; pH 8). Un éluât de 5 μ l d'ADN est convenable pour une réaction PCR.

I.4.2.2. Amplification par Dral-PCR

Pour l'amplification de la séquence Dral, nous avons utilisé les amorces suivantes : directe : GATCTCACCTATCAGACG et inverse : GTCACCAATAATATGAAAC.

Le protocole de l'amplification suivi est décrit par Abbasi *et al.*, (2007) ; l'amplification est réalisée dans un volume final de 50 μ l contenant 200 μ M des dNTP (1 μ l), 25 pmol de deux amorces Dral (directe: GATCTCACCTATCAGACG, inverse GTCACCAATAATATGAAAC) (1 μ l), 2,5 unités de Taq ADN polymérase (1 μ l) et 5 μ l d'ADN.

L'activation de l'amplification nécessite 1 min à 95 °C, suivie par 35 cycles de (1 min à 95 °C, 1 min à 58 °C, et 1 min à 72 °C), suivi d'une étape d'élongation à 72 °C pendant 10 min (Figure 32). Dans chaque manipulation PCR, 10 ng de l'ADN purifié de *S. haematobium* est utilisé comme contrôle positif. Ce contrôle est fourni par l'OMS. Un témoin négatif (eau) est toujours ajouté pour contrôler la contamination pendant la manipulation.

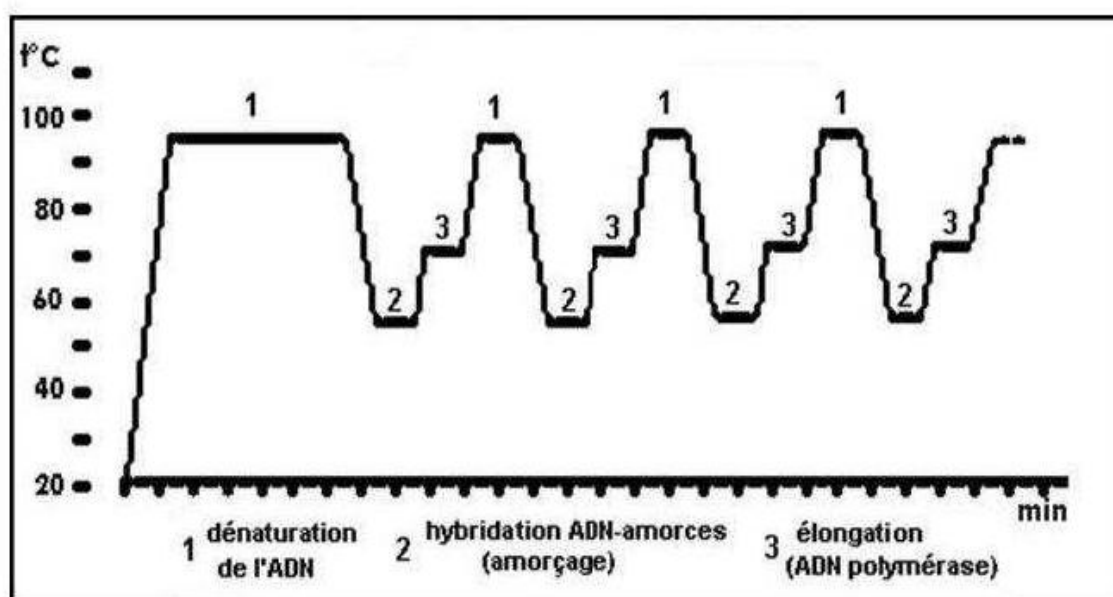


Figure 32 : Cycles thermiques de la PCR (Kouato *et al.*, 2005)

I.4.2.3. Amplification par Sh110-Sm-SI PCR

Pour l'amplification de la séquence Sh110-Sm-SI, nous avons utilisé les amorces suivantes :

- **Sh 110: 5'-TTC CCT CAA CTA ACC TCT CCT TAT-3')**
- **Sm SL : 5'-CAA CGT CAC GGT TTT CTT LOI GTG-3'** : amorce dérivée de *S. mansoni*

Le protocole de l'amplification suivi dans Sh110-Sm-SI PCR est le même que celui de DraI PCR.

I.4.2.4. Électrophorèse

Les produits de l'ADN amplifié sont analysés par électrophorèse sur gel et les bandes colorées avec du bromure d'éthidium sont visualisées à l'aide d'une trans-illumination à UV. La migration du produit de l'amplification est réalisée sur un gel d'agarose à 1,2 % (avec 10 µl du bromure d'éthidium) pendant 45 min à 90 V dans un tampon de migration (0,04 M Tris-Acetate- 0,001 M EDTA).

Des marqueurs de poids moléculaires de 1 000 pb sont déposés et migrent parallèlement à l'ADN de l'échantillon.

Une image des bandes du gel est prise en l'exposant aux UV dans la chambre noire du transilluminateur avec caméra. En comparant la distance de migration et la taille de ces bandes avec celle du marqueur, on peut estimer le poids moléculaires des séquences d'ADN et la concentration de l'extrait d'ADN des spécimens et par suite, interpréter les résultats (si nécessaire, on dilue l'extrait d'ADN, pour mieux visualiser le profil de l'échantillon). Les bandes DraI et Sh110 Sm SI mesurent, respectivement, 121 pb et 525 pb.

II. APRÈS ÉLIMINATION DE LA BILHARZIOSE À *S. HAEMATOBIIUM*: APPROCHE DE DIAGNOSTIC ET DE SURVEILLANCE/VEILLE SANITAIRE

Le contrôle de la bilharziose urinaire au Maroc passe, de la phase du contrôle de la transmission à la phase de l'élimination de la maladie (Annexe 8). La stratégie de diagnostic de la bilharziose urinaire dans notre pays, est basée sur l'examen microscopique des urines et l'hématurie. Les prospections malacologiques consistent à notifier la présence ou l'absence de *B. truncatus* dans les gîtes sans évaluation de leur inféctivité. Pour maintenir l'élimination et prévenir la réémergence de la maladie, il est primordial d'ajuster cette stratégie et de la renforcer. Selon les recommandations de l'OMS, et plusieurs articles scientifiques récents (Figure 33) (Zhou *et al.*, 2011), la surveillance sérologique est plus sensible que la surveillance parasitologique dans les aires de faible endémicité ou ayant éliminés la maladie. Or, le choix du test sérologique le plus approprié n'est pas facile ni arbitraire. Le test candidat pour être adopté dans la surveillance nationale, doit être non invasif pour les enfants, facile, spécifique pour *S. haematobium*, sensible dans les aires à faible endémicité rapide et pas cher.

Prévalence	15%	10%	5%	1%	0%	
Control	Morbidité		Infection	Transmission	Interruption de la transmission	Elimination
Technique de diagnostic	Examen direct/sérologie		Tests sérologiques		Tests sérologiques chez les enfants	
Sensibilité et spécificité	Sensible et spécifique	Hautement sensibles et spécifiques			Hautement sensibles et spécifiques moins chers	
Technique d'identification pour le traitement	Questionnaire (simple, sensible, moins cher)	Test sérologique Hautement sensible et spécifique		Test sérologique avec détection des antigènes Hautement sensibles et spécifiques		
			Aire à faible endémicité			

Figure 33 : Techniques de diagnostic de la bilharziose en fonction de la prévalence de la maladie (Zhou *et al.*, 2011)

Quand la prévalence de la maladie tend vers zéro, la surveillance malacologique paraît primordiale pour évaluer la transmission homme/bulins. Néanmoins, les tests de diagnostic doivent être très sensibles pour détecter les infections prépatentes des bulins.

Une synthèse de l'information disponible dans la littérature sur les tests de diagnostic de la bilharziose urinaire (sérologique et malacologique), dans les aires à faible endémicité est réalisée pour décider des outils épidémiologiques à adopter. Une approche de diagnostic et de surveillance, avec des indicateurs de suivi épidémiologiques sensibles, sera proposée et discutée.

Définition utilisée :

Diagnostic humain : le test approprié est un test rapide, adapté au terrain, sensible dans les aires de faible endémicité.

Diagnostic malacologique : le test approprié est un test capable de détecter les infections prépatentes et/ou discriminer entre *S. haematobium* et *S. bovis*.

Elimination: consiste à maintenir l'incidence à zéro % pendant cinq ans consécutifs après la date du dernier cas (2004-2009)

Certification: la certification de l'élimination de la bilharziose urinaire par l'OMS, consiste à maintenir l'incidence à zéro %, pendant au moins dix ans consécutifs après la date du dernier cas (2004-2014), les indicateurs épidémiologiques de la surveillance/veille sanitaire doivent être très sensibles (tests sérologiques de détection des anticorps, au lieu de l'examen direct des urines), présenter des arguments sérologiques et malacologiques qui doivent être évalués par un audit externe (experts de l'OMS) (WHO, 2008).

II.1. Source d'information

- **Revue systématique de la littérature**

La recherche s'est intéressée aux publications en anglais ou en français, de la période 1990 à 2013, en utilisant les moteurs de recherches suivants : Pub Med, Google Scholar, Web of

Science, Hinari and Sciences direct (Charles *et al.*, 2013). Les publications sur la bilharziose urinaire, analysées sont celles comportant un des mots clés suivants: Schistosomose, *S. haematobium*, *Bulinus truncatus*, diagnostic, test rapide, évaluation, étude comparative, aire à faible endémicité (AFE), gestion de la surveillance parasitologique après élimination de la bilharziose, gestion de la surveillance malacologique après élimination de la bilharziose.

“**La littérature grise**”: nous avons contacté des experts internationaux pour compléter nos connaissances et prendre des décisions éclairées sur les performances des tests, dans les aires à faible endémicité ou chez les personnes ne présentant pas d’œufs dans les urines. Nous avons contacté les experts du CDC d’Atlanta aux **USA**; Jiangsu Institute of Parasitic Diseases of **China**; Theodor Bilharz Research Institute - Schistosome Biological Supply Center, Imbada, **Egypte**; Service des infections parasitaires, Hôpital universitaire de Rio de Janeiro, **Brésil**; Département de médecine d'urgence; University Hospitals -Case Medical Center, Université Case Western Reserve **USA**; et Leiden University Medical Center, Department of Molecular Cell Biology **The Netherlands (Hollande)**.

Les informations sur le coût de revient de chaque test de diagnostic seront obtenues à partir des publications scientifiques ou par contact, par courrier électronique (e-mail) ou téléphone, avec l’auteur principal de l’article ou le délégué de la société qui le commercialise.

- **Critères d’inclusion :**

Toutes les publications réalisées sur les aires de faible endémicité, présentant un test de diagnostic rapide de la bilharziose urinaire et mesurant sa sensibilité et sa spécificité par rapport à l’examen microscopique, sont incluses.

II.2. Synthèse des résultats

Les données sur la sensibilité, la spécificité, le coût, le pays d’évaluation et l’utilité de tous les tests adaptés aux aires à faible endémicité de la bilharziose urinaire seront regroupées et analysées. La sélection ciblera les tests rapides les moins chers.

- **Test sérologique :**

L'approche de diagnostic de la bilharziose urinaire dans la phase post élimination, doit respecter la recommandation de l'OMS d'adopter le test sérologique de détection des anticorps comme test de premier screening. Le test de détection des antigènes est le test de 2ème ordre, pour confirmer l'infection active chez les sujets séropositif.

De ce fait, l'approche de diagnostic sera une combinaison d'au moins deux tests:

- Le test de détection des anticorps anti *S. haematobium* (RDT-Ac) +/- le test de détection des antigènes de *S. haematobium* (RDT-Ag).

Plusieurs kits de tests rapides, de détection des anticorps et des antigènes schistosomiens, seront proposés d'après la littérature. Plusieurs combinaisons de tests rapides (RDT-Ac+ RDT-Ag) seront possibles dans l'approche de diagnostic de la bilharziose urinaire.

La sélection la plus performante, de la combinaison des tests rapides, dépend des performances, commercialisation et du coût des tests.

- **Test malacologique :**

Une recherche bibliographique est réalisée pour déterminer les tests malacologiques disponibles, leurs caractéristiques, leurs performances et les coûts. Une étude comparative des tests sera réalisée afin de déterminer le test ayant le meilleur rapport qualité/prix.

II.3. Gestion de la surveillance/veille sanitaire humaine et malacologique

Des logigrammes détaillés de la gestion de la surveillance parasitologique et malacologique de la bilharziose urinaire, après élimination, seront présentés et discutés.

Des réunions internes avec le personnel du laboratoire de la Bilharziose, la Direction de l'INH, le service des maladies parasitaires et vecteurs, la direction d'épidémiologie et de lutte contre les maladies du Ministère de la Santé en Mars 2014, seront programmées pour discuter les indicateurs épidémiologiques présentés dans les logigrammes de veille sanitaires proposés.

III. ÉTUDE MALACOLOGIQUE PILOTE PAR DRAI/SH73 PCR: ARGUMENT POUR LA CERTIFICATION DE L'ÉLIMINATION DE LA BILHARZIOSE

Dans les zones où *S. bovis* et *S. haematobium* sont sympatriques, l'analyse par DraI PCR seule ne différencie pas ces deux espèces. La confirmation par Sh110 Sm SL PCR, spécifique de *S. haematobium* est indispensable, car elle n'amplifie pas *S. bovis*. L'utilisation de deux PCR simultanément, nécessite des ressources humaines, du temps et plus de réactifs.

La technique PCR DraI/sh73, récemment développée en 2012, spécifique à la fois de *S. bovis* et *S. haematobium*, peut remplacer l'utilisation simultanée des deux PCR (DraI et Sh110 SmSL PCR) et mérite d'être évaluée dans une étude malacologique de masse au Maroc.

III.1. Collecte des bulins

L'étude malacologique a été effectuée au gîte 'prise 13' situé à 3 Km de la localité de Ouled Abdoune, commune Krifat de la nouvelle délégation de Fkih Ben Saleh (Figure 26).

Les prospections malacologiques ont été menées en décembre 2013. Les récoltes ont été effectuées au niveau d'une canalisation brisée non fonctionnelle. Il s'agit d'un puisard isolé à eau stagnante que la population utilise pour la baignade, la lessive et l'irrigation.

III.2. Mode opératoire de la PCR DraI/73

L'étude moléculaire des bulins est réalisée à l'Unité de Biologie Moléculaire du Département de Parasitologie de l'INH, suivant le protocole décrit par Abbasi *et al.* (2012).

L'extraction d'ADN des bulins est réalisée par la méthode CTAB. Pour l'amplification, nous avons utilisé la combinaison des amorces suivantes:

Sh 73 direct: CCTTGGTCACGTGATTTTC

DraI reverse primer: TCACAACGATACGACCAAC

L'activation de l'amplification nécessite 5 min à 95 °C, suivie par 35 cycles de 1 min à 95 °C, 1 min à 58 °C, et 1 min à 72 °C. L'étape d'élongation est effectuée à 72 °C pendant 10 min.

III.3. Évaluation de la PCR DraI/73

Une série de manipulations est réalisée, pour déterminer la meilleure concentration du témoin positif à adopter pour le test.

Le témoin positif de *S. haematobium* est fourni par l'OMS à une concentration de 200 ng/ml.

Le témoin positif de *S. bovis* sert à visualiser les bulins infectés par ce parasite dans les gîtes ou les deux espèces sont sympatriques.

Vu l'absence du témoin positif de *S. bovis* dans notre laboratoire, nous utiliserons les extraits d'ADN des bulins infectés par *S. bovis*, révélés par DraI PCR dans notre première étude de 2009. Nous nous référons à la figure 1 (A) de l'article de Abbasi *et al.* (2012), comme profil référence de *S. bovis* (Figure 34).

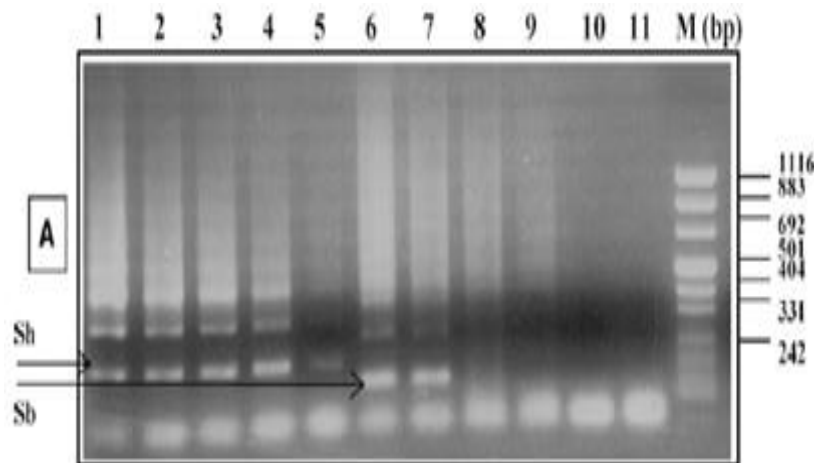


Figure 34. Profil électrophorétique de *S. haematobium* et *S. bovis* par DraI/sh73 PCR (Abbasi *et al.* 2012)

Un témoin négatif (eau) est toujours ajouté pour contrôler la contamination pendant la manipulation.

La migration du produit de l'amplification est réalisée sur un gel d'agarose à 1,2 % (avec 10 µl du bromure d'éthidium) pendant 45 min à 80 V, 80mA, dans un tampon de migration (0,04 M Tris-Acetate- 0,001 M EDTA).

III.4..Analyse moléculaire des bulins par PCR DraI/Sh73

Les pools des extraits d'ADN, regroupés en 5 bulins, seront analysés par la PCR DraI/Sh73. Les résultats seront interprétés par références aux témoins positifs et négatifs et aux marqueurs de taille selon Abbasi *et al.* (2012).

La PCR DraI/Sh73 révèle les bandes de 200 pb et 350 pb, dans les extraits de bulins infectés par *S. haematobium*, et les bandes de 150 pb et 300 pb dans les extraits de bulins infectés par *S. bovis*.

PARTIE III: RÉSULTATS

➤ Étude sérologique

Un total de 2382 enfants, provenant des 12 localités des 5 foyers historiques de la bilharziose urinaires au Maroc, ont été dépistés. Une proportion de 23,1 % des enfants (nombre = 551) avaient un âge de moins de 5 ans, 42,4 % (1010) étaient âgés de 6 à 10 ans et 34 % (810) avaient plus de 11ans. Un total de 52,6 % (nombre = 1253) étaient des garçons et 47,4 % étaient des filles (Figure 35 et 36) avec un sexe ratio de 1.10..



Figure 35 : Répartition de la population d'étude sérologique de la bilharziose urinaire au Maroc, selon le sexe, en 2009

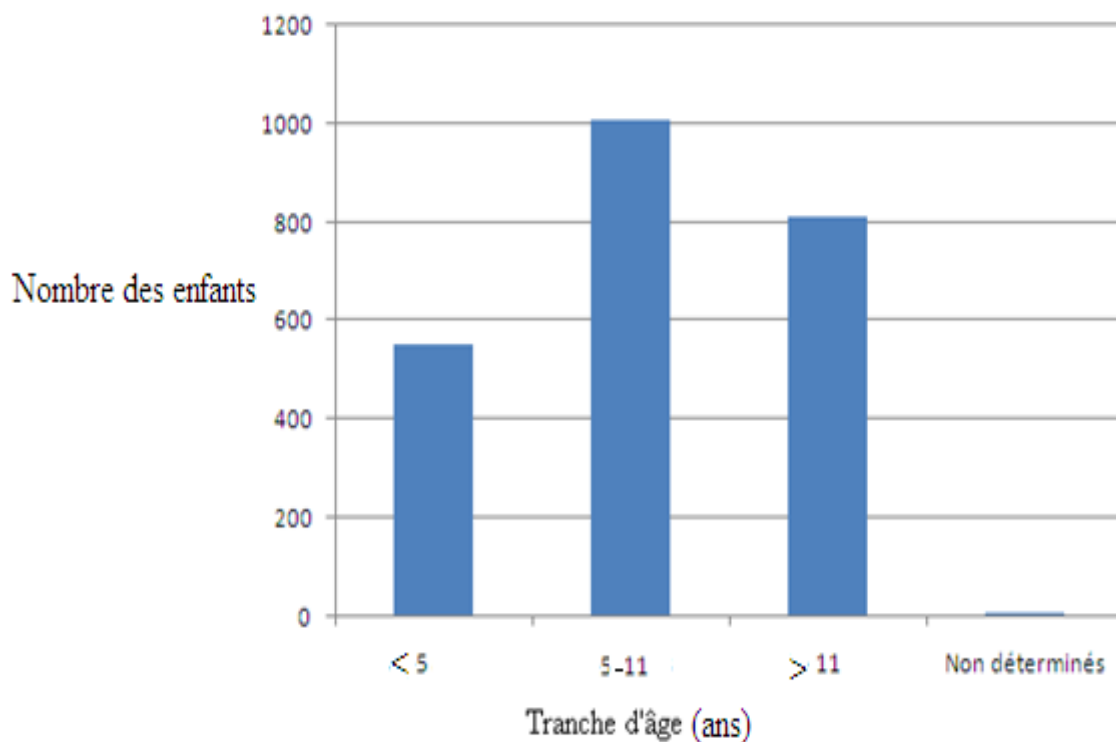


Figure 36 : Répartition de la population d'étude sérologique de la bilharziose urinaire au Maroc, selon l'âge, en 2009

Tous ces enfants n'ont jamais contracté la bilharziose et n'ont jamais reçu un traitement contre cette maladie. A l'exception de deux cas d'hématurie, le reste des enfants testés (99,9 %) ne présente aucune manifestation clinique évocatrice de la bilharziose. 51 de ces enfants se baignent dans les canaux d'irrigation (2,14%), (Annexe 3).

L'analyse des 2382 échantillons de sérums, par la technique HAMA EITB (Tableau 6), a montré l'absence des anticorps anti *S. haematobium* chez les enfants nés après la date du dernier cas (indicateur d'infection récente) de schistosomiase au Maroc et même chez les enfants plus âgés (indicateur d'infection résiduelle) (Figure 37). La répartition sectorielle des sujets de l'étude sérologique est représentée dans l'annexe 9.

Tableau 6. Résultats sérologiques de la bilharziose urinaire des enfants dépistés au Maroc en 2009 à Errachidia, Chtouka Aït Baha, Béni Mellal, Tata et El Kelaâ des Sraghna.

Province	Secteur	Localité	N ^{bre} sérum	Tranche d'âge				Résultats EITB
				<5	5-11	>11	ND	
Tata	Akka	Rahala	210	36	91	83		Négatif
	Akka	Taourirt	203	37	107	59		Négatif
	Tata	Agoujgal	216	56	95	63	2	Négatif
Chtouka Aït Baha	Targa	Laazite, Imzilene Lmouda	211	2	124	84	1	Négatif
	Targa	Aït Abdelhak Tagadirt	208	24	102	82		Négatif
El Kelaâ des Seraghna	Zemrane	hachadiya et Chrakiya	201	36	85	80		Négatif
		Diar	61	4	24	33		Négatif
	Attaouiya	Oued Marek	135	20	64	51		Négatif
Béni Mellal	Krifat	Plan agricole	209	85	72	52		Négatif
	Bouaker	Laasara	200	39	74	86	1	Négatif
Errachidia	Kheng	Azrou	210	97	64	48	1	Négatif
	Mdaghra	Meski	318	115	108	89	6	Négatif
Total (%)			2382	515(23)	1010(42)	810(34)	11(0.5)	(100)

ND: non déterminés

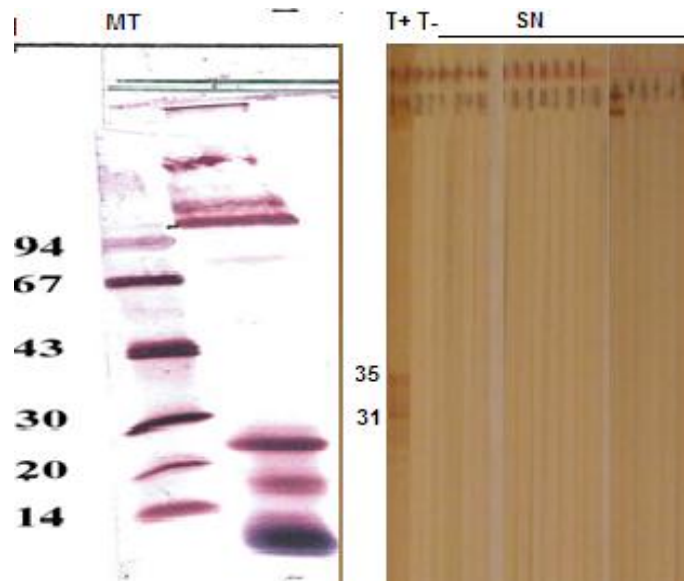


Figure 37 : Série des bandelettes HAMA EITB négatives

MT: Profil de migration des marqueurs de taille, T+: bandelette de sérum témoin positif, T- : bandelette de sérum témoin négatif, SN : échantillons sérologiques négatifs

➤ Étude malacologique

L'échantillonnage des bulins est fait dans chaque gîte, le matin, pendant une semaine. Suite à plusieurs dragages, un total de 2703 bulins a été collecté. L'abondance des bulins varie d'un gîte à un autre ; Chtouka Aït Baha représente la plus grande abondance de *B. truncatus* (960 bulins / 35,5 %), suivi de Béni Mellal (610 bulins / 23 %), Tata (600 bulins / 22 %), El Kelaâ des Sraghna (432 bulins / 16 %) et Errachidia (101 bulins / 3,8 %).

L'examen moléculaire de l'infestation des bulins par des schistosomes a montré des résultats qui varient d'une province à une autre. Les résultats du DraI PCR ont montré que les bulins récupérés des gîtes d'Errachidia et des six gîtes de Chtouka Aït Baha ne sont pas infectés par les schistosomes du groupe *haematobium* (Figure 38, Tableau 7), ce qui prouve l'absence de l'infection parasitaire patente et prépatente (Amarir *et al.*, 2014).

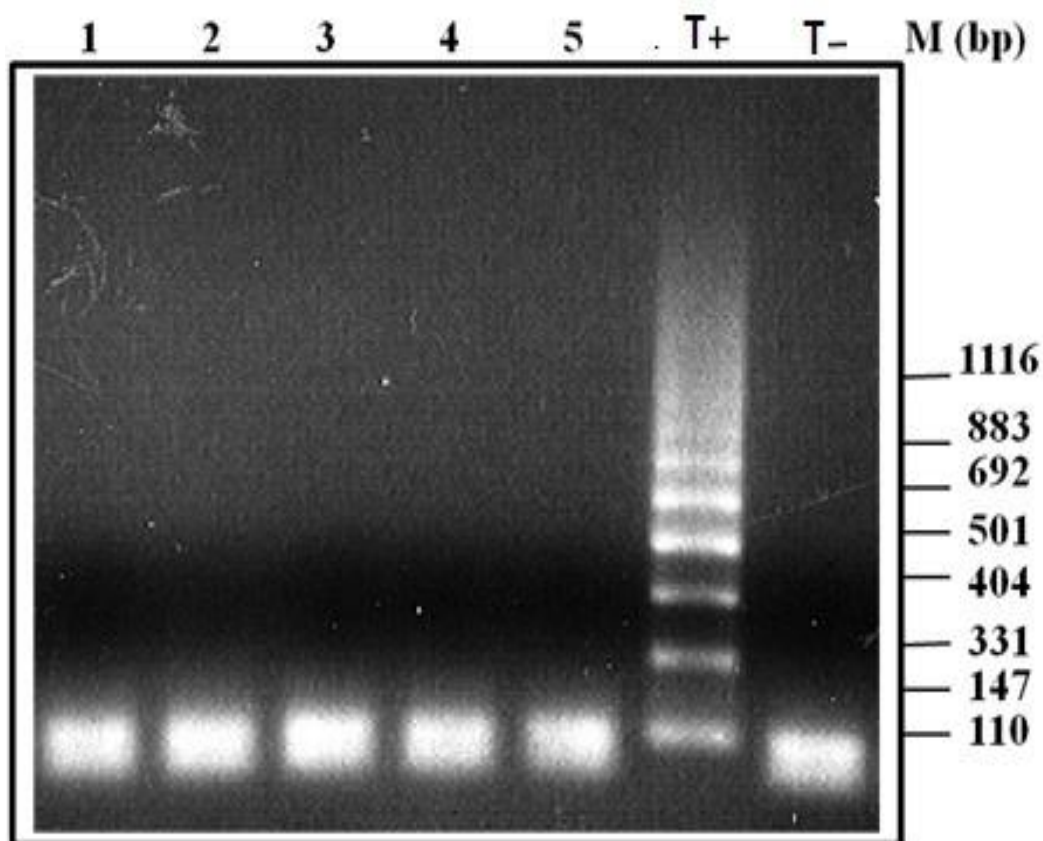


Figure 38 : Résultats de l'analyse par la PCR DraI des bulins collectés aux gîtes de Chtouka Aït Baha et Errachidia en 2009.

Lignes 1-5 : Pool des extraits d'ADN de 5 bulins par ligne, T+ : Témoin Positif d'ADN de *S. haematobium*, T- : pas d'ADN, M : marqueur de taille (bp : paire de bases)

Tableau 7. Résultats de l'examen moléculaire par la PCR DraI et la PCR Sh110 SmSI des bulins récoltés au Maroc, en 2009

Province	Localité	Nom du gîte des bulins	Nombre des bulins collecté (nombre de pools)	Nombre de pools positifs par DraI PCR (%)	Nombre de groupe de bulins positifs par Sh110SmSI PCR	
Chtouka Aït Baha	Targa N°Touchka	Aghou Niguer	200 (52)	0	---	
		Takchirane/Tizghine	200 (48)	0	---	
		Timintoudroute	250 (66)	0	---	
		Doussaghouch	210 (54)	0		
		Tamda N°Benmouss	100 (24)	0	---	
Total			960 (224)	0	---	
Errachidia	Meski Oued Ziz	Agmmatine Et Rjel	12 (4)	0	---	
		Louidi	30 (7)	0	---	
		Seguia Meski	59 (13)	0	---	
Total			101 (24)		---	
Tata	Agoujgal (2)	Agoujgal /tagoujgalt	150 (34)	0	---	
		Agoujgal/toufssirt	150 (36)	0	---	
	Rahala (3)	Rahala in tahafit	40 (12)	6 (3)	0	
		Rahalaïn imazighen	60 (18)	10(5)	0	
		Rahala/ain issoukine	50 (14)	5(2,5)	0	
	Taourirt (2)	Taourirt/ain tichoute	100 (32)	22(11)	0	
Taourirt /ain tihirite		50 (12)	12(6)	0		
Total			600 (158)	55(27,6)		
El Kelaâ Des Sraghna	Oued Marrek	Mbarkia	107 (34)	0	---	
		Noujania	3 (1)	1(0,5)	0	
		Coop Falah	D7	77 (17)	9(4,5)	0
		CoopChabab	D6	142 (38)	20(10)	0
		Coop Hahadia	D3	83 (41)	2(1)	0
		OGG2	20 (4)	2(1)	0	
Total			432 (99)	34(17,08)		
Béni Mellal	Laasara	SD7 10	160 (32)	25(12,57)	0	
		SD6	150 (30)	24(12,06)	0	
	Oulad Abdoun-krifate	D4	300 (84)	61(30,65)	0	
Total			610 (146)	110(55,3)	0	
TOTAL général			2703 (651)	199(100)	0	

Les gîtes qui se sont révélés positifs par DraI PCR sont les localités de Rahala et Taourirt pour la province de Tata, et les localités d'El Kelaâ des Sraghna et Béni Mellal (figure 39).

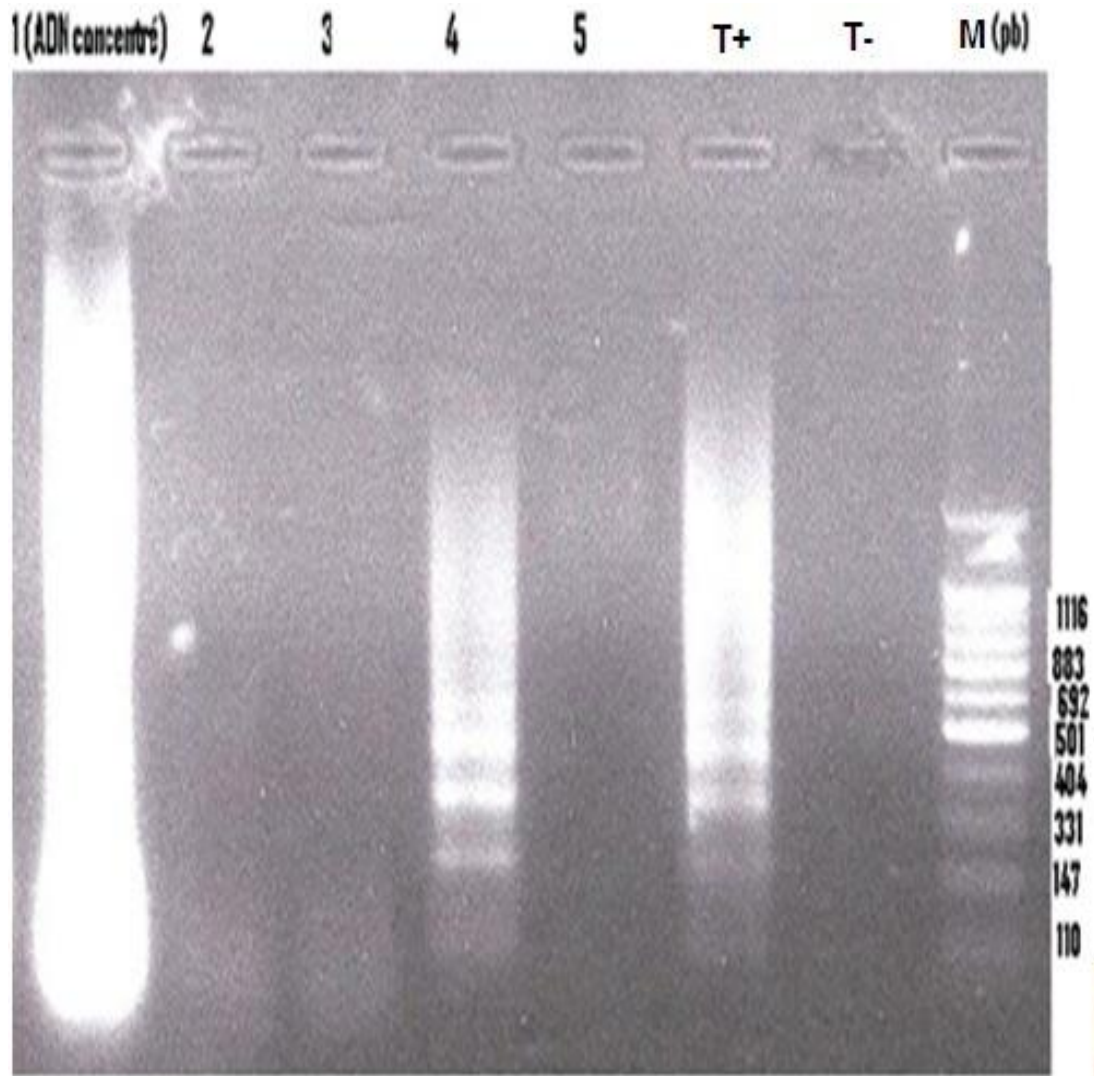


Figure 39 : Résultats de l'analyse par la PCR DraI des bulins collectés aux gîtes de Tata, El Kelaâ des Sraghna et Béni Mellal en 2009

Lignes 1-5 : résultats de l'analyse par la PCR DraI des bulins testés (pool de 5 bulins par ligne). 1 : échantillon dont l'ADN est très concentré ; 2, 3 et 5 échantillons négatifs ; 4 échantillon positif ; Témoin positif : T+, ADN de *S. haematobium* ; Témoin Négatif : T-, pas d'ADN ; M: marqueur de taille (bp : paire de bases).

Les extraits d'ADN des bulins positifs, par la PCR DraI, ont été analysés par la PCR Sh110/Sm-SI, qui amplifie l'ADN de *S. haematobium* et n'amplifie pas l'ADN de *S. bovis*. Le résultat a montré l'absence de trace d'ADN de *S. haematobium* chez tous les bulins (Figure 40).

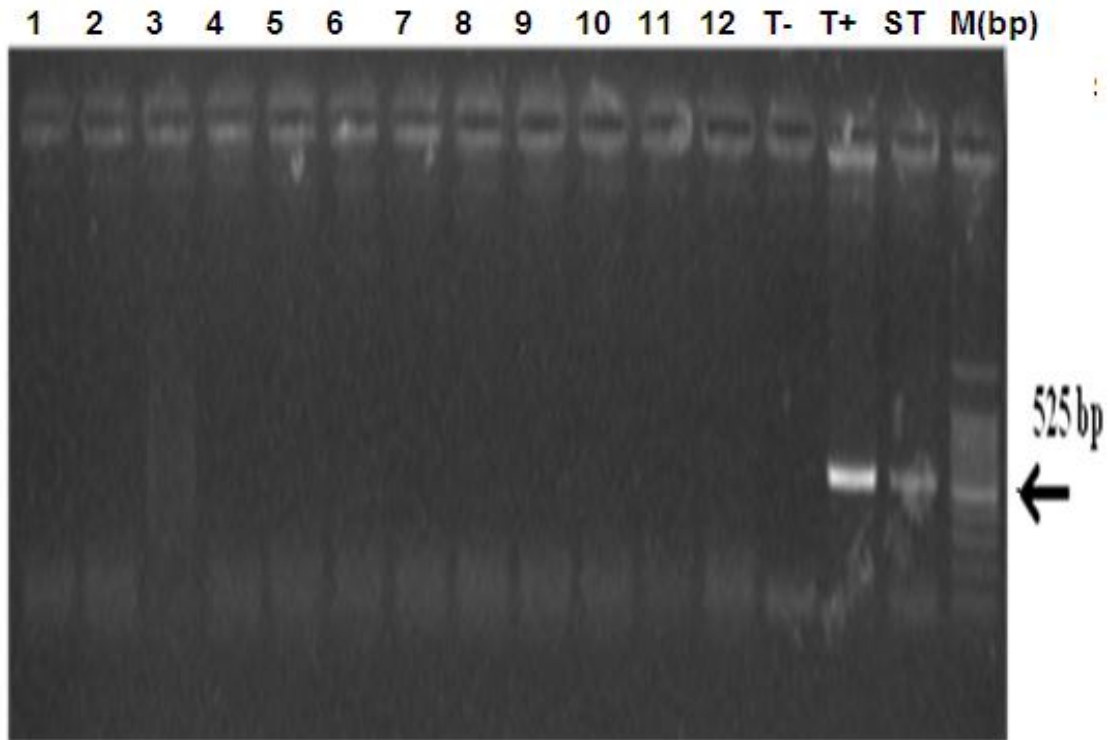


Figure 40. Résultats de l'analyse par la PCR Sh110/Sm-SI des bulins positifs par la PCR DraI.
Lignes 1-12 : résultats des bulins positifs par la PCR DraI, T+, Témoin positif : ADN de *S. haematobium*, T-, Témoin Négatif : pas d'ADN, M : marqueur de taille (paire de bases)

➤ **Après élimination de la bilharziose : Approche de gestion de la surveillance parasitologique**

Les résultats de la synthèse bibliographique sur la gestion de la surveillance parasitologique de la bilharziose urinaire dans les aires à faible endémicité ont montré que le test de détection des anticorps anti-*S. haematobium* est le test de 1er screening indispensable en Chine (Hua et al., 2013), Brésil (Cavalcanti et al., 2013), USA (Amarir et al., 2011), Égypte (El Sherbiny et al., 1999) et autres. Dans la phase post élimination de la bilharziose, l'OMS recommande vivement le test sérologique de détection des anticorps anti *S. haematobium* au lieu du test

d'examen direct des urines. Le test de détection des antigènes est un test de confirmation de l'infection active (cas séropositif).

❖ Le logigramme de la surveillance parasitologique

Le logigramme de la surveillance parasitologique proposé (Figure 41), est basé sur le test sérologique comme test de première intention, confirmé par le test de détection des antigènes.

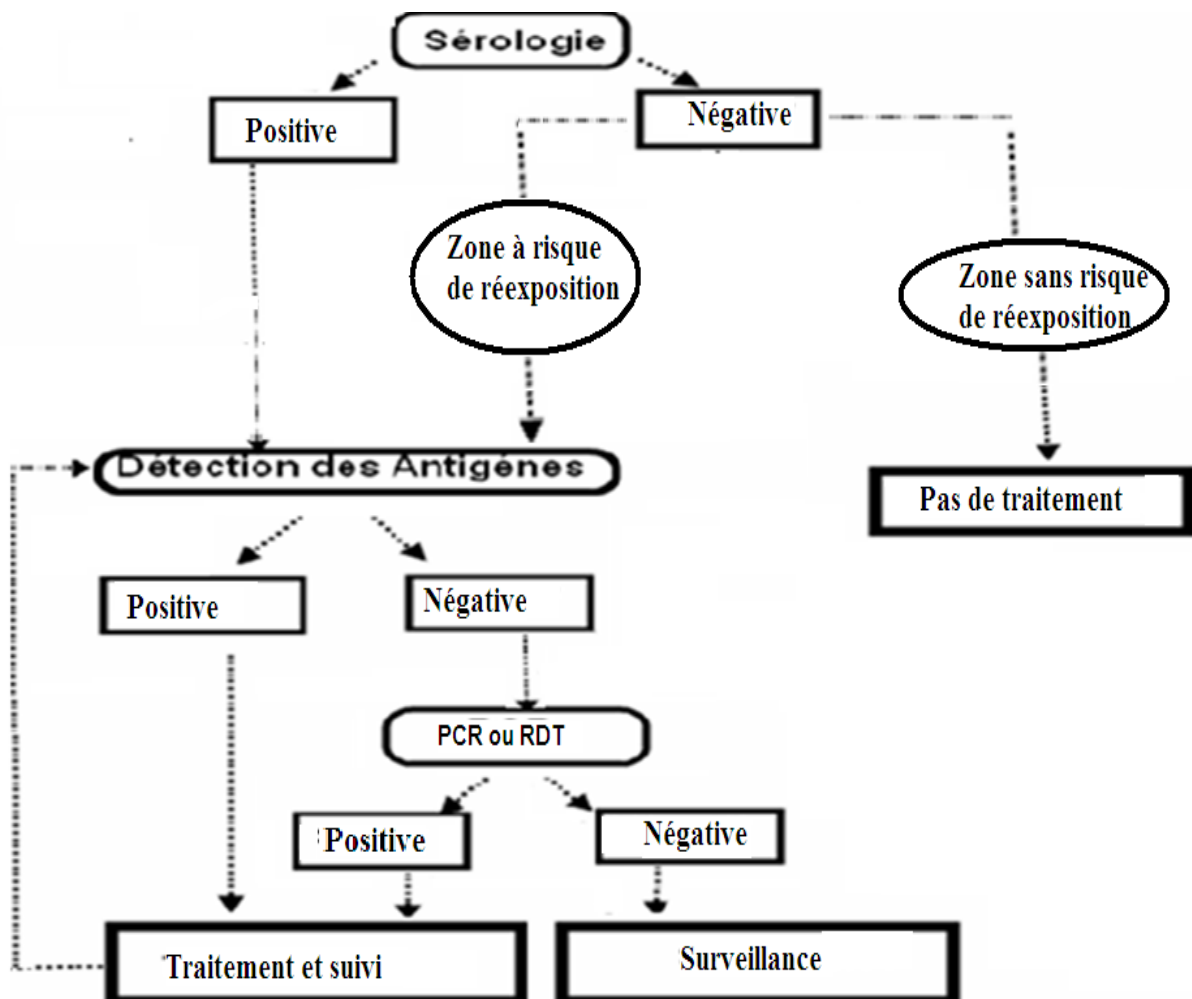


Figure 41 : Approche de surveillance et gestion de l'infection à *S. haematobium*, après l'élimination de la bilharziose urinaire (Cavalcanti *et al.* 2013-modifiée)

Le logigramme présente 6 cas de figure :

- Les cas séropositifs seront traités selon l'âge:

- les enfants séropositifs âgés de moins de 16 ans, seront considérés comme des indicateurs d'une nouvelle infection, puisqu'ils sont nés après la date du dernier cas notifié en 2004 (réémergence probable de la maladie).
- les adultes séropositifs, de plus de 16 ans, peuvent être des cas résiduels ou des cas autochtones.
- + De ce fait, les cas séropositifs confirmés par la détection des antigènes de *S. haematobium*, dans les urines ou le sang (œufs, protéines, ADN..), seront considérés comme des cas de bilharziose urinaire et susciteront un traitement, une investigation épidémiologique rapide au niveau du secteur d'origine.
- + les adultes séropositifs, avec une absence d'antigènes de *S. haematobium* (œufs, protéines, ADN), resteront sous surveillance.
 - Les cas séronégatifs seront traités selon la zone géographique:
 - Les cas séronégatifs appartenant aux aires à risque de réexposition (zones où il y'a des cas de bilharziose urinaire importée, ou des regroupements des immigrés, à proximité des gîtes de *B. truncatus* ou *P. metidjensis*), susciteront un suivi et une surveillance.
 - Les cas séronégatifs appartenant aux aires sans risque de réexposition sont considérés indemnes.

➤ **Sélection des tests de diagnostic appropriés**

Les tests de diagnostic sérologique utilisés pour la détection des anticorps anti-*Schistosoma* et ceux utilisés pour la détection des antigènes du parasite sont nombreux, mais rares sont les tests rapides pour la détection de *S. haematobium* dans les aires à faible endémicité.

Tableau 8. Caractéristiques des différents tests rapides disponibles, de diagnostic humain de *S. haematobium*, dans les aires à faible endémicité.

Diagnostic	Test	Terrain	Coût/1 test (USD)	Évaluation dans les aires à faible endémicité	Références	Performance Par référence à l'examen direct SS/SP	Exigences	Contrainte
Clinique	Hem test (hématurie)	Oui	0,3	Iraq Afrique	(Anton <i>et al.</i> , 2008), (King <i>et al.</i> , 2013)	SS 79% et SP 98% (King <i>et al.</i> , 2013)	Aucun	-
Détection des anticorps	HAMA EITB-31 gp- 35 gp	Non	> 5	Maroc Lake Malawi Egypte	Amarir <i>et al.</i> , 2011 Cetron <i>et al.</i> 1996, Ramzy <i>et al.</i> 1993	SS/SP 99%/99% 96%100%	a, b et c	Coût
	EITB/HAM - gp23	Non	9	Égypte Maroc	Al Sherbiny <i>et al.</i> , 1999; DELM, 2001	SS 50 à 91%	a, b et c	Coût
	ELISA-SEA (Ag. S. Œufs) Hama FAST ELISA gp23	Oui	9	Ghana Egypte	Bosompen <i>et al.</i> , 2004, Al Sherbiny <i>et al.</i> 1999	SS 98.5% SS 83 à 93%	a, b et c	Coût
	HAI (Antigène du vers de <i>S. h</i>)	Oui	2,5	Allemagne, Chilie Hollande	Hans friedemann <i>et al.</i> ; 2012 Gool <i>et al.</i> , 2002 Bosompen <i>et al.</i> , 2004	SS 92% SP 94.7% (seuil 1/80) (Friedemann <i>et al.</i> ; 2012)	-	-
	DDIA (œufs de <i>S. japonicum</i>)	Oui	1	Chine	Hua <i>et al.</i> , 2013	SS et SP ? inconnu pour <i>haematobium</i>	-	Manque évaluation
	RDT SmCTF	Oui	< 3	Côte d'ivoire	Coulibaly <i>et al.</i> , 2013	SS 66.7% SP 34.4%	-	-
Détection des antigènes	Filtration	Non	< 3	Afrique, Iran, Iraq	knopp <i>et al.</i> , 2012 Johnathan <i>et al.</i> , 2011	SS 22% SP 95%	a et b	-
	RDT filtration	Oui	< 3	USA Kenya	Johnathan <i>et al.</i> , 2011	SS 79% SP 95%	-	-
	FTUCP	Oui	5	USA Congo	Van Dam <i>et al.</i> , 2013	SS 96 % SP 96%	-	-
	POC CCA	Oui	3	Cameroun Côte d'Ivoire Ethiopie, Kenya a Uguanda	Colley <i>et al.</i> , 2013, Demerdash <i>et al.</i> 2013	SS 36% SP 78% (Demerdash <i>et al.</i> 2013)	-	Faible SS
				Zanzibar	Knopp <i>et al.</i> , 2012	SS 9%		Faible SS
	ELISA CAA*	Oui	8	Hollande Ghana Égypte	Al Sherbiny <i>et al.</i> 1999, Bosompem <i>et al.</i> , 2004	SS 43% SP 96% (Al Sherbiny <i>et al.</i> 1999)	a et b	Faible SS

Ag S : antigènes solubles, (a) labo, (b) électricité, (c) expertise ; S : sans ; SS : sensibilité ; SP : spécificité, *S.h* : *Schistosoma haematobium*

Selon le tableau 8, les tests utiles et pratiques sont :

- ✓ Test clinique : test d'hématurie
- ✓ Test de détection des anticorps anti *S. haematobium*: RDT SmCTF à base de antigènes du fluide transformé des cercaires de *S. mansoni* (Coulibaly *et al.*, 2013), Dipstick Dye Immuno Assay (DDIA), à base des antigènes des œufs de *S. japonicum*, ELISA et l'hémagglutination indirecte (HAI) à base des antigènes du vers de *S. haematobium*. Ces quatre derniers tests sont des tests adaptés au terrain. EITB reste la technique de confirmation au laboratoire de bilharziose de l'INH.
- ✓ Test de détection des antigènes : actuellement adoptés dans les aires à faible endémicité sont: la filtration des urines et l'examen microscopique des filtres, la filtration des urines et la révélation des œufs par un conjugué (RDT filtration), l'immunochromatographie pour la recherche de l'antigène CCA dans les urines (POC CCA), l'ELISA pour la recherche de l'antigène CCA dans les urines (ELISA CCA), FT UCP RDT qui est un test immunochromatographique pour la recherche de l'antigène schistosomien dans les urines et le sérum (Tableau 8). Néanmoins, les tests les plus performants et rapides sont RDT filtration, et FTUCP. FTUCP, peut être le test de 3^{ème} ordre pour la confirmation des cas séropositifs (présence d'anticorps), avec absence des antigènes du parasite dans les urines.

Les différentes combinaisons en série des tests de diagnostic, possibles dans la stratégie de surveillances, sont résumées dans le tableau 9. Le choix dépend des fonds budgétaires disponibles.

Tableau 9. Caractéristiques des combinaisons des tests de diagnostic de la bilharziose urinaire, appropriés pour la surveillance nationale

Combin aion	Test clinique	Détection des Ac anti <i>S. h</i>	Détection des antigènes de <i>S.h</i>	Coût total	Population cible	Faisabilité
1	-	HAI	RDT filtration	<5,5	Tout âge	S/VS
2	-	HAI	FTUCP	7,5	Tout âge	S/VS
4	Hématurie	HAI	-	<3	Enfants	VS
5	Hématurie	HAI	RDT filtration	<5,8	Tout âge	S/VS
6	Hématurie	HAI	FTUCP	7,8	Tout âge	S/VS

S.h : *Schistosoma haematobium*

❖ Le logigramme de la surveillance malacologique

La surveillance malacologique ciblera les gîtes de *B. truncatus* et *P. metidjensis* (hôte intermédiaire probable) des provinces à risque de réémergence de la maladie au Maroc (Figure 42). La collecte et l'identification de *B. truncatus* et *P. metidjensis* seront réalisés par les laboratoires provinciaux. Les mollusques seront ensuite envoyés au laboratoire central pour l'examen de leur infectivité.

- La gestion de la surveillance/veille sanitaire de l'infectivité des bulins et planorbes proposée, dépend du degré de risque de réémergence de la bilharziose urinaire des aires géographiques, qui peuvent être subdivisés en trois groupes (Figure 42) :

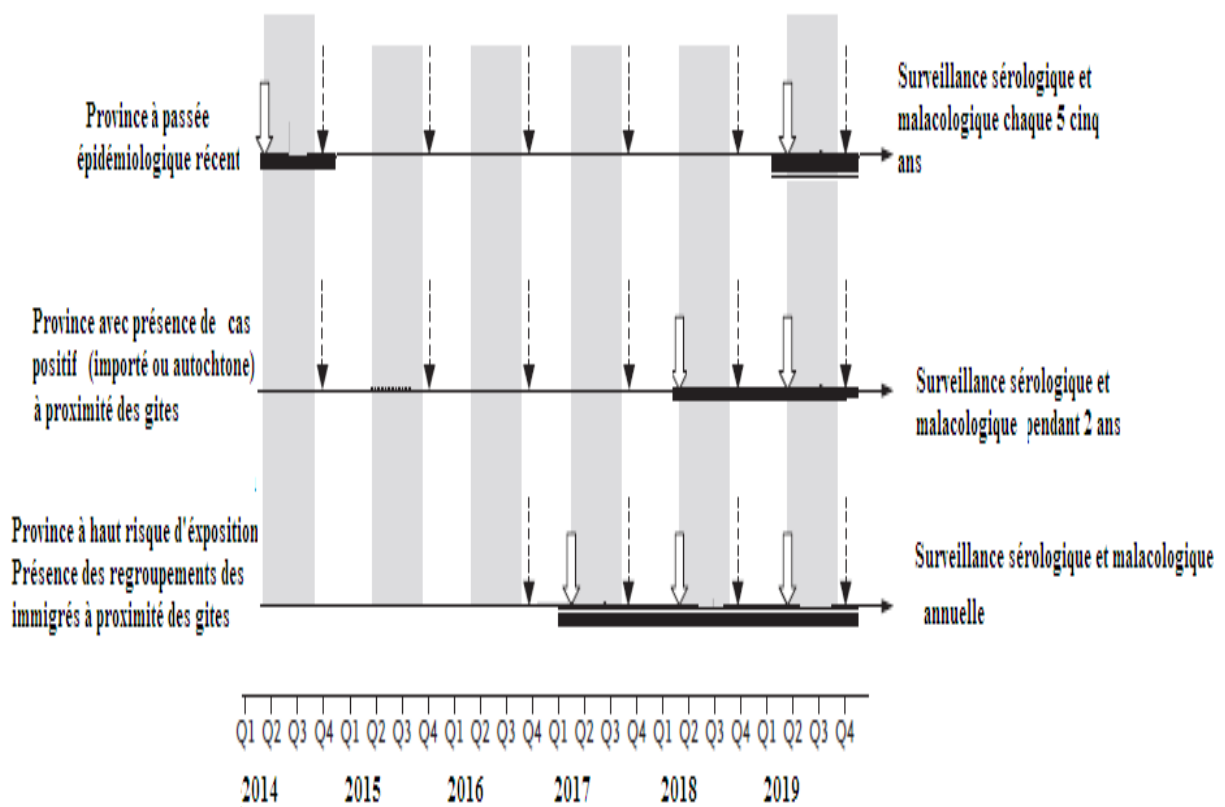


Figure 42: Planning des surveillances humaine et malacologique dans la phase post élimination de la bilharziose urinaire au Maroc

■ Période de transmission, == intervention épidémiologique, ↓ surveillance sérologique, ⇩ surveillance malacologique

- Les zones où il y'a des gîtes de *Bulinus* ou *Planorbarius* avec présence tout autour de regroupements des immigrés des pays endémiques, peuvent être considérées à haut risque de réémergence de la maladie (Gholamreza *et al.* 2008). Elles susciteront une surveillance malacologique et parasitologique annuelle (Gholamreza *et al.*, 2008, Hong Chang Yuan *et al.*, 2002).
- Les zones où il y'a des cas importés à proximité des gîtes, susciteront une surveillance malacologique et sérologique pendant 2 ans (âge approximatif des bulins infestés).
- Les zones sans risque de réexposition, à passé épidémiologique récent (10 ans), susciteront un examen de l'inféctivité des mollusques cibles, une fois par cinq ans pour confirmer l'absence de la transmission homme/mollusques et présenter des arguments pour la certification de l'élimination. Ces provinces sont : Tata ; Béni Mellal, Chtouka Aït Baha, Errachidia et El Kelâa des Sraghna.

La présence d'un seul bulin infecté, suscitera une lutte malacologique (physique ou chimique) une fois par an, pendant 3 ans (Hongchang *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2005, Wu *et al.*, 2005, Hongchang *et al.*, 2002).

➤ **Sélection des tests malacologiques**

Les caractéristiques des tests malacologiques actuellement disponibles, le test lumière, la dissection, la sérologie, DraI PCR, Sh11 SmSL PCR, CoxI PCR et DraI/73 PCR sont comparées (Tableau 10).

Tableau 10. Caractéristiques des différents tests de diagnostic malacologique de l'infection à *S. haematobium*

Test	Référence	Détection des infections prépatente	Sensibilité	Discrimination entre <i>S. bovis</i> et <i>S. haematobium</i>	Pratique à l'étude de masse	Coût/1test (USD)
Test lumière	Guide bilharziose 1982	Non	1 miracidium	Non	Non	0
Dissection	Yacoubi <i>et al.</i> , 2007	Oui (kyste sporocystes)	1 sporocyste	Non	Non	0
Sérologie de l'hémolymphe	Hamburger <i>et al.</i> , 1989 ; Doenhoff <i>et al.</i> , 2004 et King <i>et al.</i> , 2010	Oui (après 2 semaines)	Séropositivité	Non	Non	5
DraI PCR	Hamburger <i>et al.</i> , 2004; Melo <i>et al.</i> , 2006	Oui	1 pg/μl	Non	Oui	7
Sh110SmSI PCR	Abassi <i>et al.</i> , 2007	Oui	1 pg/μl	Oui mais n'amplifie pas <i>S. bovis</i>	Oui	7
DraI et Sh110SmSI PCR	Amarir <i>et al.</i> , 2011	Oui	1pg/μl	Oui (amplifie <i>S. bovis</i> et <i>S. haematobium</i>)	Oui	12 *
CoxI PCR	Webster <i>et al.</i> 2010	Oui (Webster <i>et al.</i> 2010), Non (Abassi <i>et al.</i> 2012)	0.8ng/μl	Oui	Oui	7
PCR 77/DraI	Abassi <i>et al.</i> , 2012	Oui	1 pg/μl	Oui	Oui	7

* : Une extraction d'ADN, 2 amplifications, 2 électrophorèses

Les tests PCR DraI, PCR Sh 110SmSL et PCR DraI/Sh 73 sont les seuls tests capables de détecter les infections prépatentes des bulins, discriminer entre *S. bovis* et *S. haematobium*, et sont pratiques pour les études de masse.

Néanmoins, pour discriminer entre *S. bovis* et *S. haematobium*, le coût de l'analyse des bulins par la PCR DraI et la PCR Sh110SmSI est le double (12 USD) du coût de l'analyse de ces mollusques par la PCR DraI/Sh 73 (7USD). D'où l'importance d'évaluer ce test au laboratoire.

➤ **Étude malacologique à la province de Fkih Ben Saleh : évaluation de la PCR DraI/Sh 73**

Un total de 50 *Bulinus truncatus* sont collectés et aucun *P. metidjensis* n'est récolté (Figure 43, annexe 10).



Figure 43. Bulins collectés de la commune de Krifat de la province de Fkih Ben Saleh en décembre 2013

La combinaison de deux primers, DraI et Sh73, amplifie deux amplicons du témoin positif de *S. haematobium*, le 200pb et le 350pb (Figure 44).

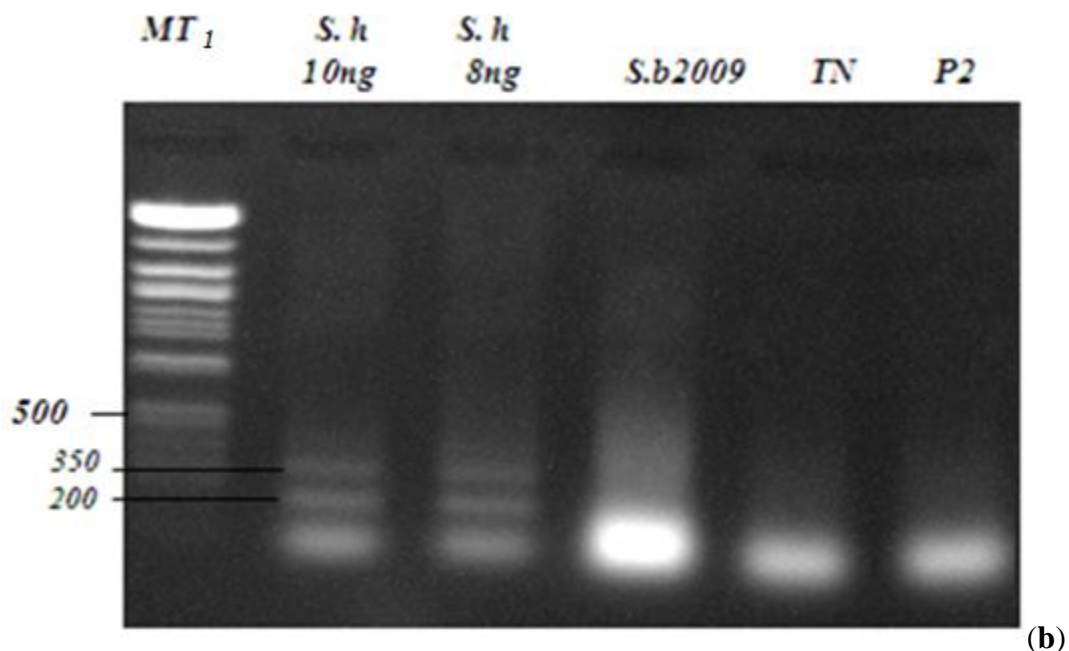
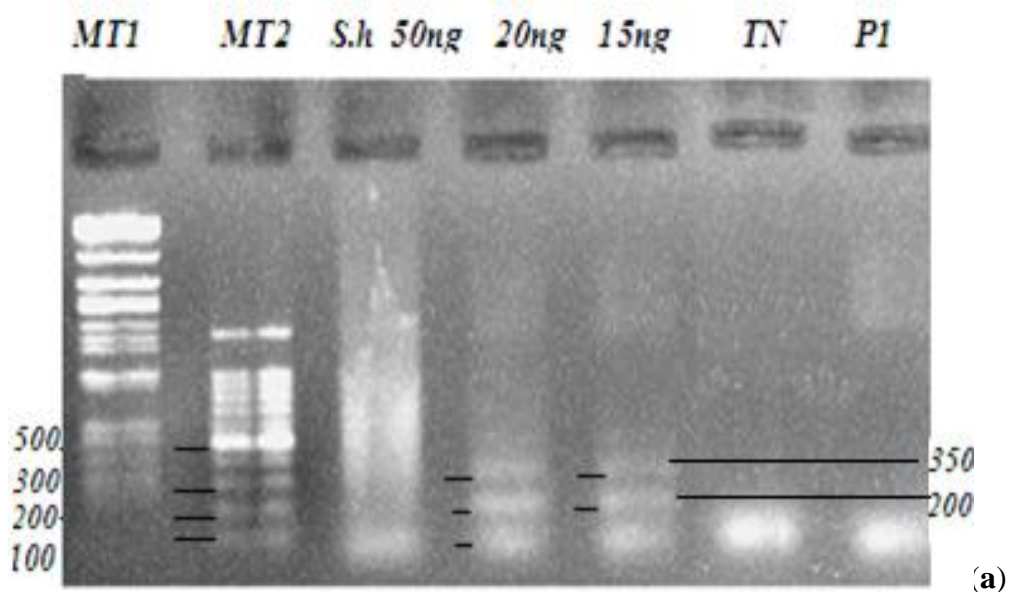


Figure 44. Évaluation de la DraI/Sh73 PCR en analysant différentes concentrations du témoin positif de *S. haematobium* **(a)** : 5ng/ul, 20ng/ul, 15ng/ul; **(b)**: 10ng/ml, 8ng/ul). MT : Marqueur de taille de 1000pb, MT1: Marqueur de taille de 100pb (Promega), *S.h* : Témoin positif de *S. haematobium*, TN: témoin négatif, P1 : pool des extraits d'ADN de Fkih Ben Saleh.

La sensibilité du test est évaluée en adoptant différentes concentrations du témoin positif de *S. haematobium* (50 ng, 20 ng, 15 ng, 10 ng, 8 ng, 2 ng). Le profil des différentes concentrations montre une révélation des bandes lisibles, à partir du 20ng/ml jusqu'à 2ng/ml (Figure 44-45).

Les bulins infectés par *S. bovis* en 2009, ne présentent pas un bon profil, ce qui est peut être dû à la détérioration de l'ADN (Figure 44).

Les résultats de l'analyse des pools des bulins récoltés de la commune de Fkih Ben Saleh, montrent l'absence de trace des bandes de 200 pb et 350 pb de *S. haematobium* et des bandes de 150 pb et 300 pb de *S. bovis* chez tous les bulins (Figure 44-45).

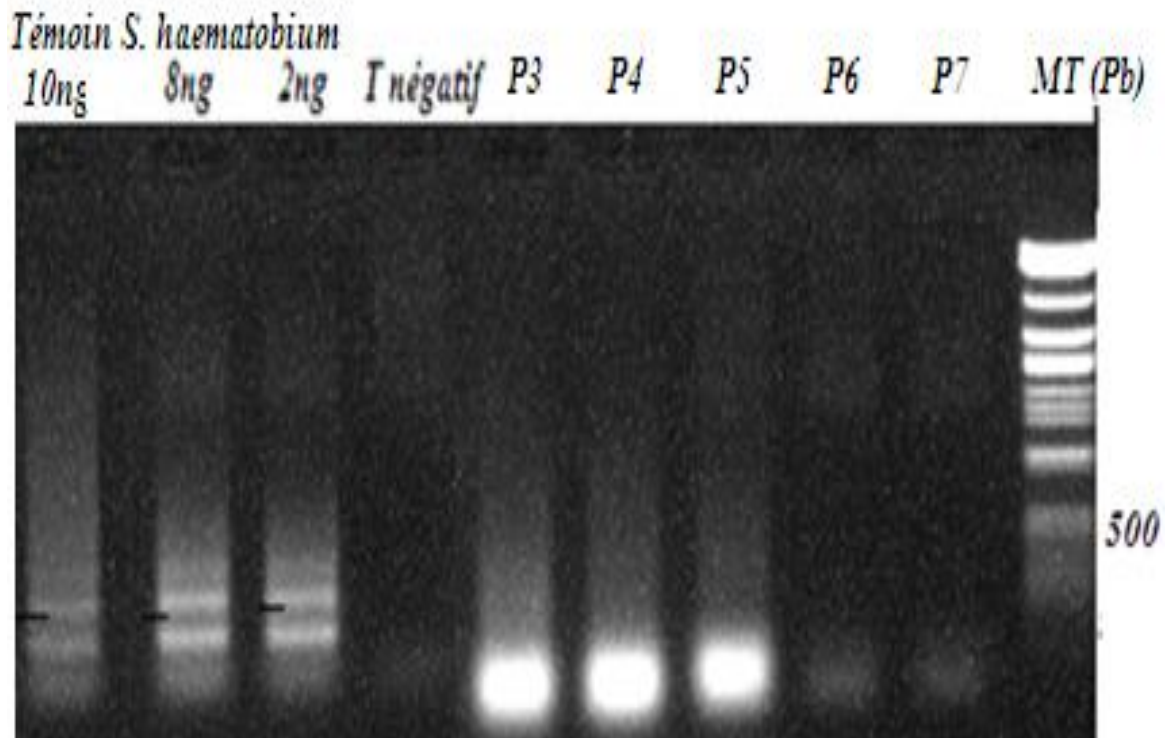


Figure 45. Analyse des bulins collectés de Fkih Ben Saleh par DraI/Sh73 PCR

MT1 : Marqueur de taille de 1000pb, P3-P7 : pool des extraits d'ADN de Fkih Ben Saleh.

PARTIE IV : DISCUSSION

Le Maroc est l'un des 8 pays (Iran, Tunisie, Algérie, Turquie, Inde, Jordanie, Liban et L'île Maurice) à avoir élaboré, exécuté et réussi un processus d'élimination de la bilharziose à *S. haematobium* dans le monde (Barkia *et al.*, 2011 ; WHO, 2013 a). Pour confirmer l'interruption de la transmission de la bilharziose urinaire dans ces pays, l'OMS recommande le dépistage sérologique de la bilharziose urinaire chez les enfants, nés après la date du dernier cas autochtone déclaré, combiné avec la détection moléculaire de l'infection à *S. haematobium* chez les bulins (WHO, 2008).

Les localités cibles de notre étude sont celles à passé épidémiologique récent (5 ans), où les derniers cas de la bilharziose urinaire sont enregistrés. En effet, malgré le traitement de masse de la population par le praziquantel, on pourra avoir une transmission à faible endémicité pendant toute la durée de vie du ver femelle (estimée de 2 à 5 ans) car cet antihelminthique diminue la fécondité de la femelle de *S. haematobium* sans la tuer.

La présence de la transmission à faible endémicité est argumentée par la présence d'enfants séropositifs, nés après la date du dernier cas autochtone, c'est-à-dire les enfants nés après l'année 2003. De ce fait, ces enfants sont les indicateurs de nouvelle infection, vu l'immaturité de leur système immunitaire (Cavalcanti *et al.* 2013). Statistiquement, quand la prévalence tend vers 0 %, la taille de l'échantillon tend à englober toute la population des enfants existants ; car pour vérifier l'interruption de la transmission de la bilharziose urinaire, la probabilité de la présence d'un enfant porteur du parasite n'est pas acceptée. Par conséquent, l'échantillon de l'étude a compris tous les enfants de la zone d'étude à l'exception des enfants non consentants et la technique de diagnostic doit être hautement sensible.

HAMA FAST-ELISA et EITB sont deux techniques complémentaires dont la sensibilité de détection des anticorps anti-*S. haematobium* est évaluée à 100% (Tsang *et al.*, 1991 ; Cetron *et al.*, 1996; Al Sherbiny *et al.*, 1999). Pour vérifier l'interruption de la transmission de la bilharziose urinaire au Maroc, nous avons privilégié l'utilisation de la technique EITB seule pour les raisons suivantes :

- la technique FAST-ELISA utilise une plaque dont chaque puits est sensibilisé par 200 ng de mélange d'antigènes solubles de *S. haematobium*. Chaque puits sert à tester un seul échantillon par puits. En revanche, la technique EITB, utilise une bandelette sensibilisée par 5 ng d'une ou deux protéines antigéniques, déterminées et spécifiques pour *S. haematobium*, séparées l'un de l'autre par une électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS (SDS-PAGE) et purifiées. Une bandelette sert pour l'analyse d'un pool de quatre échantillons. Par conséquent, l'utilisation du test HAMA-EITB permet un gain de temps et du produit antigénique, et s'avère pratique dans les études de masse (Amarir *et al.*, 2011).

- MAMA FAST-ELISA, à base d'antigènes de *S. mansoni*, est caractérisée par une sensibilité de 99% pour la détection des infections à *S. mansoni* et seulement 83,6 % pour la détection des infections à *S. haematobium* (Al Sherbiny *et al.*, 1999). Par contre, d'après Tsang *et al.* (1997), l'essai MAMA-EITB a montré une spécificité et une sensibilité de 99 % pour la détection des infections à *S. haematobium* au Malawi, en Angola, au Ghana, au Kenya, au Libéria, à Madagascar, au Mali et en Namibie (Tsang *et al.*, 1997), ce qui témoigne de la haute sensibilité de l'analyse du profil humoral de la bilharziose urinaire par la technique EITB.

- Le test HAMA-EITB, adopté par Al Sherbiny *et al.* en 1999, identifie l'infection par *S. haematobium* ; il est basé sur la réactivité des anticorps avec la glycoprotéine gp 23 de HAMA ; celle-ci est identifiée aussi lors d'une infection par *S. japonicum* (Al Sherbiny *et al.* 1999). Tandis que le test HAMA-EITB adopté dans notre étude est basé sur la détection de deux antigènes microsomaux de 31 kDa et 35 kDa, spécifiques à *S. haematobium* (Amarir *et al.*, 2011).

- EITB est une technique non invasive qui ne nécessite pas un prélèvement capillaire ; elle peut être réalisée sur un papier buvard imbibé d'une seule goutte de sang du doigt, selon la procédure récemment décrite par Sukwan *et al.* (2007). Le prélèvement d'une seule goutte de sang du doigt encourage les parents et les enfants, même de petit âge, à participer à l'enquête (Tsang *et al.*, 1997).

Les résultats de l'étude sérologique de la bilharziose urinaire, obtenus par EITB, montrent que la proportion de l'infection par *S. haematobium* est nulle chez tous les enfants dépistés, âgés de 0 à 16 ans, et dans tous les foyers à passé épidémiologique récent au Maroc.

Pour une meilleure analyse des résultats de l'étude sérologique, l'idéal est de disposer de données sur des études sérologiques antérieures ayant utilisé des méthodes standardisées, portant sur la même tranche d'âge chez des personnes appartenant à un même écosystème géographique. Au Maroc, la seule étude sérologique sur la bilharziose a été réalisée en 2001, en collaboration avec le centre de référence et de diagnostic de la schistosomiase du Caire (Egypte) et l'OMS. Les provinces d'étude étaient Marrakech Méhara, Tata et Chtouka Aït Baha. Un prélèvement de sang veineux, des sujets de la population d'étude, a servi pour les tests FAST ELISA et EITB (DELM, 2001). Les résultats ont montré que:

- les techniques sérologiques sont plus sensibles que l'examen microscopique des urines ;
- la technique FAST ELISA avait une faible spécificité par rapport à la technique EITB ;
- la technique sérologique EITB n'a pas été utilisée dans le cadre d'une surveillance systématique nationale, vu la réticence des enfants au prélèvement sanguin, qu'il soit veineux ou capillaire ;
- chez les enfants de moins de 14 ans, la séroprévalence était nulle à Marrakech et Chtouka Aït Baha (tableau 10, figure 42). En revanche la séroprévalence à Tata était de 10 %, ce qui montrait la présence d'infections récentes (WHO-EMRO, 2007). En effet, Tata a connu une épidémie de la bilharziose urinaire en 2003, où 80% des cas provenaient du secteur d'Akka.

Tableau 11. Résultats de l'étude sérologique de la bilharziose urinaire, réalisée chez les populations dépistées à Chtouka Aït Baha, Tata et Marrakech en 2001 (WHO, 2007)

2001	Dépistage parasitologique		Étude sérologique			
	Délégation	Nombre de prélèvements urinaires	Taux de positivité	Nombre de prélèvements sérologiques	Séroprévalence chez les sujets de 0 à 60 ans	Séroprévalence chez les enfants de 0 à 14 ans
	Marrakech	8078	0,01 %	527	19.7% à Oudaya	0%
	Tata	8968	0,2 %	439	26.2% à Akka	10%
	Chtouka Aït Baha	9813	0,3 %	398	17.3% à Targa	0%
	Total	26859		1418		

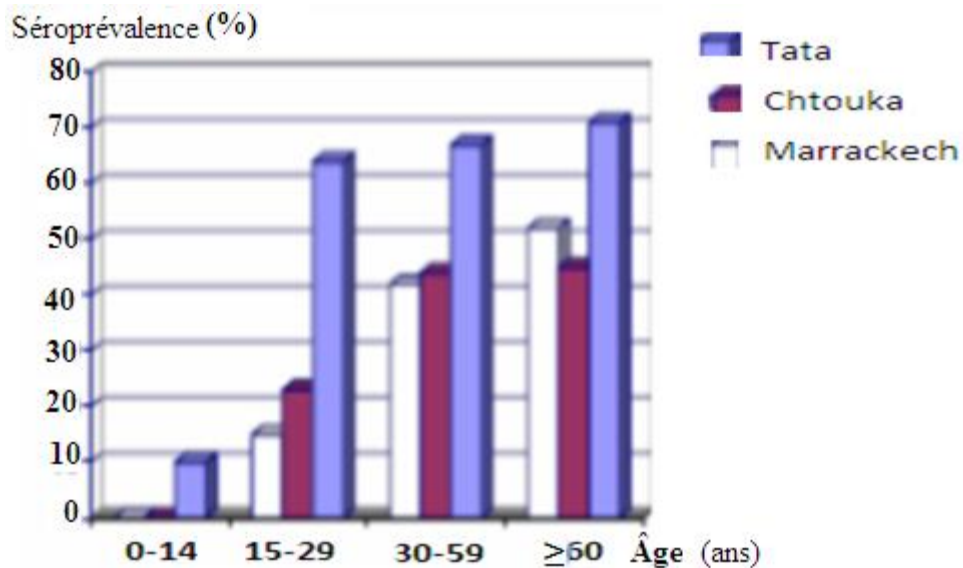


Figure 46 : Résultats de l'étude sérologique de la bilharziose urinaire réalisée en 2001 chez les populations dépitées à Chtouka Aït Baha, Tata et Marrakech, en fonction de l'âge (WHO-EMRO, 2007)

Entre 2001 et 2009, la séroprévalence à Tata a diminué de 10% à 0% chez les enfants. En effet, les enfants âgés de moins de 14 ans en 2001, auront un âge entre 8 et 22 ans en 2009. On présume que les derniers cas notifié en 2003 à Tata, ayant eu leur traitement, et que la transmission est interrompu, vu les efforts de lutte accentués (traitement de masse de la population, lutte physique et chimiques des gîtes). Ceci explique l'absence des cas autochtones chez les enfants, depuis 2004, et argumente les résultats séronégatifs de tous les enfants, âgés de moins de 16 ans en 2009.

En outre, depuis 2001, la séroprévalence est nulle à Chtouka et Marrakech, ce qui concorde avec les résultats de notre étude et prouve l'interruption de la transmission parasitologique de la maladie.

Quand la prévalence est très faible ou devient nulle, la recherche de l'infection chez les bulins est probablement la meilleure stratégie pour évaluer la transmission homme/bulins, confirmer son absence et surveiller la réémergence de la bilharziose urinaire (Amarir *et al.*, 2014).

Entre 1999 et 2000, Chlyeh *et al.* ont rapporté l'absence de formes larvaires du parasite chez les bulins récoltés à Sid Cheikh de Marrakech (Chlyeh *et al.* 2002). De 1999 à 2005, Yacoubi *et al.*, ont rapporté l'absence de l'infection naturelle par *S. haematobium* chez

les bulins et planorbes disséqués dans la province d'Agadir (Yacoubi *et al.*, 2007). Ces résultats ne montrent pas une corrélation entre la prévalence humaine et l'infectivité malacologique, qui pourrait être dû à la faible sensibilité des tests standards (test lumière et dissection). En effet, l'émission des miracidiums (au cours de l'infection patente du bulin) peut être focale et de faible fréquence même dans les aires à forte transmission de la maladie (Abassi *et al.*, 2010). En outre, l'infection prépatentes de *B. truncatus* peut durer plusieurs semaines (38 à 53 j à 24-26 °C), la mortalité de ces mollusques peut être élevée après l'émission des miracidiums (~48 %), et le développement des sporocystes peut être « abandonné » durant la saison froide (Moukrim, 1996 ; Abassi *et al.*, 2010). Par conséquent, on pourrait estimer que la proportion des infections prépatentes dépasse largement la proportion des infections patentes détectées par les méthodes standards (Abassi *et al.*, 2010; Hamburger *et al.*, 2004).

D'autre part, les méthodes standard, ne peuvent discriminer entre les bulins infectés par *S. haematobium* et ceux infectés par *S. bovis*, l'espèce sympatrique de *S. haematobium* au Maroc (Abassi *et al.*, 2007, 2010). Ainsi, on ne peut déterminer les foyers de la bilharziose humaine et ceux de la bilharziose animale afin d'orienter les stratégies de lutte malacologique chimique et physique.

Lamrani *et al.*, ont rapporté l'utilité de la chétotaxie dans la systématique des cercaires de *S. haematobium* et *S. bovis*. La topographie des papilles sensorielles et la combinaison des indices chétotaxiques ont permis la discrimination évidente des cercaires des deux espèces (Laamrani *et al.*, 1998). Mais ce moyen d'identification nécessite le traitement individuel des bulins vivants, et s'avère donc non pratique pour les études malacologiques de masse, particulièrement dans la phase de maintenance de l'élimination de la maladie.

De ce fait, l'examen moléculaire de l'infectivité des bulins en pools est devenu le test prioritaire à développer, pour les études de masse, l'identification des espèces et l'évaluation de la transmission homme-bulin dans la phase post élimination de la maladie (WHO, 2008 ; Hamburger *et al.*, 1998 ; King *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2002).

Hamburger *et al.* utilisent la technique DraI PCR pour détecter les infections prépatentes des bulins et l'infestation de l'eau par *S. haematobium*. L'évaluation de cette méthode au Kenya a montré une grande correspondance entre le taux de l'infectivité des bulins et l'infection humaine locale (Hamburger *et al.*, 2001, 2004). Nous avons opté pour cette technique vue les avantages suivants :

- la possibilité d'analyse des pools des extraits d'ADN, augmentant ainsi le nombre des bulins examinés à un échantillon total statistiquement significatif

- une détection limite de 10 fg d'ADN de *Schistosoma* chez un bulin, une heure après son infestation, permettant la détection des infections prépatentes des bulins ce qui est primordiale dans la phase post-élimination de la bilharziose (Hamburger *et al.*, 2004; Melo *et al.*, 2006; Abbasi *et al.*, 2007 et 2010),
- une haute spécificité pour le groupe *haematobium*, présentée par l'amplification et la détection de la séquence DraI des schistosomes du groupe *haematobium* (*S. mattheei*, *S. intercalatum*, *S. guineensis*, *S. curassoni* et *S. bovis*).

L'absence de traces d'ADN des schistosomes du groupe *haematobium* (humain et animal), chez les bulins collectés des gîtes d'Errachidia et de Chtouka Aït Baha, supporte l'interruption du cycle de transmission de la bilharziose urinaire dans ces foyers.

Or, les résultats positifs de l'analyse des bulins collectés à El Kelaâ des Seraghna, Béni Mellal et Tata par DraI PCR, suggère leur contamination par une des espèces du groupe *haematobium* -*S. mattheei*, *S. intercalatum*, *S. guineensis*, *S. curassoni*, *S. bovis*- (Abbasi *et al.*, 2012).

Dans le groupe *haematobium*, seule l'espèce *S. bovis* coexiste en sympatrie avec *S. haematobium* au Maroc, ce qui suppose deux hypothèses :

- + Soit c'est une infection, résiduelle ou récente, par *S. haematobium*,
- + Soit c'est une infection due à *S. bovis*.

D'après Flemming *et al.* (1979), l'infection des bulins par *S. haematobium* peut durer au maximum 200 jours, cette affirmation éloigne l'hypothèse de l'infection récidive des bulins dans notre pays, vu que le dernier cas de la bilharziose humaine a été détecté entre 2000 et 2003. Par conséquent, on suppose une infection récente par *S. haematobium* (*réémergence*), ou bien une réaction croisée avec *S. bovis*.

Abassi *et al.*, différencient *S. haematobium* des autres espèces par l'amplification de la séquence nucléaire répétée Sh110 Sm-S1 (Webster *et al.*, 2010), très spécifique de *S. haematobium*. Cette PCR a une détection limite de 1 pg de *S. haematobium* ; ce qui permet la détection des infections prépatentes des bulins. Le produit d'amplification par PCR en utilisant l'amorce Sm-S1 et l'amorce inverse Sh110 présente une réaction négative pour *S. bovis* car elle ne l'amplifie pas (Abassi *et al.*, 2007, 2010).

Tous les bulins positifs par DraI PCR présentent une réaction négative par la PCR Sh110 SmSI, ce qui confirme l'absence de l'infection des bulins par *S. haematobium* et réfère le résultat positif du DraI PCR à l'infection des bulins par *S. bovis*.

Schistosoma bovis survit dans la veine porte et les veines mésentériques des bovins, ovins et caprins de la région méditerranéenne. Il est également présent chez les équidés, les chameaux, les ruminants sauvages, les rongeurs et occasionnellement chez l'homme, mais il n'est pathogène que chez les bovins et les moutons (Soulsby *et al.*, 1982).

L'objectif de notre étude était de détecter les foyers humains de la bilharziose urinaire. De ce fait, la combinaison de DraI PCR et Sh110/Sm-SI spécifique pour *S. haematobium*, , recommandé par l'OMS, étaient complémentaires est suffisantes pour visualiser les bandes caractéristiques de *S. haematobium*,(WHO, 2008).

Dans notre étude, *P. metidjensis*, l'hôte expérimental de *S. haematobium* n'a pas été étudié, puisque l'OMS n'a pas confirmé son rôle dans la transmission de ce parasite (Barkia *et al.*, 2013 b). Néanmoins, l'absence de cas autochtones de bilharziose urinaire durant les sept dernières années (2004-2009) et l'absence de l'infection chez *B. truncatus* suppose l'interruption du cycle de transmission du parasite, quelque soit le mollusque hôte intermédiaire (*B. truncatus* ou *P. metidjensis*).

L'absence de l'infection à *S. haematobium*, chez l'homme et les bulins, témoigne la réussite des efforts du programme national de lutte contre la bilharziose au Maroc supportés par les facteurs environnementaux.

En effet, plusieurs facteurs ont contribué à la dégradation des habitats naturels des bulins et ont dû aboutir à la diminution de leur densité, ce qui va en parallèle avec la réduction du taux de leurs infestations (Dieng, 1999) ; parmi ces facteurs :

- le traitement chimique par le bayluscide et le traitement physique des gîtes depuis 1999-2000 (DELM 1999-2004) ;
- la construction de barrages qui ont diminué le flux d'oued Sebou et d'oued Moulouya de 70 et 47 % respectivement (Snoussi *et al.*, 2007 ; Johnson *et al.*, 2009) ;
- les travaux de canalisation et de drainage, qui délogent et enterrent les bulins adultes, juvéniles et œufs, et détruisent l'habitat des bulins (DELM, 2000 ; Johnson *et al.*, 2009) ;
- la sédimentation et l'instabilité des canalisations ;
- la pollution des eaux par certains métaux, des engrais agricoles et des pesticides, pourraient être très toxiques pour les bulins d'eau douce (Johnson *et al.*, 2009) ;

- l'éducation sanitaire: Belkacem *et al.* ont signalé que le curage et la surveillance des bassins et des puisards, par les populations locales, ont abouti à la chute de la densité et du taux d'infestation de *B. truncatus* dans le système d'irrigation de l'Oudaya (Belkacem *et al.*, 2006) ;

- les changements climatiques telles que les sécheresses qui ont frappé le Maroc durant la décennie **1980-1990**, le déficit des précipitations (> 20%) de 1990 à 2000, ont fortement affecté l'abondance des bulins d'eau douce (Agoumi *et al.*, 2006).

L'assèchement naturel des canaux d'irrigation a dû provoquer une baisse importante des habitats naturels des bulins et d'autre part, le traitement de masse des populations des localités endémiques ainsi que le développement des infrastructures de bases de plusieurs zones rurales, tels que l'approvisionnement en eau, la construction de latrines et la disponibilité des soins de santé primaire, ont dû interrompre le cycle de transmission homme/bulins (Charles *et al.*, 2009). Tous ces facteurs ont contribué à la réussite de l'élimination de la bilharziose urinaire du pays.

Dans la phase actuelle du programme de lutte contre la bilharziose, le Maroc doit adopter un système de veille sanitaire, pour maintenir l'élimination, prévenir la réémergence de la maladie et se préparer pour la certification de l'élimination de la bilharziose. D'après la littérature, dans les aires à faible endémicité, l'impact immédiat de la chimiothérapie est la diminution du nombre de cas sévères de la bilharziose urinaire, diminution de la charge parasitaire, et l'apparition des cas indétectables par examen microscopique des urines (1 œuf/10 ml d'urines). Par conséquent, dans les pays de faible endémicité ou en phase de maintenance de l'élimination, la surveillance doit être basée sur les tests de détection des anticorps anti-*S. haematobium*.

L'OMS a évalué le test POC CAA, comme test rapide, sensible et spécifique, pour la surveillance des pays endémiques à *S. mansoni* (Wu *et al.* 2005), mais il est insensible pour la détection de l'infection à *S. haematobium* (Knopp *et al.*, 2012). Jusqu'à l'heure actuelle, il n'y a pas une approche de surveillance et de diagnostic standardisée pour les pays de faible endémicité à *S. haematobium* (Maroc, Turquie, Liban, Irak et Iran). Or, le risque de réémergence de la bilharziose est important, vu les mouvements des populations dans la dernière décennie au Maroc.

La stratégie de surveillance humaine globale proposée repose sur le dépistage actif sélectif de tous les cas visitant les structures sanitaires, présentant l'un des signes cliniques de la bilharziose urinaire (hématurie, douleurs mictionnels, douleurs abdominales...) et le diagnostic par des tests sérologique rapides.

Le système de veille sanitaire qu'on propose, consiste à examiner l'infection par *S. haematobium* chez les enfants, nées après la date du dernier cas, par un test sérologique rapide très sensible, et selon un planing vigilant, qui dépend du degré du risque de réémergence de la bilharziose uriniare de chaque province. Les enfants représentent l'indicateur de transmission.

Au Brésil, Cavalcanti *et al.* sont les seuls auteurs, jusqu'à présent, qui ont proposé une approche de diagnostic pour les aires de faible endémicité, basée sur le test sérologique et la confirmation par les tests de détection des antigènes de *Schistosoma*, (Cavalcanti *et al.*, 2013). Néanmoins, cette approche de diagnostic très sensible, basée sur la biologie moléculaire comme test de confirmlation, reste très coûteuse pour être adoptée à l'échelle nationale.

En effet, l'approche mène à confirmer les examens sérologiques (négatif et positif) de tous les sujets des provinces à risque par la PCR. Or, au Maroc, on présume que toutes les provinces où des cas de bilharziose urinaire importés sont déclarés ou caractérisée par la présence de rassemblements des immigrés, à proximité des gîtes de planorbes et de bulins, pourraient être considérées des provinces à risque de réexposition.

Dans notre approche, nous avons renforcé les tests de screening de 1^{er} ordre basé sur la sérologie au lieu de l'examen direct des urines. Le dépistage actif sélectif est basé sur un questionnaire et le test d'hématurie, au niveau de tous les services sanitaires.

En effet, d'après une récente métaanalyse des surveillances de la bilharziose urinaire réalisées dans différents pays, King *et al.* (2013) ont montré que le test d'hématurie présente une sensibilité et une spécificité de 82 % / 97%, plus élevé que l'examen microscopique dans les aires de faible endémicité. De ce fait, l'introduction du test d'hématurie renforcera le dépistage basée actuellement sur l'examen direct des urines.

Cependant, l'hématurie reste un indicateur de morbidité et la confirmation de la présence du parasite par la détection des anticorps anti *S. haematobium* est primordiale (WHO, 2010).

Notre étude bibliographique a identifié les tests sérologiques rapides les plus performants (diagnostic dans moins de 24h) déjà évalué par rapport à l'examen direct. Notre but spécifique est de déterminer le TDR le plus approprié selon le type de prélèvement.

Les critères « **ASSURED** » (OMS) du TDR sont :

- précis, simple à utiliser;
- peu coûteux, facile à interpréter;
- stable dans des conditions extrêmes;
- peu ou pas de traitement de l'échantillon;
- culturellement acceptable.

La décision du choix d'un test ou l'autre dans l'approche de veille sanitaire post élimination, privilégie la sensibilité, la spécificité, la robustesse, la simplicité d'utilisation ou d'interprétation et le caractère invasif du prélèvement.

Jusqu'à présent, l'OMS déclare qu'il n'y a pas de test sérologique idéal pour le diagnostic de *S. haematobium* dans les aires à faible endémicité (performant et pas cher).

Le Maroc a présenté une étude sérologique pilote à base du test **HAMA-EITB**, hautement sensible et spécifique. Cependant, le test n'est pas adapté aux études de terrain (nécessite un laboratoire) et il est cher, puisqu'il nécessite la production en masse des vers de *S. haematobium* par infestation des souris, l'extraction et la purification des protéines HAMA et une grande expertise.

Le coût du test de diagnostic de la bilharziose, comparé au coût du traitement de masse d'une population donnée, est jugé bénéfique s'il coûte moins de 3 USD, neutre s'il est de 5 USD et est très cher quand il dépasse 5 USD (WHO, 1998).

Les tests rapides, **DDIA** (*S. japonicum*) et **RDT SmCTF** (*S. mansoni*), ne sont pas chers (1 USD/test), il sont adoptés par certains pays dans le diagnostic rapide des cas sporadiques de la bilharziose urinaire (Coulibaly *et al.*, 2013, Hua *et al.*, 2013). Néanmoins, ils suscitent une évaluation par une étude sérologique de masse dans les AFE à *S. haematobium* avant d'être adoptés dans un système de surveillance.

L'**HAI**, à base des antigènes de ver de *S. haematobium*, a une performance plus grande que celles du test ELISA-SEA, DDIA et SmCTF (Gool *et al.*, 2002; Bosompen *et al.*, 2004, Hans Friedemann *et al.*; 2012), car les anticorps anti-vers sont plus abondants que les anticorps anti-œufs (El Kawaz *et al.*, 2009, Mutapi *et al.*, 2011). Cependant, le prélèvement sanguin capillaire s'avère invasif pour les enfants dans les études de masse de veille sanitaire. Dans

l'impossibilité d'avoir un test rapide idéal, performant, non invasif et moins cher, l'HAI peut être adapté au terrain en utilisant la méthode de prélèvement d'une goutte de sang du doigt, standardisée dans notre étude sérologique en 2009. La dilution préliminaire estimée à 1/20 de la goutte de sang dans le stabilisant peut être diluée par la suite à 1/80 (titre seuil de l'HAI). La manipulation ne nécessite pas d'équipements, d'électricité ni d'expertise. Le résultat pourrait être lu en 2h (120 analyses/plaque).

Les résultats séropositifs des sujets obtenus par l'HAI, supposent une infection récente chez les enfants et une infection résiduelle ou récente chez les adultes (Cavalcanti *et al.*, 2013). La confirmation de l'infection active nécessite la détection des antigènes circulants de *Schistosoma* (protéines ou ADN) (Lu *et al.*, 2012). Les tests rapides de détection des antigènes, adaptés aux terrains de faible endémicité, sont rares. Le diagnostic par la filtration des urines est adopté dans la surveillance de la maladie dans certains pays à faible endémicité tels que l'Iraq (Anton *et al.*, 2008), le Ghana (Kosinski *et al.*, 2011), l'Iran et d'autres, mais il n'est pas adapté au terrain puisqu'il nécessite un microscope (Knopp *et al.*, 2012). La version rapide de ce test développée par Johnathan *et al.* (filtration des urines, ajout du conjugué au filtre, et visualisation des œufs colorés en bleu à l'œil nu) est peu cher et sensible aux aires de faible endémicité (Johnathan *et al.*, 2011 ; Coulibaly *et al.*, 2013). Néanmoins, la filtration des urines, dans les études de masse, s'avère non hygiénique.

Le test rapide **FT UCP RDT** est capable de détecter la présence des dérivés antigéniques d'un seul vers de *S. haematobium* dans le sang ou les urines. L'évaluation au Pemba, la ville portuaire du Mozambique, a montré une prévalence trois fois (3x) à dix fois (10x) plus grande que la prévalence par l'examen microscopique des urines (données en cours de publication par Corstjens *et al.*). Le coût est de 5-6 USD ; l'amélioration de ce test est en cours pour diminuer ce coût. Ainsi on pourra adopter ce test hautement sensible, simple, et moins cher, à la place de la PCR, adopté dans la stratégie de surveillance en Brazil (Cavalcanti *et al.* 2013).

Actuellement, il n'y a pas de test rapide idéal pour le diagnostic de *S. haematobium* dans les aires à faible endémicité. Néanmoins, l'HAI et/ou le DDIA (détection des anticorps) et la RDT filtration et/ou la FT UCP CAA (détection des antigènes) sont plus performant que le diagnostic par l'examen direct des urines seul. Ces tests méritent d'être évalués dans des études pilotes de veille sanitaire dans la phase post élimination de la bilharziose.

Dans le cadre de veille sanitaire, la sérologie positive et le test parasitologique de l'urine négatif (filtration/FTUCP) peuvent avoir plusieurs interprétations probables:

Chez la population non traité :

- Infection active chez les enfants.
- Résistance naturelle aux infections par *Schistosoma* chez les adultes

Chez la population traitée :

- Persistance des anticorps estimée à une année après le traitement des individus.
- Réinfection récente par le parasite (Utzinger *et al.*, 2010, Johanson *et al.*, 2010, Rollinson *et al.*, 2013).

L'infection active est un haut risque de réémergence de la maladie et suscite des investigations épidémiologiques urgentes, un traitement de masse de la population et des surveillances malacologiques.

Le système de veille sanitaire proposé dans la phase post élimination au Maroc, consiste à évaluer l'infection prépatente par *S. haematobium* chez les bulins et les planorbes, par un test moléculaire, selon un planing qui dépend du risque de réémergence de la bilharziose urinaire dans chaque province (Figure 42).

La surveillance malacologique se fait au début de la saison de transmission et la surveillance sérologique à la fin de la saison de transmission (Figure 42).

La collecte des bulins prend en compte le modèle local des contacts homme/eau et les variations saisonnières de l'infestation chez les bulins. Par exemple, les mouvements saisonniers de main-d'œuvre vers les canaux d'irrigation, de même que la forte densité des bulins entre janvier et mai accroissent le potentiel de transmission ; cette période s'avère donc la plus opportune pour la collecte de ces mollusques dans certaines provinces. Pour, d'autres provinces, c'est plutôt l'été (juin-août) ou les enfants nagent au niveau des oueds.

L'analyse sérologique se fait vers la fin de la saison de transmission, c'ad après contact probable entre les habitants et les bulins (baignade, irrigation.. etc). C'est généralement après la saison d'été, ou les contacts homme/bulins est très important.

L'OMS exige que l'examen malacologique soit par des tests moléculaires très sensibles. En 2008, l'OMS a recommandé l'utilisation de la PCR DraI et la PCR Sh110 SmSI, utilisés dans notre étude en 2009. Néanmoins, notre étude bibliographique a montré qu'en 2010, Webster *et al.* ont développé au musée d'histoire naturelle de Londres (Natural History Museum) une

PCR multiplexe, basée sur la détection d'une séquence mitochondriale COX1 (cytochrome oxidase subunit 1), qui s'est avérée très utile pour discriminer entre *S. haematobium* et *S. bovis*, et ceci par une seule PCR. Or, la limite de détection de l'ADN de *Schistosoma* par ce test PCR est de l'ordre de 0,8 ng/ml. Cependant, la concentration d'ADN d'un miracidium (infectant un bulin) est de 1–2 ng/ml, et en prenant en considération qu'on ne prend que le 1/10^{ème} de l'extrait d'ADN, on présume qu'on n'a à révéler que 0,1 à 0,2 ng/ml par bulin infecté, ou moins encore si on utilise des pools d'extrait d'ADN.

De ce fait, la-COX1 PCR, s'avère moins sensible pour la détection des infections prépatentes, dans la phase post-élimination de la bilharziose, et nécessite d'être raffinée par l'utilisation de la RT PCR de telle sorte qu'on obtient une très bonne sensibilité allant jusqu'à ≤ 1 pg/ml (Abbasi *et al.*, 2012). D'autre part, la COX1 PCR est réalisée sur des extraits d'ADN pures des schistosomes de l'Afrique, et n'est pas évaluée sur des extraits d'ADN de bulins infectés, dont les inhibiteurs, telle que la coquille, peuvent diminuer la sensibilité du test.

Abbasi *et al.* ont développé, en 2012, la DraI/Sh73 PCR basée sur le primer combiné de DraI reverse primer (DraI) et Sh73 direct primer (73d). La DraI/Sh73 PCR peut discriminer sur un gel, entre *S. haematobium* et *S. bovis*, avec une sensibilité de 1 pg et 10 pg respectivement ce qui garantit la détection des infections prépatentes des bulins (Abbasi *et al.*, 2012).

L'évaluation du test DraI/Sh73 PCR, dans la large surveillance malacologique de Fkih Ben Saleh, montre sa faisabilité, et utilité. Le test ne nécessite pas de digestion enzymatique des amplifiats et discrimine entre *S. bovis* et *S. haematobium* suite à une seule manipulation. En outre, le nouveau test est plus économique que l'utilisation simultanée de la PCR DraI et la PCR Sh110 Sm-SL. L'absence de l'infection des bulins par *S. haematobium* à Fkih Ben Saleh est corrélée à 100% avec la prévalence humaine de la bilharziose urinaire dans la province, et présente un argument malacologique pour la certification de l'élimination de la maladie dans cette province après 14 ans de maintien d'une incidence de zéro%.

L'examen négatif indique un faible risque de réémergence de la maladie, tandis que l'examen moléculaire positif des bulins ou planorbes, indique un haut risque de réémergence de la bilharziose urinaire et nécessite des investigations épidémiologiques urgentes.

Pour la lutte malacologique des gîtes positif, les moments les plus opportuns pour l'application des molluscicides se placeraient après la période de ponte (mars), et avant que de

nombreux jeunes bulins contaminés ne deviennent infestants pour l'homme (début septembre) (Belkacem *et al.*, 2006). La lutte se fera une fois par an, pour les gîtes positifs, pendant 3 ans. Suivant le model du programme malacologique de la chine (Hongchang *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2005. En effet, la lutte n'élimine pas tout les bulins et il se peut que quelques bulins (juvéniles) persistent à faible densité pendant 2 ans (âge approximative des bulins) (Flemming *et al.* 1979).

Les responsables, des services des maladies parasitaires et vecteurs de la DELM ont approuvé l'approche et ont *recommandé de* faire une étude pilote, à l'échelle d'une province à haut risque de réémergence, au cours de l'année 2015.

Pour consolider la stratégie de veille sanitaire, certaines mesures élémentaires peuvent être primordiales, tels que :

- Dans le cas des bassins d'irrigation, un assèchement temporaire des bassins, suivi d'un curage et de l'application de chaux sur les parois peut aboutir à des résultats très satisfaisants; mais ceci à condition de les nettoyer méticuleusement au moins deux fois par an (janvier et septembre). Dans le cas des puisards, pour réduire le coût des opérations, on peut éventuellement les couvrir par des grillages pour éviter les contacts homme/eau. Cependant, la solution la plus adéquate, c'est les canaux souterrains, qui permettent d'alimenter en eau les canaux traditionnels au moment de l'irrigation. Grâce à ce moyen, on évite l'installation, la pullulation de *B. truncatus* et on réduit au maximum les contacts homme/eau (Laamrani *et al.*, 2002).
- Les modifications du comportement de l'homme par rapport à l'eau et aux moyens thérapeutiques disponibles sont indispensables à toute action de lutte contre la schistosomiase. La réussite de cette intégration passe par les activités de sensibilisation (surtout au niveau des écoles). La connaissance des mesures de lutte contre la schistosomiase doit être acquise ; de même l'intervention d'un mollusque dans la transmission de la schistosomiase urinaire et la notion de réinfestation doivent être connues par la population (Gabra *et al.*, 2001). Le coût d'une telle mesure ne doit pas être mis sur le seul compte de la schistosomiase, puisqu'il profite à l'amélioration de la qualité de l'eau, à la prévention des nuisances du paludisme, et donc à l'amélioration de l'état de santé de la population et de son environnement. La surveillance régulière des canaux d'irrigation exigerait entre 60 à 90 jours par an. Le

coût de la main d'œuvre varie de 5 à 8 dollars US suivant les saisons, mais dans le cas d'une participation active de la communauté (population locale, collectivités, office de mise en valeur agricole, ministère de la santé et office de l'eau potable), le coût de cette main-d'œuvre serait insignifiant afin d'en assurer la continuité (Belkacemi 2006)

- La mise à niveau du réseau des laboratoires provinciaux de la bilharziose, à l'échelle nationale, est la pierre angulaire de tout progrès qui peut être obtenu dans les programmes de lutte contre la schistosomiase.

Ces mesures élémentaires peuvent être économiques, continues et efficaces. Beaucoup d'efforts doivent être dirigés vers le contrôle de la bilharziose importée des pays endémiques ; ce qui est très difficile à réaliser, vu le grand flux des immigrants clandestins africains. Néanmoins, la régularisation de la situation des immigrants et le dépistage des cas importés, peuvent faciliter l'élaboration de la carte de risque de réémergence de la maladie.

L'étude sérologique et malacologique réalisées, présentent des arguments scientifiques sur l'interruption de la transmission de la bilharziose urinaire au Maroc, et témoignent de l'efficacité des efforts de lutte contre la bilharziose. L'approche vigilante de la stratégie de veille sanitaire sérologique et malacologique proposée, va supporter le maintien de l'élimination, la prévention de la réémergence de la maladie et la certification de l'élimination de la maladie par l'OMS, comme c'est le cas pour le paludisme en 2010.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans le plan stratégique de l'OMS, le Maroc fait parti des 8 pays qui devaient vérifier l'achèvement de l'interruption de la transmission de la bilharziose urinaire, par l'évaluation de l'infection à *S. haematobium* chez l'homme et l'hôte intermédiaire (WHO, 2013a).

L'étude séro-épidémiologique de la bilharziose urinaire chez les enfants des foyers à passé épidémiologique récent, est réalisée en 2009, à El Kelaâ des Sraghna, Tata, Béni Mellal, Errachidia et Chtouka Aït Baha. Le prélèvement est non invasive, car une goutte de sang de la pulpe digitale est recueillie directement sur du papier buvard ce qui encourage les bébés/enfants à participer à l'étude. Le diagnostic est réalisé par la technique Enzyme Immuno-Transfert Blot, à base de deux antigènes microsomaux des vers adultes de *S. haematobium* (HAMA EITB), hautement sensible et spécifique. Les résultats ont montré l'absence de l'infection humaine à *S. haematobium* chez tous les enfants. En outre, l'évaluation moléculaire de l'infectivité des bulins collectés des gîtes des mêmes foyers est réalisée par la PCR DraI, spécifique pour le groupe *haematobium*. La confirmation de l'infection des bulins par *S. haematobium* ou *S. bovis* est réalisée par la PCR Sh 110 SmSI, recommandées par l'OMS (WHO, 2008). Ces techniques moléculaires ont une sensibilité de détection de 10 fg d'ADN de *Schistosoma*, permettant l'analyse des pools des extraits d'ADN et la détection des infections prépatentes, une heure après l'infestation du bulin (Abassi *et al.*, 2007 ; Hamburger *et al.*, 2004 ; Melo *et al.*, 2006).

L'étude malacologique a montré l'absence de trace d'ADN de *S. haematobium* dans tout les bulins. Les résultats de notre étude présentent des arguments scientifiques sur l'élimination de la maladie au Maroc, et témoignent des efforts de lutte contre la maladie, depuis 1982, favorisés par les changements environnementaux.

Après la confirmation de l'interruption de la transmission de la bilharziose urinaire au Maroc, la certification de l'élimination par l'OMS consiste à maintenir l'incidence à zéro % pendant dix ans consécutifs (2004-2014). La surveillance/veille sanitaire doit être réalisée par des tests sérologiques de détection des anticorps, au lieu de l'examen direct des urines et des tests malacologique très performants (WHO, 2008). Dans cette optique, nous réalisons une étude comparative des performances des tests rapides, sérologiques et

malacologiques disponibles dans la littérature jusqu'à 2013. Le test HAI, à base des antigènes de *S. haematobium*, s'avère le test rapide le plus performant, le moins cher et adapté au terrain. La confirmation de l'infection active chez les séropositifs sera réalisée par le test rapide de filtration (1 USD/test), ou le test immunochromatographique FTUCP, plus performant mais plus cher (6 USD/test).

Les tests malacologiques appropriés pour la surveillance de la transmission dans la phase post-élimination, sont les tests moléculaires. L'analyse des bulins par deux PCR, DraI PCR/Sh110SmSI PCR, nécessite plus de temps et de réactifs. Le test PCR DraI/Sh73 est le test sensible, spécifique privilégié dans la surveillance. Une évaluation de ce test est réalisée au laboratoire sur les bulins collectés de la commune de Krifat, de la province de Fkih Ben Saleh en 2013. Le test s'avère pratique, économique, sensible et spécifique.

La gestion de la surveillance/veille sanitaire humaine et malacologique, proposée dépend des aires géographiques qui peuvent être subdivisées en trois parties (Figure 47):

+ Province à passé épidémiologique récent : les surveillances se font périodiquement chaque 5 an.

+Province avec présence de cas positif importé : les surveillances se font chaque an

+Province avec présence de regroupement des immigrés à proximité des gîtes des bulins : les surveillances se font chaque an.

La surveillance malacologique, par la PCR, sera réalisée au début de la phase de transmission (Mai, Août), et la surveillance parasitologique sera réalisée à la fin de la phase de transmission. Les résultats positifs (sérologique ou malacologiques), susciteront des investigations épidémiologiques. La lutte physique et chimique des gîtes positif, doit être réalisée après la période de ponte (mars), et avant que de nombreux jeunes bulins contaminés ne deviennent infestant pour l'homme (début septembre), une fois par an, pendant 3 ans.

Le maintien de l'élimination est une entreprise de longue haleine, mais tout à fait réalisable. Une stratégie de surveillance/veille sanitaire vigilante, et des mesures élémentaires économiques, continues peuvent être très efficaces. Les données acquises dans ce travail ne doivent pas rester limitées à un cadre de recherche universitaire et peuvent être exploitées à l'échelle nationale et internationale.

PERSPECTIVES

Dix ans après la notification du dernier cas en 2004, le Maroc vise la certification de l'élimination de la bilharziose urinaire. Dans cette optique, une autre étude sérologique et malacologique nationale, doit être réalisée pour vérifier le maintien de l'élimination de la bilharziose. En outre le système de surveillance de routine, doit adopter des indicateurs de suivi épidémiologique précis et sensibles. Une étude pilote de la stratégie de veille sanitaire sera réalisée à l'échelle d'une province, pour la raffiner, avant d'être généralisée à l'échelle nationale.

En perspective, le développement d'un test sérologique HAMA EITB, mais à base d'antigènes recombinants de *S. haematobium*, pourrait garantir des tests performants à bas prix, et soulever le défi de la surveillance parasitologique de la bilharziose urinaire dans les aires à faible endémicité. L'incorporation du programme de la bilharziose avec les autres maladies parasitaires digestives, endémiques au Maroc, pourra garantir la continuité du suivi de la surveillance de la population, surtout avec un développement nano technologique des tests de multi diagnostic de plusieurs parasitoses à partir d'une seule goutte de sang.

Le développement du test LAMP, adapté au terrain, pourra diminuer le coût des tests moléculaires.

La modélisation mathématique du contrôle de la bilharziose paraît primordial dans quatre domaines liés à la prévention de la réémergence de la maladie tels que:

- les effets potentiels du changement climatiques, (la température, les précipitations, les vents, la neige, et autres ayant un impact réel sur les bulins et la dynamique des populations des schistosomes);
- les données socio économiques collectées par le système d'information géographique (Scholte *et al.*, 2013; Uysal *et al.*, 2013, Oyaert *et al.*, 2013);
- les données liées à l'immigration clandestine, les réfugiés, les projets, les voyageurs (Jenkins *et al.*, 2013, Liang *et al.*, 2013) et l'établissement de la carte de risque qui présente la distribution des cas d'importation ;

- La modélisation des performances du dépistage, dans la surveillance parasitologique, permet d'ajuster l'échantillonnage, diminuer le coût, et d'augmenter la sensibilité et la spécificité du dépistage (Chippaux *et al.*, 2010).

L'étude de ces paramètres pourra être importante dans l'évaluation de la surveillance, le maintien de l'élimination, la prédiction du risque de réémergence de la maladie et la certification (McCreesh *et al.*, 2013).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbasi I, Hamburger J, Curtis K, Peter LM, Eric MM and Charles HK. (2012). Differentiating *Schistosoma haematobium* from related animal schistosomes by PCR amplifying inter repeat sequence flanking newly selected repeated sequences. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 87(6): 1059–1064.

Abbasi I, King CH, Muchiri EM and Hamburger J. (2010). Detection of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* DNA by Loop-Mediated Isothermal Amplification: Identification of Infected Snails from Early Prepatency. *American Journal of tropical Medicine and Hygiene*, 83(2): 427–432.

Abbasi I, King CH, Sturrock RF, Kariuki C, Muchiri E and Hamburger J. (2007). Differentiation of *S. haematobium* by PCR amplifying an inter-repeat sequence. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 76: 950–95.

Abdel-Wahab M, Zakaria S, Kamel M, Abdel-Khaliq M, Mabrouck M and Salama H. (1994). High seroprevalence of hepatitis C infection among risk groups in Egypt. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 51(5): 563-7.

Aceti A, Taliani G, Bruni R, Sharif O, Moallin K and Celestino D. (1993). Hepatitis C virus infection in chronic liver disease in Somalia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 48(4): 581-4.

Agoumi A and Abdelhfid D. (2006). Ressources eau et bassins versant du Maroc: 50 ans de développement (1955-2005). *Royaume du Maroc, Haut commissariat au Plan*: 15.

Al Sherbiny MM, Osman AM, Hancock K, Deelder AM and Tsang VCW. (1999). Application of immunodiagnostic assays: Detection of antibodies and circulating antigens in human schistosomiasis and correlation with clinical findings. *American Journal of tropical Medicine and Hygiene*, 60(6): 960-6.

Amarir F, El Mansouri B, Fella H, Sebti F, Lakranbi M, Handali S, Wilkins P, Laamrani El Idrissi A, Sadak A, and Rhajaoui M. (2011). National Serologic Survey of

Haematobium Schistosomiasis in Morocco: Evidence for Elimination. *American Journal of tropical Medicine and Hygiene*,84(1): 15–19.

André Rodrigues MD, and Lilian SA. (2009). Tortuous Varicosities in Chronic Schistosomiasis. *N Engl J Med*; 361:e9

Anton S.Y. 2008. Application of (test & treat approach) by reagent strip for schistosomiasis screening in receptive areas of Alnaseria & Alamara governorates in Iraq during 2008. *Rapport of Schistosomiasis and intestinal parasites section & NPM of Schistosomiasis program of Iraq* : 1-60.

Ashton RA, Stewart BT, Petty N, Lado M, Finn T, Brooker S and Kolaczinski JH. (2011). Accuracy of circulating cathodic antigen tests for rapid mapping of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infections in Southern Sudan. *Tropical Medicine and International Health*, 16: 1099–1103.

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (2008-2009). Polycopié de Bilharziose. Support de cour.

Attwood SW, Lokman HS, and Ong KY. (2005). *Robertsia silvicola*, a new species of triculine snail (caenogastropoda: pomatiopsidae) from peninsular malaysia, intermediate host of *schistosoma malayensis* (trematoda: digenea). *Journal of Molluscan Studies*, 71(4): 379–391

Ayele B, Erko B, Legesse M, Hailu A and Medhin G. (2008). Evaluation of circulating cathodic antigen (CCA) strip for diagnosis of urinary schistosomiasis in Hassoba school children, Afar, Ethiopia. *Parasite*, 15: 69–75.

Barabe P, Guigon B, Capdevielle P, Charles D and Delamarre B. (1984). Diagnostic de la bilharziose à *Schistosoma mansoni* à la phase de début. A propos de 77 cas. *Bulletin de la Société Pathologique et Exotiques Filiales*, 77: 491-8.

Barkia H, Barkia A, Nhami H and Belghiti D. (2011). La schistosomiase au Maroc de sa découverte à l'après élimination. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 17: 3.

Barkia H, Barkia A, Yakoubi R, Belfaquir M and Belghiti D. (2013). Impact de changements globaux sur la distribution des mollusques dulcicoles de la région de Gharb. *La science en liberté*, 5.

Bartholomew RK, Peters PAS and Jordan P. (1981). *Schistosoma mansoni* in St-Lucien and Kenyan communities. A comparative study using the Kato stool examination technique. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 75: 401-5.

Becquet R. (1972). La bilharziose à *Schistosoma intercalatum*. *Acta Gastroenterologica of Belgica*, 33: 285-306.

Belkacemi M and Belkacem JM. (2006). Curage et traitement molluscicide pour la lutte contre la schistosomiase. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 12: 129

Benderly BL. (2009). Ending Schistosomiasis. *Disease control priority project*.

Bertrand E, Le Bras M, Cathalan G and Carrie J. (1971). Les aspects rectoscopiques des bilharzioses et les corrélations parasitologiques. *Sem Hop Journal de Paris*, 47: 2729-35.

Boelee E and Laamrani H. (2004). Environmental control of schistosomiasis through community participation in a Moroccan Oasis. *Tropical Medicine and International Health*, 9(9): 997 – 1004

Bonfils S and Vilotte J. (1968). Les aspects endoscopiques de la bilharziose intestinale. *Revue Medical*, 3: 523-7.

Bonnard P, Kalach N, Cadranel JF, Remoué F, Riveau G and Capron A. (2000). Manifestations digestives et hépatiques de la bilharziose. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 24(4): 409.

Bosompem KM, Owusu O, Okanla OE, Kojima . (2004). Applicability of a monoclonal antibody-based dipstick in diagnosis of urinary schistosomiasis in the Central Region of Ghana. *Tropical Medicine & International Health*, 9: 991–996.

Botelho MC, Machado JC and da Costa JM. (2010). *Schistosoma haematobium* and bladder cancer: what lies beneath? . *Virulence*, 1(2): 84-7.

Botros S, Pica-Mattocci L, William S, El-Lakkani N, Cioli D. (2005). Effect of praziquantel on the immature stages of *Schistosoma haematobium*. *International Journal for Parasitology*, 35: 1453-1457.

Bourée P, Cazin A, Fouquet E, Passeron J and Bouvier JB. (1977). La bilharziose rectale à *Schistosoma intercalatum*. *Annals of Medicine Interne*, 10: 793-97.

Brahim O. (2008). La Bilharziose Uro Génitale dans la Provinces d'Errachidia; Actualités et Perspective d'Avenir (1997 a 2006). Thèse. *Faculté de Pharmacie et de Médecine de Rabat*.

Brown DS. (1994). Snails of Africa and their medical importance. *The 2nd Edition Taylor and Francis London*.

Brumpt E. (1922). La Bilharziose au Maroc. Répartition du *Bullinus contortus* et du *Planorbarius metidjensis*. Étude épidémiologique comparée du foyer tunisien de Gafsa et du foyer marocain de Marrakech. *Bulletin de la Société de Pathologie exotique*, 15(7): 632–641.

Cairo Working Group. (1992). Meeting on ultrasonography in schistosomiasis. Proposal for a practical guide to standardised use of ultrasonography in the assessment of pathological changes. UNDP/World bank/WHO special program for research and TDR/SCH/Ultrason/91.3/CTD/91.3. Geneva, Switzerland

Camerlynck P, Alaoui A and Benmansour N. (1974). Epidemiologic study of *Schistosoma haematobium* (Bilharz 1852) schistosomiasis in Morocco. *Maroc Medicine*, 54: 641 – 649.

Caméron RAD and Down K. (1980). Historical and environmental influences on hedgerow snails fauna. *Biological Journal of the Linnean Society*: 75-87.

Cavalcanti MG, Silva LF, Peralta RHS, Barreto MGM and Peralta JM. (2013). Schistosomiasis in areas of low endemicity: a new era in diagnosis. *Trends in Parasitology*, 29(2): 75-82.

Centre of diseases and control. (2013). Intermediate hosts for *Schistosoma* spp. *Global Health - Division of Parasitic Diseases and Malaria*.

Cetron MS , Chitsulo L , Sullivan JJ , Pilcher J , Wilson M , Noh J , Tsang VC , Hightower AW and Addiss DG. (1996). Schistosomiasis in Lake Malawi. *Lancet*, 348: 1274-1278.

Chandiwana SK, Taylor P, Makura O. (1987). Prévalence and distribution of *Schistosoma mattheei* in Zimbabwe. *Ann Société Belge de la Médecine tropicale*. 67: 167-172

Chandour AM, Al Robai AA, Doenhoff M and Sanaja AEAA. (1991). Epidemiology of schistosomiasis in the Western region of Saudi Arabia 1. Prevalence, intensity and incidence in the human population in the community. *Saudi Medical Journal* 12(1): 25-29

Chappell MA, Garland TJ, Rezende EL and Gomes FR. (2004). Voluntary running in deer mice: speed, distance, energy costs and temperature effects. *Journal of Experimental Biology*, 207: 3839 -3854.

Charles H and king MD. (2009). Toward elimination of schistosomiasis. *The New England Journal of Medicine*, 360: 106-109.

Charles HK and Bertsch D. (2013). Meta-analysis of Urine Heme Dipstick Diagnosis of *Schistosoma haematobium* Infection, Including Low-Prevalence and Previously-Treated Populations. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 7(9): 2431.

Chen M, Zhang HM, Liu X, Liu J, Dai YH, Xu JF and Peng XW. (2013). Relationship between schistosome serum test positive rate of residents and positive rate of *Oncomelania* snails in a national schistosomiasis surveillance site of Jiangling County. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi*, 25(3): 326-328.

Cheng G, Zeng WH, Wang WL, Xu CJ and Wan SP. (2013). Review on non-adaptivity of schistosomes and hosts. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi*, 25(2): 187-9

Chippaux JP and Massougbdji A. (2003). Synthèse et recommandations de la table ronde “Contrôle des schistosomoses en Afrique sub-saharienne”. Manuscrit n° 2554/Lisb. 3^e congrès européen de médecine tropicale et santé publique, Lisbonne, Portugal.

Chitsulo L, Loverde P and Engels D. (2004). Schistosomiasis. *Nature Reviews Microbiology*, 2: 12-13

Chlyeh G, Henry PY, Sourrouille P, Delay b, Khallaayoune K and Jarne P.(2002). Population genetics and dynamics at short spatial scale in *Bulinus truncatus*, the intermediate host of *Schistosoma haematobium*, in Morocco. *Parasitology*, **125**: 349±357.

Cioli D and Dennert G. (1976). The course of *Schistosoma mansoni* infection in thymectomized rats. *Journal of Immunology*, 117(1): 59-65.

Colley DG, Binder S, Campbell C, King CH, Tchuem Tchuenté LA, N'Goran EK, Erko B, Karanja DMS, Kabatereine NB, Lieshout LV and Rathbun S. (2013). A Five-Country Evaluation of a Point-of-Care Circulating Cathodic Antigen Urine Assay for the Prevalence of *Schistosoma mansoni*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(3):426-32.

Connet M. (1937). Existence d'un foyer de bilharziose vesicale Akka (decouvert pour la premiere fois). *Maroc Medicine*, 63: 365 –366.

Correa-Oliveira R, Dusse LM, Viana LR, Colley DG, Santos Carcalho G. (1988). Human antibody responses against schistosomal antigens. I-Antibodies from patients with *Ancylostoma*, *Ascaris lumbricoides* or *Schistosoma mansoni* infections react with *Schistosoma* antigens. *American Journal of tropical Medecine and Hygiene*, 38(2): 348-55.

Couissinier-Paris P and Dessein AJ. (1995). *Schistosoma*-specific helper T cell clones from subjects resistant to infection by *Schistosoma mansoni* are Th0/2. *European Journal of Immunology*, 25(8): 2295-2302.

Coulibaly JT, N'Goran EK, Utzinger J, Doenhoff MJ and Dawson EM. (2013). A new rapid diagnostic test for detection of anti-*Schistosoma mansoni* and anti-*Schistosoma haematobium* antibodies. *Parasit Vectors*, 6: 6-29.

Coyle CM. (2013). Schistosomiasis of the nervous system. *Handbook of Clinical Neurology*, 22: 271-81.

David W and Cook DA. (2005). A worm eye view of the immune system , consequences for evolution of human autoimmune disease. *Nature review Immunology*, 5(5): 420-426.

Davis GM. (1992). Evolution of prosobranch snails transmitting Asian *Schistosoma*; coevolution with *Schistosoma*: a review. *Progress in Clinical Parasitology*, 3: 145–204.

Davis GM, Zhang Y, Guo YH and CM Spolsky. (1995). Population genetics and systematic status of *Oncomelania hupensis* (Gastropoda: Pomatiopsidae) throughout China. *Malacologia*, 37(1): 133–156.

Davis GM, Wilke T, Wu WP and XJ Xu. (2006). Ecogenetics of shell sculpture in *Oncomelania* (Gastropoda) in canals of Hubei, China, and relevance for *Schistosoma* transmission. *Malacologia*, 48(1–2): 253–264.

Deelder AM, Miller RL, de Jonge N and Krijger FW. (1990). Detection of schistosome antigens in mummies. *Lancet*, 335(8691): 724-5.

Del-Portillo HA and Damian RT. (1986). Experimental *Schistosoma mansoni* infection in a small New World monkey, the saddle-back tamarin (*Saguinus fuscicollis*). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 35(3): 515-522.

Dennis E, Vorkpor E, Holzer B, Hanson A, Saladin B, Saladin K and Degremont A. (1983). Studies on the epidemiology of schistosomiasis in Liberia. The pre-valence and intensity of schistosomal infection in Bong County and the bionomics of the snail intermediate hosts. *Acta Tropica*, 40(3): 205-229.

Dias LCS, Kawazoe U, Glasser CM, Hoshino-Shimizu S, Kanamura HY, Cordeiro JA, Guarata OF and Ishirata GJ. (1989). Schistosomiasis *mansoni* in the municipality of Pedro de Toledo (São Paulo, Brazil) where the *Biomphalaria tenagophila* is the snail host: I. Prevalence in human population. *Journal of the Institute of Tropical Medicine*, 31: 110 -118

Dieng I. (1999). Mécanisme de la compatibilité du schistosome avec son hôte définitif. Thèse. *Université Cheikh Anta Diop de Dakar au Sénégal*.

Doehring-Schwerdtfeger E, Kaiser C, Franke C, Kardorff R, Ali QM and Abdel-Rahim IM. (1992). Inter observer variance in ultrasonographical assessment of *Schistosoma mansoni*-related morbidity in young schoolchildren. *Acta Tropica*, 51: 85-8.

Doenhoff MJ, Chiodini PL and Hamilton JV. (2004). Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies?. *Trends in Parasitology*, 20: 35-39.

Domenico O, Mark LE. (2011). Zoonotic helminths affecting the human eyes. *Parasites & Vectors*, 4: 41

Doumenge JP and Mott KE. (1984). Global distribution of schistosomiasis: CEGET/WHO atlas. *World Health Stat*, 37: 186-199.

Downs JA, Kabangila R, Verweij JJ, Jaka H, Peck RN, Kalluvya SE, Changalucha JM, Johnson WD, van Lieshout L and Fitzgerald DW. (2013). Detectable urogenital schistosome DNA and cervical abnormalities 6 months after single-dose praziquantel in women with *Schistosoma haematobium* infection. *Tropical Medicine International Health*, 18 (9): 1090-6.

Dreyfuss G and Rondelaud D (2011). Les mollusques dans la transmission, des helminthiases humaines et vétérinaires. *Bulletin Académique et Vétérinaire de France*. Tome 164 (1).

El Kawaz E and F Ghaffarifar (2009). Evaluation of *Schistosoma haematobium* Adult and Egg Antigens by ELISA in Diagnosis of Urinary Schistosomiasis. *Iranian journal of parasitology*, 4: 55-60.

El Ridi R, Mahana N and Dalton JP (2010). Innate immunogenicity and in vitro protective potential of *Schistosoma mansoni* lung schistosomula excretory–secretory candidate vaccine antigens. *Microbes and Infection*, 12(10): 700–709

El Ridi R, Mahrous A, Afifi A, Montash M, Velek J and Jezek J (2001). Human and murine humoral immune recognition of multiple peptides from *Schistosoma mansoni* glyceraldehyde 3-P dehydrogenase is associated with resistance to Schistosomiasis. *Scandinavian Journal of Immunology*, 54.

El Ridi R and Tallima H. (2009). *Schistosoma mansoni* ex vivo lung-stage larvae excretory/secretory antigens as vaccine candidates against schistosomiasis. *Vaccine*, 27(5): 666-73.

El Shazly Y, Abdel-Salam AF, Abdel-Ghaffar A, Mohran Z and Saleh SM. (1994). Schistosomiasis as an important determining factor for the response of Egyptian patients with chronic hepatitis C to therapy with recombinant human γ -2 interferon. *Transaction Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(2): 229-31.

El Ouali E, Ghamizi M, Mouahid A and Moné H. (1999). Croissance et reproduction de *Bulinus truncatus* (Gastropoda : Planorbidae) en compétition intraspécifique et interspécifique avec *Melanopsis praemorsa* (Gastropoda : Melanopsidae). *Annales de Limnologie*, 35: 41 – 47.

El Toum LA, Sulaiman SM, El Turabi H, Mahgoub E and Humeida MMA. (1993). Infection with *Schistosoma mansoni* in two different endemic areas. A comparative population based study in Elziedab and Gezira Managil irrigation schemes, Sudan. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 96(2): 100-106.

Etard JF, Audibert M and Dabo A. (1995). Age-acquired resistance and predisposition to reinfection with *Schistosoma haematobium* after treatment with praziquantel in Mali. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 52: 549–558.

Farahat Allam A (2012). Diagnostic of schistosomiasis in low endemic areas. *Alexandria, University Egypte. Interchopen.com.*

Feldmeier H, Nogueira-Queiroz JA, Peixoto-Queiroz MA, Doehring E, Dessaint JP, and Alenias JE. (1986). Detection and quantification of circulating antigen in schistosomiasis by monoclonal antibody. II-The quantification of circulating antigens in human schistosomiasis *mansoni* and *haematobium* : relationship to intensity of infection and disease status. *Clinical & Experimental Immunology*, 65: 232-43.

Fenwick A, Rollinson D and Southgate V. (2006). Implementation of human schistosomiasis control: Challenges and prospects. *Advances in Parasitology*, 61: 567

Ferandel A. (2001). La bilharziose urinaire dans le monde « Aspect épidémiologique ». Thèse. *Faculté de Pharmacie, Université Henri Poincaré, Nancy France.*

Ferrari T.C. (2010). A laboratory test for the diagnosis of neuroschistosomiasis. *Neurological Research*, 32: 252–262

Flemming F. (1979). Study of the relationships between *Schistosoma* and their intermediate hosts.1. The genus *Bulinus* and *S. haematobium* from Egypte. *Journal of Helminthology* (53)-01.

Gabra A et al, (2001). Impact de la sensibilisation des populations dans la lutte contre la bilharziose urinaire au Niger. *Cahiers d'études et de recherches francophones (santé)*, 11(1):38–42.

Gabriele S and Helmut H. (2010). Th2 immune response against *Schistosoma mansoni* infection. *Microbes and Infection*, 12(12-13): 881-8.

Gaud J. (1951). Revue critique des travaux consacrés à la bilharziose vésicale au Maroc. *Bulletin de l'Institut d'Hygiène du Maroc*, 11(1,2): 69–95.

Gaud J. (1958). Rythme biologique des mollusques vecteurs de bilharziose. *Bulletin de l'OMS*, 18: 751-769.

Gentilini M, Dufflo B and AUPELF (2000). Les maladies parasitaires: les schistosomes. *Cours. Medecine tropicale.*

Gentilini M, Games E, Danis M, Mouchet J, Dufflo B, Lagardère B, Richard le noble D, et Boucker G. (1993). *Medicine tropicale*. Livre, 5^e édition, Medecine Sciences, Paris, Flammarion: 928 pages: 221-35.

Ghamizi M. (1998). Les mollusques des eaux continentales du Maroc: Systématique et bioécologie. Thèse. Faculté des Sciences de Marrakech, 553p.

Gholamreza M, Jafar M, Allahbedasht M, Nikkhooy A, Mahammad KA, Rokni MB (2008). Reference Survey of Urinary Schistosomiasis in Iran, *Pak J Med Sci*; 24(6):857-60

Giezendanner FD. (2012). Taille d'un échantillon aléatoire et Marge d'erreur - CMS-SPIP.

Goerlitz D, Amr S, Dash C, Saleh DA, El Daly M, Abdel-Hamid M, El Kafrawy S, Hifnawy T, Ezzat S, Abdel-Aziz MA, Khaled H, Zheng YL, Mikhail N and Loffredo CA. (2014). Genetic polymorphisms in NQO1 and SOD2: Interactions with smoking, *Schistosoma* infection, and bladder cancer risk in Egypt. *Urologic Oncology*, 32: 15-20.

Golvan YJ (1990). Eléments de parasitologie médicale. Flammarion Médecine-Sciences, 4ème édition. 571 pages.

Gosteli M. (1996). Diversities of snails faunas and ecological relationships between snails communities and vegetation in dry habitats of the northern Swiss Jura. *Malakologische Abhandlungen (dresden)*, 18(1-13): 107-123

Gryseels B, Polman K, Clerinx J and Kerslens L. (2006). Human schistosomiasis. *Lancet*, 368: 1106-13.

Gryseels B and De Vlas SJ. (1996). Worm burdens in schistosome infections. *Parasitol Today*, 12: 115–119.

Hagan, P, Blumenthal UJ, Dunn D, Simpson AJ and Wilkins HA. (1991). Human IgE, IgG4 and resistance to reinfection with *Schistosoma haematobium*. *Nature*, 349: 243–245

Hamburger J, Hoffman O, Kariuki HC, Muchiri EM, Ouma JH, Koech DK, Sturrock RF, King CH. (2004). Large-scale, polymerase chain reaction-based surveillance of *Schistosoma haematobium* DNA in snails from transmission sites in coastal Kenya: a new tool for studying the dynamics of snail infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 71: 765 – 773.

Hambourger J. (1989). *Schistosoma mansoni* antigene recognized in *Biomphalaria glabrata* hemolymph by monoclonal antibodies. *American Journal of tropical Medecine and Hygiene*, 40 : 605-612.

Hamburger J, He-Na, Xu Y-X, Ramzy RM, Jourdane J and Ruppel A. (1998). A polymerase chain reaction assay for detecting snails infected with bilharzia parasites (*Schistosoma mansoni*) from very early prepatency. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59: 872– 876.

Hamburger J, Xu Y-X, Ramzy RM, Jourdane J and Ruppel A. (1998). Development and laboratory evaluation of a polymerase chain reaction for monitoring *Schistosoma mansoni* infestation in water. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59: 468–473.

Hamburger J, He N, Abbasi I, Ramzy RM, Jourdane J, Ruppel A. (2001). Polymerase chain reaction assay based on highly repeated sequence of *Schistosoma haematobium*: a potential tool for monitoring schistosome infested water. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 65: 907–911.

Hammedi R. (2013). Poster bilh intestinale. Student at ÉTS – Rapport de l'École de technologie supérieure.

Handali S, Rodriguez S, Noh J, Gonzalez AE, Garcia HH, Gilman RH, Roberts JM, Hancock K and Tsang VC. (2007). A simple method for collecting measured whole blood with quantitative recovery of antibody activities for serological surveys . *Journal of immunological methods*, 320: 164 – 171.

Handing P, Desheng H, Ketai W. (2002). Approach to surveillance and consolidation during past 15 years after elimination of schistosomiasis in Shanghai. *Acta Tropica*, 82: 301–303

Hans Friedemann Kindel et al., . (2012). Evaluation of eight serologicql tests for diagnosis of imported schistosomiasis. *Clin vaccine Immunol* 19, 6: 948

Hira PR. (1975). Observations on *Schistosoma mattheei* Veglia and le roux, 1929 infections in Man in Zambia. *Ann. Société Belge Medecine Tropicale*. 55, 6 : 633-642

Hongchang Yuan, Qingwu J, Genming Z and Na He. (2002). Achievements of Schistosomiasis Control in China. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 97: 187-189.

Hove RJ, Verweij JJ, Vereecken K, Polman K, Dieye L and van Lieshout L. (2008). Multiplex real-time PCR for the detection and quantification of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infection in stool samples collected in northern Senegal. *Transaction of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102: 179–185.

Houmsou RS, Kela SL, Suleiman MM. and Asian Pac. (2011). Performance of microhaematuria and proteinuria as measured by urine reagent strips in estimating intensity and prevalence of *Schistosoma haematobium* infection in Nigeria. *Journal of Tropical Medicine*, 4: 997-1000.

Hua Hy, Wei w, Guo Qun, you Sheng Liang. (2013). Improving the management of imported schistosomiasis *haematobia* in China: lessons from a case with multiple misdiagnoses. *Parasites & Vectors*, 6:260

Huve S and Girard PM. (1989). Fièvre de Safari. *Revue du Praticien*, 54: 77-8.

Ibironke O, Koukounari A, Asaolu S, Moustaki I and Shiff C. (2012). Validation of a new test for *Schistosoma haematobium* based on detection of Dra1 DNA fragments in urine: evaluation through latent class analysis. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 6: 1464.

INH (Institut national d'hygiène). (2010). Enquête sérologique et malacologique de la bilharziose urinaire. *Rapport annuel du laboratoire national de référence de la bilharziose*.

INH, Laboratoire National de Référence de la Bilharziose. (2009). Photo de l'enquête sérologique de la bilharziose réalisée en 2009. *Rapport de la mission sérologique de la bilharziose*, 2009.

International Association for Medical Assistance to Travelers. (2010). World Schistosomiasis Risk Chart, Available at: http://www.iamat.org/pdf/World_Schistosomiasis_Risk_Chart.pdf.

Jenkins-Holick DS, Kaul TL. (2013). Schistosomiasis. *Urology Nurse*, 33: 163-70.

Job M. (1915). La bilharziose au Maroc. *Société Médicale des Hôpitaux de Paris*, 3(39,40): 1283–1285.

- Johnson PD.** (2009). Sustaining America's Aquatic Biodiversity Freshwater Snail Biodiversity and Conservation. *Virginia Cooperative Extension*. publication 420-530
- Jordan P, Rosenfield PL.** (1983). Schistosomiasis control: past, present, and future. *Annual Review of Public Health*, 4: 311-34.
- Jourdane J.** (1982). Étude des mécanismes de rejet dans les couples mollusques schistosome incompatibles à partir d'infestations par voie naturelle et par transplantations microchirurgicales de stades parasitaires. *Acta Tropica*, 39: 325–335.
- Kjetland EF, Hove RJ, Gomo E, Midzi N, Gwanzura L, Mason P, Friis H, Verweij JJ, Gundersen SG, Ndhlovu PD, Mduluzi T, Van Lieshout L.** (2009). Schistosomiasis PCR in vaginal lavage as an indicator of genital *Schistosoma haematobium* infection in rural Zimbabwean women. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 1050–1055.
- Gool VT, Vetter H, Vervoort T, Doenhoff MJ, Wetsteyn J, Overbosch D.** (2002). Serodiagnosis of imported schistosomiasis by a combination of a commercial indirect hemagglutination test with *Schistosoma mansoni* adult worm antigens and an enzyme-linked immunosorbent assay with *S. mansoni* egg antigens. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(9): 3432-7.
- Glenn CT, Lance SL, McKee AM, Webster BL, Emery AM, Zerlotini A, Oliveira G, Rollinson D and Faircloth BC:** Significant variance in genetic diversity among populations of *Schistosoma haematobium* detected using microsatellite DNA loci from a genome-wide database. *Parasites & Vectors* 2013, 6:300
- Khalil M, Islam Z, Islam R.** (2002). Effects of age in the structure of the bursa of Fabricius of deshi chicken of Bangladesh. *Mymensingh Medical Journal*, 11(2): 91-3.
- Khallaayoune K, Laamrani H.** (1992). Seasonal patterns in the transmission of *Schistosoma haematobium* in Attaouia, Morocco. *Journal of Helminthology*, 66: 89-95.
- King CH, Sturrock RF, Curtis kariuki R, Hambourger J.** (2006). Transmission control for schistosomiasis-why it matters now. *Trends in Parasitology*, 22(12): 575-585.
- King CH.** (2010). Parasite and poverty, the case of schistosomiasis. *Acta tropica*, 113(2): 95-104.
- Klotz F, Debonne JM, Martet G.** (1991). La bilharziose hépatique. *Annals of Internal Medicine*, 142:131-9.
- Klotz F.** (1988). Diagnostic et expression clinique de la bilharziose à *Schistosoma intercalatum*. *Acta Endoscopica*, 18: 373-8.
- Klotz F, Martet G, Aubry P.** (1990). Les bilharzioses. *Encycl Med Chir Mal Infect*, 8111:148.

Kouato BS. (2005). Evaluation du diagnostic par PCR directe et PCR-élsa sur les ITS des trypanosomes pathogènes du bétail. *Doctorat d'état en médecine vétérinaire. Université de DAKAR.*

Knopp S, Mohammed KA, Ali SM, Khamis IS, Ame SM, Albonico M, Gouvras A, Fenwick Savioli L, Colley DG, Utzinger J, Person B, Rollinson D. (2012). Study and implementation of urogenital schistosomiasis elimination in Zanzibar (Unguja and Pemba islands) using an integrated multidisciplinary approach. *BMC Public Health*, 12: 930

Kosinski KC, Bosompem KM, Stadecker MJ, Wagner AD, Plummer J, Durant JL, Gute DM. (2011). Diagnostic accuracy of urine filtration and dipstick tests for *Schistosoma haematobium* infection in a lightly infected population of Ghanaian schoolchildren. *Acta Tropica*, 118(2): 123-7.

Koukounari A, Webster JP, Donnelly CA, Bray BC, Naples J, Bosompem K, Shiff C. (2009). Sensitivities and specificities of diagnostic tests and infection prevalence of *Schistosoma haematobium* estimated from data on adults in villages northwest of Accra, Ghana. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 80: 435–441.

Laamrani H. (1999). Environmental control of schistosomiasis in irrigation schemes in morocco, *Doctorat of Philosophy, IAV Hassan II Rabat*, Prince LEOPOLD Institute of Tropical Médecine Belgium, Danish Bilharziasis Laboratory, Denmark, 204p.

Laamrani H , Khallaayoune K , Madsen H , Mahjour J , Gryseels B. (2000a). New challenges in schistosomiasis control in Morocco. *Acta Tropica*, 77: 61 – 67.

Laamrani H, Mahjour J, Madesen H, Khalaayoune K, Gryseels B. (2000b). Schistosomiasis moving from control to elimination. *Parasitology today*, 16: 257-260.

Laamrani H, Boelee E. (2002). Rôle des paramètres de conception, de gestion et de maintenance des périmètres irrigués dans la transmission et la lutte contre la bilharziose au Maroc central. *Cahiers d'études et de recherches francophones*, 11(1):9–23.

Laamrani H, khallaayoune K. (1998). Utilité de la chétotaxie dans la systématique des cercaires de *Schistosoma haematobium* et *Schistosoma bovis* (Trematoda: Schistomatidae) *Actes Inst. Agron. Veto (Maroc)*, 18 (2): 101-107

Laaziri M, Benouna M. (1982). Guide de la Lutte Contre la Bilharziose. Rabat, Morocco : Direction des Affaires Techniques, Ministère de la Sante Publique. *Rapport du ministère de la Santé.*

Labbo R, Pjibrilla A, Zamanka H, Garba A, Chippaux JP. (2007). *Bulinus forskalii* a new potential intermediate host for *S. haematobium* Niger. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 101: 847-48.

- Lahlou M, Berrada R.** (2001). Etude comparative de l'infestation expérimentale de deux souches de bulin schistosome au Maroc. *Bulletin de la Société Française de Parasitologie*, 25: 19.
- Latty SG, Hunder GW, Sullivan BH, Bruke JC, Sproat HD.** (1954). Studies schistosomiasis, comparison of stool examination, skin test, rectal biopsy and liver biopsy for the detection of *Schistosoma mansoni*. *Gastroenterology*, 27: 324-33.
- Lawrence JA.** (1977). *Schistosoma mansoni* in the ox: Observation on the parasite. *Veterinary Parasitology*, 3(4): 291-303.
- Lawton SP.** (2011). Genome and geography genomic insights in to the evolution and phylogeography of the genes of *Schistosoma*. *Parasite et vector*, 4: 131
- Legesse M, Erko B.** (2008). Field-based evaluation of a reagent strip test for diagnosis of *schistosomiasis mansoni* by detecting circulating cathodic antigen (CCA) in urine in low endemic area in Ethiopia. *Parasite*, 15: 151–155.
- Lehmann JS, Mott KE, Morrow RH.** (1976). The intensity and effects of infection with *Schistosoma mansoni* in a rural community in north eastern Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25: 285-94.
- Lévêque C.** (1980). Mollusques. In : Durand J.-R. & Levêque, C. Flore et faune aquatiques de l'Afrique sahélo-soudanienne. Tome 1. Collection Initiations- Documentations Techniques, *Editions de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre-mer (O.R.S.TOM)*, Paris, N 44 : 283 – 305.
- Lewert RM, Blas BL, Yogore MG.** (1984). Seroepidemiology of schistosomiasis *japonica* by ELISA in the Philippines. *American Journal of tropical Medicine and Hygiene*, 33: 872-81.
- Linder L.** (1977). Mekong at Wat of Muang Khong. *Leg. Ex. M. Coll. M. Verhaeghe*.
- Liang YS, Wang W, Hong QB, Dai JR.** (2013). Risk assessment and control measures for import of African schistosomiasis into China. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi*, 25: 221-5.
- Loker ES.** (1983). A comparative study of the life-histories of mammalian schistosomes. *Parasitology*, 87: 343–369.
- Lu Y, Xu B, Ju C, Mo X, Chen S, Feng Z, Wang X, Hu W.** (2012). Identification and profiling of circulating antigens by screening with the sera from schistosomiasis *japonica* patients. *Parasite and Vector*, 5: 115.
- Maddison SE, Nrman L, Geiger SJ, Kagan IG.** (1970). *Schistosoma mansoni* infection in the rat. 1. Worm burden and serological response in infected, reexposed and antigen-sensitized animail. *Journal of Parasitology*, 56(6): 1058-1065.

- Maddison SE.** (1987). The present status of serodiagnosis and seroepidemiology of schistosomiasis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 7: 93-105.
- Madwar M, El Tawahy M, Strickland GT.** (1989). The relationship between uncomplicated schistosomiasis and hepatitis B infection. *Transaction of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83: 233-6.
- Magin F, Tatoni T.** (1995). Secondary successions on abandoned cultivation terraces in calcareous Provence. II- The Gastropod communities. *Oecologica international Journal*: 409-420.
- Magnussen, P.** (2003). Treatment and re-treatment strategies for schistosomiasis control in different epidemiological settings: a review of 10 years' experiences. *Acta Trop.* 86, 243–254
- Mahmoud AF.** (2001). Schistosomiasis. Livre. *Tropical Medecine, imperial college press. Serres editors.*
- Mamadou Diallo.** (2003). Place de la bilharziose urinaire dans les tumeurs de vessie au Service d'urologie du CHU de Gabriel Touré. *Thèse. Université de Bamako-Faculté de Medecine, de pharmacie et d'ondoto-stomatologie,.*
- Maqboul A.** (1996). Recherche biologiques et écologiques sur la faune malacologique dulcicole de la plaine du Gharb (Maroc). *Thèse. Faculté des Sciences Kénitra*: 157.
- Mayaka SMA.** (2001). Etude épidémiologique de la bilharziose à *S. mansoni*, en milieu scolaire: cas du groupement de kiya Nika. *Thèse. Univesité de Gongo,.*
- Mazeufouo CG.** (2011). Situation de la schistosomose dans les environs de la mare de l'ex-carrière de Ngoa-Ekelle (Yaounde). *Mémoire du Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire deuxième grade.*
- McCarthy JS.** (2012). A research agenda for helminth diseases of humans: diagnostics for control and elimination programmes. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 6: 1601.
- McCreesh N, Booth M.** (2013). Challenges in predicting the effects of climate change on *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* transmission potential. *Trends in Parasitology*, 29: 548-555.
- Meyer C.** (2014). Dictionnaire des Sciences Animales (fiche 24742). [On line]. Montpellier, France, Cirad. [29/04/2014]. <URL : <http://dico-sciences-animales.cirad.fr/>>
- Ministère de la Santé du Maroc, Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies, Division des Maladies transmis-sibles, Service des Maladies parasitaires.** (1993). *Rapports annuels d'activités de la DELM.* État d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires.

Ministère de la Santé Publique. (1982). Guide de la lutte contre la schistosomiase. *Rapport de la Direction des affaires Techniques*, Maroc.

Ministère de la Santé du Maroc, Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies, Division des Maladies transmissibles, Service des Maladies parasitaires. (2002). Rapports annuels d'activités. *État d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires.*

Ministère de la Santé du Maroc, Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies, Division des Maladies transmissibles, Service des Maladies parasitaires. (2005-2006). Rapports annuels d'activités. *État d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires.*

Ministère de la Santé du Maroc, Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies, Division des Maladies transmissibles, Service des Maladies parasitaires. (2006). Rapports annuels d'activités. *État d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires.*

Ministère de l'agriculture, Direction d'Amenagements Hydro-Agricoles. (1996). Second Project de Developpement de la Petite et Moyenne Hydraulique (4-eme Tranche). Perimetre d' Akka. *Rapport ministériel*, Rabat, Morocco.

Ministère de la Santé du Maroc, Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies, Division des Maladies transmissibles, Service des Maladies parasitaires. (2004). *Rapports annuels d'activités. État d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires.*

Ministère de la Santé du Maroc, Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies, Division des Maladies transmissibles, Service des Maladies parasitaires. (2001). *Rapports annuels d'activités. État d'avancement des programmes de lutte contre les maladies parasitaires.*

Ministère de l'Intérieur. (2010). *Rapport des cartes provinciales non publiée.*

Mitchell KM, Mutapi F, Savill NJ, Woolhouse ME. (2012). Protective immunity to *Schistosoma haematobium* infection is primarily an anti-fecundity response stimulated by the death of adult worms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of U.S.A*, 109: 13347–13352

Moné H. (1984). Facteurs biotique intervenant dans la réussite du développement intravectoriel de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. *Thèse. Académie de Montpellier. Université des Sciences et Techniques du Languedoc .*

Moné H, Minguez S, Ibikounlé M, Allienne JF, Massougbodji A, and Mouahid G. (2012). Natural Interactions between *S. haematobium* and *S. guineensis* in the Republic of Benin. *Research Article*, 793420, 8.

- Montford AP, Trottein F.** (2004). Schistosome in the skin: a balance between immune priming and regulation. *Trends in Parasitology*, 20(5): 221-226.
- Morelet A.** (1866). Coquilles nouvelles recueillies par le Dr. Fr. Welwitsch dans l'Afrique équatoriale, et particulièrement dans les provinces portugaises d'Angola et de Benguela. *Journal de Conchyliologie*, 14: 153-163.
- Moukrim A, Zekhnini A, Rondelaud D.** (1996). *Schistosoma haematobium*: influence of the number of miracidia on several characteristics of infection in newborn *Planorbium metidjensis*. *Parasitology Research*, 82: 267–269
- Moussa AH, Abou El-Hassan AA:** (1972). The effect of water temperature on the snail intermediate hosts of schistosomiasis in Egypt. *The Egyptian Medical Society*, 55: 148-165.
- Muller R, Taylor M.** (1972). On the use of the ziehl-Neelsen technique for specific identification of *S. Eggs*, *Journal of helminthology*, 46: 139-142
- Murinello A, Germano N, Mendonca P, Campos C, Gracio A.** (2006). Liver disease due to *Schistosoma guineensis* –a review-. *Journal Portugais de Gastroenterology*, 13: 97-104.
- Mutapi F, Bourke C, Harcus Y, Midzi N, Mduluzza T, Turner CM, Burchmore R, Maizels RM.** (2011). Differential recognition patterns of *Schistosoma haematobium* adult worm antigens by the human antibodies IgA, IgE, IgG1 and IgG4. *Parasite Immunologie*, 33: 181–192.
- Mutapi F, Mduluzza T, Ndhlovu PD.** (2002). The Effect of Treatment on the Age-antibody Relationship in Children Infected with *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 97(1): 173-180.
- Ndéye Léna Tendeng.** (2013). Étude de modèles de transmission de la schistosomiase: Analyse mathématique, reconstruction des variables d'état et estimation des paramètres. Thèse. *Université de Lorraine/ Université Gaston Berger*.
- Njioko F.** (1992). Génétique et biologie des populations de deux hôtes intermédiaires des schistosomes à éperon terminal : *Bulinus Globosus* (Morelet 1866) et *Bulinus truncatus* (Adoun 1827) ; Conséquences épidémiologiques. *Thèse. Institut Grec de recherche Scientifiques pour développement et coopération*.
- Obeng BB, Aryeetey YA, de Dood CJ, Amoah AS, Larbi IA, Deelder AM, Yazdanbakhsh M, Hartgers FC, Boakye DA, Verweij JJ, van Dam GJ, van Lieshout L.** (2008). Application of a circulating-cathodic-antigen (CCA) strip test and real-time PCR, in comparison with microscopy, for the detection of *Schistosoma haematobium* in urine samples from Ghana. *Annals of tropical Medicine and parasitology*, 102: 625–633.
- Olufunmilola A. I, Anna EP, Amadou G, Sani ML, and Clive S.** (2011). Diagnosis of *Schistosoma haematobium* by Detection of Specific DNA Fragments from Filtered Urine Samples. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 84: 998–1001

- Oyaert M, Lagrange W, Smet G, De Feyter K, Laffut W.** (2013). Unexpected urinary *Schistosoma* infection in a Belgian travel group returning from Malawi. *Acta Clinica Belgica*, 68: 234-6.
- Parham P.** (2009). The immune systeme 3ed (garland science 2009), pages 608: illustrations 513.
- Pearce EJ, Mac Donald AS.** (2002).The immunobiology of schistosomiasis. *Nature reviews immunology*, 2: 499-511.
- Peters PA, El Alamy M, Warren KS, Mahmoud AA.** (1980). Quick Kato smear for field quantification of *Schistosoma mansoni* eggs. *American Journal of tropical Medecine and Hygiene*, 29: 217-9.
- Petitprez K, Grzych JM, Pierrot C, Godin C, Capron A, Khalife J.** (1998).Molecular cloning and expression of an anti-idiotypic antibody mimicking a protective oligosaccharide of the parasite *Schistosoma mansoni* . *Parasitology Research*, 34: 38-40.
- Pflüger W.** (1980). Experimental epidemiology of schistosomiasis. I. The prepatent period and cercarial production of *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria* snails at various constant temperatures. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 63(2): 159-69.
- Pitchford RJ.** (1965). Differences in the egg morphology and certain biological characteristics of some african and middle eastern schistosomes, genus *Schistosoma*, with Terminal-Spined Eggs. *OMS*, 32, 105-120.
- Preston TM, Southgate VR.** (1994). The species specificity of *Bulinus-Schistosoma* interactions. *Parasitology Today*, 10(2): 69–73
- Preclinical Medical college de Chine, the Department of Parasitology.** (2009). Anatomie et stade de développement de *S. japonicum*. *Site of Sun Yat-sen University*, Guangzhou, Guangdong, Chine.
- Ramzy RM, Hillyer GV.** (1993). Evaluation of an ELISA for the diagnosis of human infection with *S. haematobium* . *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 23: 315 – 322.
- Revillard J.P.** (1998). Immunologie. Livre. 3th édition, *De Boeck université*, 461p.
- Riadh H.** (2013). Poster de la bilharziose intestinale. Rapport de l'École de technologie supérieure.
- Richard lenoble D, Kombila M, Duong T, Gendrel D.** (1993). Bilharsiasis caused by *S. intercalatum*, a recent and forgotten form of schistosomiasis. *La Revue du Praticien*, 43 : 432-9.

- Robert EK, Jerry A, and Tao-cheng H.** (1975). Miscellaneous mammals (*dasyopus novemcinctus*, *myocastor coypus*, *procyon lotor*, and *bassaricus astutus*) as hosts for *Schistosoma haematobium* (iran). *Proc. Ida. Acad. Sci.* 55: 143-146
- Rodriguez V, Piper K, Couissinier-Paris P, Bacelar O, Dessein H, and Dessein AJ.** (1999). Genetic control of Schistosome infections by SM1 locus of the 5q31-q33 region is linked to differentiation of type 2 helper T lymphocytes. *Infection and Immunity*, 67(9): 4689-4692.
- Rollinson D, Knopp S, Levitz S, Stothard JR, Tchuem Tchuente LA, Garba A, Mohammed KA, Schur N, Person B, Colley DG, Utzinger J.** (2013). Time to set the agenda for Schistosomiasis elimination. *Acta Tropica*, 128(2): 423-40.
- Rollinson D, Simpson AJD.** (1994). *Schistosoma haematobium*. *Academic Press?* : 379-397 (Mono 100B IARC MONOGRAPHS).
- Rondelaud D, Dreyfuss G, Cabaret J.** (2010). Molluscs of veterinary importance. In Infectious and parasitic diseases of livestock (ed. P.C. Lefèvre, J.Blancou, R. Chermette, G.Uilenberg) *Lavoisier Paris*: 195-210.
- Sacko M, Magnussen P, Keita AD, Traoré MS, Landouré A, Doucouré A, Madsen H, Vennervald BJ.** (2011). Impact of *Schistosoma haematobium* infection on urinary tract pathology, nutritional status and anaemia in school-aged children in two different endemic areas of the Niger River Basin, Mali. *Acta Tropica*, 120: 142-50.
- Scholte RGC, Gosoni L, Malone JB, Chammartin F, Utzinger J, Vounatsou P.** (2014). Predictive risk mapping of schistosomiasis in Brazil using Bayesian geostatistical models. *Acta Tropica*, 32: 57–63
- Schramm G, Haas H.** (2010).Th2 immune response against *Schistosoma mansoni* infection. *Microbes and Infection*, 12(12,13): 881-8.
- Shewerta SA, Connor PJO.** (2010). *S haematobium* and bladder cancer, what lies beneath ? *Virulence*, 1(2): 84-87.
- Shimada M.** (1994). Human water-contact study on schistosomiasis--its aim, achievement and prospective. *J UOEH.*, 16(2):185-97.
- Silva-Moraes V, Couto FF, Vasconcelos MM, Araújo N, Coelho PM, Katz N, Grenfell RF.** (2013). Antischistosomal activity of a calcium channel antagonist on schistosomula and adult *Schistosoma mansoni* worms. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*: 600-4.
- Snoussi M, Kitheka J, Shaghude Y, Kane A, Arthurton R, Le Tissier M, Virji H.** (2007). Downstream and coastal impacts of damming and water abstraction in Africa. *Environ Manage.* 39(5):587-600.

- Solomon AW, Engels D, Bailey RL, Blake IM, Brooker S.** (2012). A Diagnostics Platform for the Integrated Mapping, Monitoring, and Surveillance of Neglected Tropical Diseases: Rationale and Target Product Profiles. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 6(7): 1746.
- Standley CJ, Dopson P, Stothard JR.** (2012). Out of animals and back again: Schistosomiasis as a zoonosis in Africa. *Livre, Med baghar Rokni*.
- Steinmann P, Keiser J, Bos R, Tanner M, Utzinger J.** (2006). Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *Lancet Infectious Disease*, 6: 411-425.
- Stothard JR, Sousa-Figueiredo JC, Standley C, Van Dam GJ, Knopp S, Utzinger J, Ameri H, Khamis AN, Khamis IS, Deelder AM, Mohammed KA, Rollinson D.** (2009). An evaluation of urine-CCA strip test and fingerprick blood SEA-ELISA for detection of urinary schistosomiasis in schoolchildren in Zanzibar. *Acta Tropica*, 111: 64–70.
- Stothard, J.R.** (2009). Improving control of African schistosomiasis: towards effective use of rapid diagnostic tests within an appropriate disease surveillance model. *Transaction of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103: 325–332.
- Stothard JR, Sousa-Figueiredo JC, Betson M, Kabatereine NB, Stothard JR.** (2006). Use of circulating cathodic antigen (CCA) dipsticks for detection of intestinal and urinary schistosomiasis. *Acta Tropica*, 97: 219–228
- Strickland GT.** (1994). Gastrointestinal manifestations of schistosomiasis. *Gut*, 35: 1334-7.
- Strickland GT, Merritt W, El-Sahly A, Abdel-Wahab F.** (1982). Clinical characteristics and response to therapy in Egyptian children heavily infected with *Schistosoma mansoni*. *Journal of Infectious Diseases*, 146: 20-9.
- Sturrock RF, Kimani R, Cottrell BJ, Butterworth AE, Seltz HM, Siongok TK, Houba V.** (1983). Observations on possible immunity to reinfection among Kenyan schoolchildren after treatment for *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 77: 363-371.
- Sturrock RF.** (2001). Schistosomiasis epidemiology and control: how did we get here and where should we go?. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 17 – 27.
- Tchuem T.** (2006). La lutte contre la schistosomiase : un défi et perspectives pour le XXI ème siècle. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 99: 372-376.
- Traore H.** (2006). L'effet de l'infection due à *S. haematobium* sur l'évolution des paramètres paludométrique dans un village d'endémie palustre au Mali. *Thèse. Faculté de Medecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie*.
- Traoré LK, Ouedraogo LH, Pietra V, Nacoulmu, Nebie B, De Salles Pafadnam F.** (1990). Prévalence de l'infestation à *Schistosoma haematobium* et relation bilharziose-hématurie dans deux villages du Burkina Faso. *Medecine d'Afrique Noire*, 37(3).

- Tsang VCW, Wilkins PP.** (1991). Immunodiagnosis of schistosomiasis-screen with FAST-ELISA and confirm with immunoblot. *Clin Lab Med*, 11: 1029–39.
- Tsang VC, Wilkins PP.** (1997). Immunodiagnosis of schistosomiasis. *Immunological Investigations*, 26: 175 – 188
- Utzinger J, Eliézer K, Goran N, Conor R, Caffrey J K.** (2011). From innovation to application: Social–ecological context, diagnostics, drugs and integrated control of schistosomiasis. *Acta Tropica*, 120: 121-37.
- Vanaerschot M, Huijben S, Van den Broeck F, Dujardin JC.** (2014). Drug resistance in vectorborne parasites: multiple actors and scenarios for an evolutionary arms race. *FEMS Microbiology Review*, 38: 41–55.
- Van Dam GJ, Dood CJ, Lewis M, Deelder AM.** (2013). A robust dry reagent lateral flow assay for diagnosis of active schistosomiasis by detection of *Schistosoma* circulating anodic antigen. *Experimental Parasitology*, 135: 274–282.
- Van der Werf MJ, de Vlas SJ, Brooker S, Looman CW, Nagelkerke NJ, Habbema JD, Engels D.** (2003). Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. *Acta Tropica*, 86: 125–139.
- Webster BL, Southgate VR, Littlewood DT.** (2006). A revision of the interrelationships of *Schistosoma* including the recently described *Schistosoma guineensis*. *International Journal of Parasitology*, 36(8): 947-55.
- Webster BL, Rollinson D, Stothard JR and Huyse T.** (2010). Rapid diagnostic multiplex PCR (RD-PCR) to discriminate *Schistosoma haematobium* and *S. bovis*. *Journal of Helminthology*, 84, pp 107-114.
- Werf VD, Vlas MG, Brooker SJ, Looman S, Nagelkerke CW, Habbema NJ, Engels JD.** (2003). Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. *Acta Tropica*, 86: 125–139.
- Weller TH.** (1945). An improved method of examination of faeces for the diagnosis of intestinal *Schistosoma*. *American Journal of Clinical Pathology*, 15: 496-500.
- WHO.** (1980). Epidemiologie de la schistosomiase et lutte anti schistosomiase. Rapport d'un comité d'experts de l'OMS : *Serie de rapports techniques* 643, Geneve.
- WHO.** (1993). The control of schistosomiasis. *Second report of the WHO Expert Committee*: 1 – 86 .
- WHO.** (1998). Rapport de la consultation informelle de l'OMS sur la lutte contre la schistosomose. *Document OMS/CDS/CPC/SIP/99.2*, Genève, 2-4 décembre 1998.
- WHO-EMRO.** (2007). Report of inter country meeting on strategy to eliminate schistosomiasis from the Eastern Mediterranean Region, Muscat, Oman . *EMRO report schistosomiasis*, 6-8 November.

- WHO.** (2008). Elimination of schistosomiasis from low transmission areas. Salvador do Bahia, Brazil: *Report of a WHO Informal Consultation*.
- WHO.** (2010). Report on an informal consultation: diagnostic tools to guide and certify disease elimination in London UK. *WHO report*.
- WHO** (2013a). Schistosomiasis: progress report 2001–2011, strategic plan 2012–2020. Geneva, Switzerland: *World Health Organization Press*.
- WHO.** (2013b). Weekly epidemiological record No. 8. *WHO reports*, 8: 81-88.
- Wilkins HA.** (1987). The epidemiology of schistosome infections in man. *In: The biology of Schistosomes*.
- Williams CL, Gilbertson DE.** (1983). Effects of alterations in the heartbeat rate and locomotor activity of *Schistosoma mansoni*-infected *Biomphalaria glabrata* on cercarial emergence. *Journal of Parasitology*, 69(4): 677-81.
- Wu XH, Chen MG, Zheng J.** (2005). Surveillance of schistosomiasis in five provinces of China which have reached the national criteria for elimination of the disease. *Acta Tropica*, 96: 276–281.
- Wyler DJ.** (1992). Why does liver fibrosis occur in schistosomiasis. *Parasitol Today*, 8: 277-9.
- Wynn TA, Hoffmann KF.** (2000). Defining a schistosomiasis vaccination strategy e is it really Th1 versus Th2?. *Parasitology Today*, 16: 497-501.
- Yacoubi B, Zekhnini A, Moukrim A, Rondelaud D.** (1999). *Schistosoma haematobium* : comparative studies on the characteristics of infection in three populations of *Planorbarius metidjensis* from the Agadir province in South Morocco. *Parasitol. Res.* 85(3): 239-42.
- Yacoubi B, Zekhnini A, Moukrim A, Rondelaud D.** (2007). Bulins et planorbes et endémie bilharzienne dans le sud west marocain. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 100(3) : 174-175.
- Yang SY, Sun L, Cheng YP, Zhao HL, Shen Y, Yi Q, Zhong CM.** (2013). Causes of death of advanced schistosomiasis patients in Huacao Town, Shanghai, 25(2): 217-219.
- Yuan Yi, Xu Xing J, Dong Hui F, Jiang Ming S, Zhu Hui G.** (1996). Transmission control of schistosomiasis *japonica*: implementation and evaluation of different snail control interventions. *Acta Tropica*, 96: 191–197
- Yuen Wai H, Justin R.** (2008). Quantitative detection of *S. japonicum* cercariae in water by real time PCR. *Plos neglected tropical disease*, 2(11) : 337.
- Zekhnini A, Yacoubi B, Moukrim A, Rondelaud D.** (2002). Effect of a short period of desiccation during the patent period on cercarial shedding of *Schistosoma haematobium* from *Planorbarius metidjensis*. *Parasitology Research*, 88(8) : 768-771

Zhang Shaoji, Lin Dandan. (2002) The potential risk and control strategy in low endemic area of schistosomiasis in China *Acta Tropica* 82 289–293

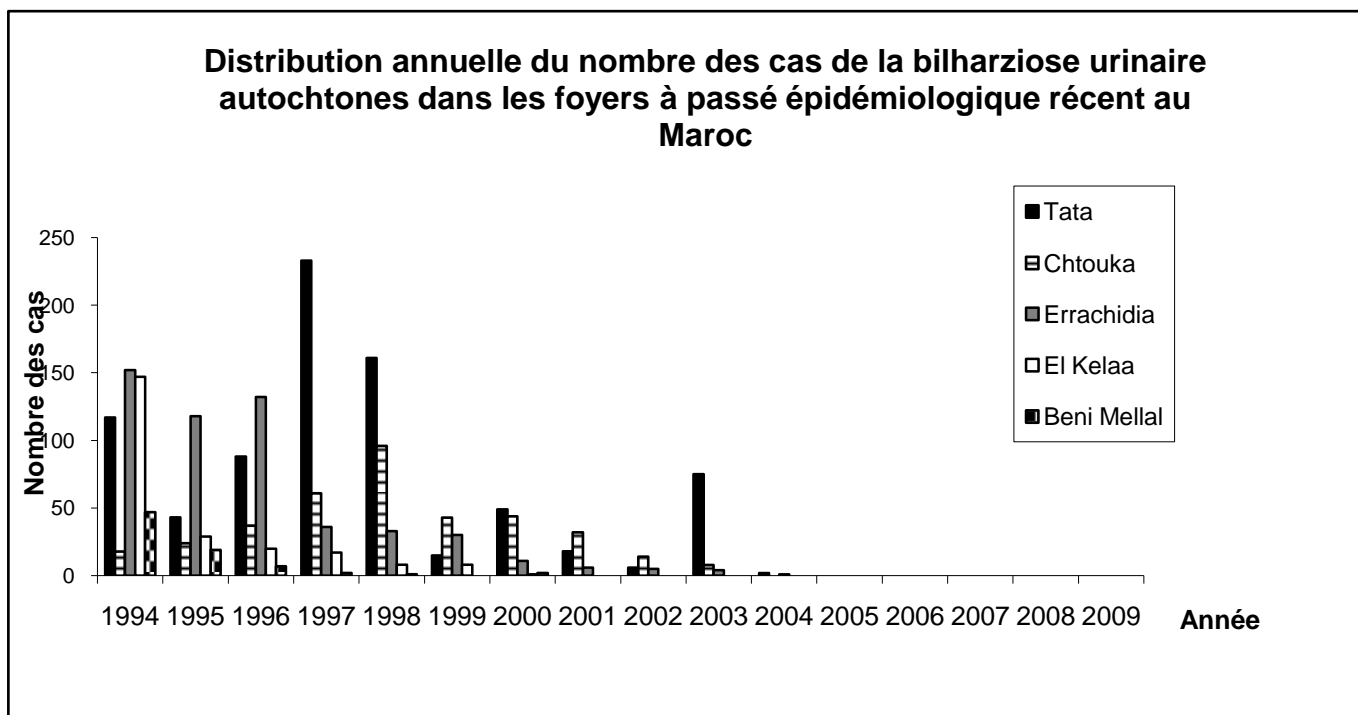
Zhou XN, Xu J, Chen HG, Wang TP, Huang XB, Lin D, Wang QZ, Tang L, Guo JG, Wu XH, Feng T, Chen JX, Guo J, Peeling RW. (2011,). Tools to support policy decisions related to treatment strategies and surveillance of Schistosomiasis *japonica* towards elimination. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 5: 1408.

Zhou YB, Liang S and Jiang QW : Factors impacting on progress towards elimination of transmission of schistosomiasis japonica in China. *Parasites & Vectors* 2012, 5:275

Zhu Yin-Chang. (2005). Immunodiagnosis and its role in schistosomiasis control in China: a review. *Acta Tropica*, 96: 130–136

Ziskind B. (2009). La bilharziose urinaire dans l'ancien Egypte. *Néphrologie et thérapeutique*, 5: 658-61

Annexe 1 :



Provinces	94	95	96	97	98	99	2000	1	2	3	4	5	6
Année													
Tata	117	43	88	233	161	15	49	18	6	75	2	1R	1R
Chtouka	18	24	37	61	96	43	44	32	14	8	0	3R	0
Errachidia	152	118	132	36	33	30	11	6	5	4	1	1R	0
El Kelaâ	147	29	20	17	8	8	1	0	0	0	0	0	1R
Béni Mellal	47	19	7	2	1	0	2	0	0	0	0	0	0

R. résiduel,
E. importé

Distribution annuelle du nombre des cas de la bilharziose urinaire autochtones dans les foyers à passé épidémiologique récent au Maroc (Données de base et graphe)

Annexe 2.

Fiche de prospection malacologique

Province : Commune :

Secteur : Localité :

Nom du gîte :

Type : naturelle /.... / artificielle /.... /

Caractère : permanent /.... / temporaire /.... /

Date de récolte T° ambiante T° eau..... ph :....

Type de végétation :

Distance par rapport à la localité :

Utilisation du gîte : Baignade : /... / Lessive : /... / Irrigation : /... / Autres : /... /

Nombre de mollusques récoltés:

moins 10 : /... / 10 à 50 : /... / 50 et + : /... /

Annexe 3.

Base données des prospections malacologiques

PROVINCE D'ERRACHIDIA 1/4

Province	Secteur	Localité	Nom du gîte	Point de prospection	Date	heure	Durée	N. flacons	N° de flacon	Nombre de bulins par flacon	Nombre totale des bulins	Observations
ERRACHIDIA	Meski	Meski	Oued Ziz, Meski	N°1 Agmmation Lessivage et traversant	15/3/8		2h30	2	1	6	12	<ul style="list-style-type: none"> ❖ pH 7.5, ❖ T eau 22.9°C, eau clair courant ❖ TA 37°C, ❖ Végétaux aquatiques ❖ N°1 Agmmation Lessivage et traversant ❖ N° 2 Rjel Canal d'évacuation des eaux usées et dragage
				N° 2 Rjel Canal d'évacuation des eaux usées et dragage					2	6		
				N° 3 Louidi	16/3/8		2h	3	3	10	30	<ul style="list-style-type: none"> ❖ pH 7, ❖ T eau 23°C, eau clair courant ❖ TA 37°C, ❖ Végétaux aquatiques ❖ Lessivage et traversant et dragage
									4	10		
									5	10		
				N° 4 Seguia Miski	17/3/8	9h30mn	2h	7	6	8	59	<ul style="list-style-type: none"> ❖ pH 7, ❖ T eau 23°C, eau clair courant ❖ TA 31.6°C, ❖ Végétaux aquatiques ❖ Dragage
									7	8		
									8	7		
									9	10		
									10	10		
									11	8		
				12	8							

PROVINCE D'EL Kelaa des Sraghna

Province	Secteur	Localité	Nom du gîte	Date	Heure	Durée	N. flacon	N° de flacon	Nombre de bulins par flacon	Nombre totale des bulins	Observations
EL KELAA DES ATTAOUJA		Oued Marek	Mbarakia	19/5/8	13h15 min	130min	12	13	10	110	<ul style="list-style-type: none"> ❖ pH 7, ❖ T eau 27°C, eau clair courant ❖ TA 39C, ❖ Végétaux aquatiques ❖ Lessivage et traversant et dragage
								14	7		
								15	9		
								16	8		
								17	10		
								18	9		
								19	10		
								20	9		

								21	10		
								22	11		
								23	9		
								24	7		
		Noujanina	19/5 /8	10h40	135	1	25	3	3	3	<ul style="list-style-type: none"> ❖ pH 7, ❖ T eau 23°C, eau clair courant ❖ TA 37°C, ❖ Végétaux aquatiques ❖ Lessivage et traversant et dragage

Province	Secteur	Localité	Nom du gîte	Date	Heure	Durée	N. flacon	N° de flacon	N bulins/ flacon	N.T bulins	Observations
EL KELAA DES SRAGHNA	OULED ARRAD	Coop. Falah	D7 9t/2t+	20/5/8	10h55	145	9	26	7	77	
								27	8		
								28	9		
								29	11		
								30	8		
								31	10		
								32	9		
								33	7		
								34	8		
		Coop. Chabab	D6 3t+	15/5/8	10h40	155	15	35	11	142	
								36	10		
								37	10		
								38	9		
								39			
								40			
								41			
								42	10		
								43	7		
								44	8		
								45			

Province	Secteur	Localité	Nom du gîte	Date	Heure	Durée	N. flacon	N° de flacon	N bulins/ flacon	N.T bulins	Observations

									46	10														
									47	11														
									48	9														
									49	11														
	Zemrane Charkia	Coop bahadria	D3	14/5/8	0h45	170	11			50	6	83												
										51	4													
										52	10													
										53	8													
										54	7													
										55	10													
										56	6													
										57	10													
										58	9													
										59	11													
										60	10													
										OGG	14/5/8			13h45	35	02					61	10	20	
																					62	10		

PROVINCE CHTOUKA AIT BAHA 1/3

Province	Secteur	Localité	Nom du gîte	Date	Heure	Durée	N. flaçon	N° de flaçon	N bulins/ flaçon	N.T bulins	Observations	
CHTOUKA AIT BAHA	CS AIT MOUSSA	TARGA Nrouchka	Tizghine TR1	2/6/8	11H15	120	10	63	10	100		
								64	10			
								65	9			
								66	10			
								67	10			
								68	8			
								69	10			
								70	9			
								71	10			
								72	8			
				Imintandroute TR2	2/6/8	15h50	120	05	73	10	50	
									74	11		

									75	10		
									76	9		
									77	10		
			Doussa ghouch TR3	3/6/8	12h		90	5	78	8	510	
									79	10		
									80	9		
									81	10		
									82	9		

PROVINCE CHTOUKA AIT BAHA 2/3

Province	Secteur	Localité	Nom du gîte	Date	Heure	Durée	N. flacon	N° de flacon	N bulins/ flacon	N.T bulins	Observations
			Tindan Bennisou TR4	3/6/8	15h60	150	10	83	10	100	
								84	10		
								85	10		
								86	10		
								87	10		
								88	9		
								89	11		
								90	10		
								91	9		
								92	10		
			Aghour Niguer TR5	4/6/8	11h	360	20	93	11	200	
								94	10		
								95	11		
								96	10		
								97	10		
								98	11		
								99	10		
								100	10		
								101	11		
								102	11		

PROVINCE CHTOUKA AIT BAHA 3/3

Province	Secteur	Localité	Nom du gîte	Date	Heure	Durée	N. flacon	N° de flacon	N bulins/ flacon	N.T bulins	Observations
								103	11		
								104	9		
								105	10		
								106	10		
								107	10		
								108	10		
								109	12		
								110	10		
								111	10		
								112	8		
								113	11	100	
								114	10		
								115	11		
								116	10		
								117	11		
				5/6/8	11h3	240	10	118	10		
			Takchirane					119	11		
			Igui,toug houte					120	9		
			TR6					121	12		
								122	10		

PROVINCE TATA 1/3

Province	Secteur	Localité	Nom du gîte	Date	Heure	Durée	N. flacon	N° de flacon	N bulins/ flacon	N.T bulins	Observations
								123	10		
								124	10		
								125	10		
								126	10		
								127	9		
								128	10		
								129	10		
								130	10		

			tagoujgalt e	12/4/8	10h	145	15	131	10	150	
								12/5/8	132		10
				133					10		
				134				10			
				135				10			
				136				10			
				137				10			
			Toufsirte	14/4/8	8h58	184	15	139	10	150	
								14/5/8	140		10
				141					10		
Province	Secteur	Localité	Nom du gîte	Date	Heure	Durée	N. flacon	N° de flacon	N bulins/ flacon	N.T bulins	Observations
								142	10		
								143	10		
								144	10		
								145	10		
								146	10		
								147	10		
								148	10		
								149	10		
								150	10		
								151	10		
								152	10		
			Ain Tahafit	15/5/8	8h55	15	04	153	10	40	
								154	10		
								155	10		
								156	10		
			Ain Imazighen	15/5/8	9h38	38	06	157	10	60	
				15/4/8				158	10		
				159				10			
				160				10			
				161				10			
				162				10			
			Ain Issoukine	15/5/8	10h20	20	05	163	10	50	

								164	10		
								165	10		
								166	10		
								167	10		
			Ain Tchoute	15/4/8	10h45	20	9	168	10	100	
								169	10		
								170	10		
								171	10		
								172	10		
								173	10		
								174	10		
								175	10		
								176	10		
			Ain Tihirite	15/4/8	11h25	10	06	177	10	50	
								178	10		
								179	10		
								180	10		
								181	10		
								182	10		

Province de Beni Mellal 1/4

Prov.	Secteur	Localité	Nom du gîte Point de prespection	Date et heure	Durée	Nombre de flacons	Numéro du flacon	Nbre de bulins par flacon	Nbre total de bulins	Observations
BENI MELLAL	MRABTA	Prise 20	TD6A	2/6/08		15				
				8h30 min	15 min		183	10		
				8h 45min	10 min		184	10		
				9h00	15		185	10		
				9h10	10		186	10		
				9h30	10		187	10		
				10 ;00	10		188	10		
				10 ;30	15		189	10		

				10 ;45	12		190	10		
				11 ;03	15		191	10		
				11 ;20	20		192	10		
				11 ;40	15		193	10		
				12 ;15	8		194	10		
				12 ;30	10		195	10		
				12 ;50	10		196	10		
				13 ;05	10		197	10		

Province de Beni Mellal 2/4

Prov.	Secteur	Localité	Nom du gite Point de prespection	Date et heure	Durée	N flacon s	Numéro du flacon	Nbre de bulins par flacon	Nbre total de bulins	Observations
BENI MELLAL	MIRABTA	LAASSARA	Prise 20 TD7A	3/6/08		16				
				8h00 min	15 min		198	10		
				8h 30min	20 min		199	10		
				9h00	15		200	10		
				9h30	10		201	10		
				10 ;10	10		202	10		
				10 ;30	10		203	10		
				10 ;55	10		204	10		
				11 ;10	15		205	10		
				11 ;45	10		206	10		
				12 ;15	15		207	10		
				12 ;30	15		208	10		
				12 ;45	10		209	10		
				13 ;10	10		210	10		
				13 ;30	15		211	10		
				14 ;10	10		212	10		
14 ;30	15	213	10							

Enquête malacologique de la Bilharziose

Fiches de prospections malacologiques

Province de Beni Mellal 3/4

Prov.	Secteur	Localité	Nom du gîte Point de prospection	Date et heure	Durée	Nombre de flacons	Numéro du flacon	Nbre de bulins par flacon	Nbre total de bulins	Observations
BENI MELLAL	KOURIFATE	OUD ABDOUNE / PLAN AGRICOLE	Prise 13	4/6/08		15				OUED ABDOUNE EST UN PLAN AGRICOLE
				7h30 min	30 min		214	10		
				8h 45min	15 min		215	10		
				9h10	15		216	10		
				9h45	15		217	10		
				10 ;10	10		218	10		
				10 ;30	15		219	10		
				11 ;00	15		220	10		
				11 ;20	15		221	10		
				11 ;40	10		222	10		
				12 ;10	10		223	10		
				12 ;30	15		224	10		
				13 ;00	15		225	10		
				13 ;30	20		226	10		
				13 ;55	15		227	10		
14 ;20	20	228	10							

Province de Beni Mellal 4/4

Prov.	Secteur	Localité	Nom du gîte Point de prospection	Date et heure	Durée	Nombre de flacons	Numéro du flacon	Nbre de bulins par flacon	Nbre total de bulins	Observations
BENI MELLAL	KOURIFATE	OUD ABDOUNE / PLAN	Prise 13 S13 D4	5/6/08			229			OUED ABDOUNE EST UN PLAN AGRICOLE
				7h15 min	25 min			10		
				7h 45min	15 min		230	10		
				8h20	20		231	10		

				9h10	20	15	232	10		
				10 :00	20		233	10		
				10 :30	20		234	10		
				11 :03	20		235	10		
				11 :45	15		236	10		
				12 :30	25		237	10		
				13 :15	20		238	10		
				14 :00	25		239	10		
				14 :45	20		240	10		
				15 :15	25		241	10		
				15 :55	25		242	10		
				16 :15	30		243	10		

Annexe 4.

Fiche de l'enquête sérologique (code de la localité)

Identification de la personne :

Province : Commune :

Secteur : Localité :

Nom et Prénom :

Age : /..... / Sexe : /..... /

Profession :

Adresse complète :

.....

Sérologie : Date : Résultat :

Parasitologie : Date : Résultat :

Antécédents :

Le sujet a-t-il été atteint par la Bilharziose :

Oui : /... / Non : /... / Si oui précisez l'année :

Le malade a-t-il reçu un traitement contre la bilharziose :

Oui : /... / Non : /... / Date du dernier traitement :

Renseignements actuels

Le sujet présente-t-il des signes cliniques en faveur de la Bilharziose :

Oui : /... / Non : /... / si oui lesquels :

Hématurie : /... / Dysurie : /... / Troubles mictionnels /... / Autres

Annexe 5. Données de l'étude sérologique

Province	Secteur	Commune	Localité	Sexe	Age	Profession	Adresse Complète	Resultat	baignade	Signes cliniques
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	3	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	3	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	3	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	3		Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	3		Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	3	Elève	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	4	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	4		Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	4		Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	4	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	4	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	5	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	5	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	5	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	5	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	5	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	5	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	5	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	5	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	5	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	5	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	5	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	5		Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	5		Takrart	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	5	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	6	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	6	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	6	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	6	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	6	Elève	Tourda	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	6	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	6	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	6	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	6	Elève	Igui Tanrourte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	6	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	6	Elève	Iddarne	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	6	Elève	Igui Tanrourte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	6	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	7	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	7	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	7	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	7	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	7	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	7	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	7	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	7	Elève	Faizrane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	7	Elève	Idrarene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	7	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	7	Elève	Licoante	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	7	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	7	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	7	Elève	Igui Tanrourite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	7	Elève	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	7	Elève	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	7	Elève	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	7	Elève	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	7	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	7	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	7	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	7	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	7	Elève	Lazat	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	7	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	7	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	7	Elève	Targa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	7	Elève	Targa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	7	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	8	Elève	Fizrane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	8	Sans	Fizrane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	8	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	8	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	8	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	8	Elève	Figuer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	8	Elève	Amkioudt	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	8	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	8	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	8	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	8	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	8	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	8	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	8	Elève	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	8	Elève	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	8	Elève	Targa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	8	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	8	Elève	Targa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	8	Elève	Targa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	8	Elève	Takrart	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	9	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	9	Elève	Ahous	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	9	Elève	Akouss	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	9	Sans	Ahous	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	9	Elève	Ahous	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	9	Sans	Ahous	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	9	Elève	Ahous	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	9	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	9	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	9	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	9	Elève	Fizrane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	9	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	9	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	9	Elève	Faizrane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	9	Elève	Faizrane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	9	Elève	Faizrane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	9	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	9	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	9	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	9	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	9	Elève	Tagragra	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	9	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	9	Elève	Idrarene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	9	Elève	Idrarene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	9	Elève	Licoante	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	9	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	9	Elève	Idrarene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	9	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	9	Elève	Wanzed	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	9	Elève	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	9	Elève	Targa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	9	Elève	Targa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	9	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	9	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Toufihat	M	9	Elève	Toufihalt	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	10	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	10	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	10	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	10	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	10	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	10	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	10	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	10	Elève	Amkioudt	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	10	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	10	Elève	Ait chafi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	10	Elève	Ait Chafi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	10	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	10	Elève	Idrarene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	10	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	10	Elève	Idrarene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	10	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	10	Elève	Igui Tanourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	10	Elève	Ait Massoude	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	10	Elève	Tagragra	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	10	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	10	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	10	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	10	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	10	Elève	Idrarene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	10	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Sans	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Elève	Tazeutat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	10	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	10	Elève	Tarkrart	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	11	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	11	Elève	Imicoine	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	11	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	11	sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	11	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	11	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	11	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	11	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	11	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	11	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	11	Elève	Faizrane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	11	Elève	Faizrane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	11	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Igui Tanourte	M	11	Elève	Igui Tanourte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	11	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	11	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	11	Elève	Ait Massoude	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	11	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	11	Elève	Igui Tanourite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	11	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	11	Elève	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	11	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	11	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	11	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	11	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imicoine	F	12	Elève	Fizrane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	12	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	12	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	12	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imicoine	M	12	Elève	Tiourane	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	12	Elève	Ahous	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	12	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	12	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	12	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	12	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	12	Elève	Ait Chafi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	12	Elève	Ait Chafi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imzilen	M	12	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imzilen	M	12	Elève	Barifrede	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	12	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	12	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	12	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	12	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	12	Elève	Igui Tanrourite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	12	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	12	Elève	Idrarene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Ihia	M	12	Elève	Ait Ihia	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	12	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	12	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	12	Elève	Tarkrart	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	12	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imicoine	M	13	Elève	Imicoine	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imicoine	M	13	Elève	Azrou	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imicoine	M	13	Elève	Ait Nacer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imicoine	M	13	Elève	Ait Ouraab	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imicoine	M	13	Elève	Ait Nacer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imicoine	M	13	Elève	Imicoine	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	13	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	13	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	13	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	13	Elève	Figuer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	13	Elève	Idrarene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	13	Elève	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imzilen	M	13	Elève	Ifarkhesse	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	13	Elève	Wanzed	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	13	Elève	Tagnza	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	13	Sans	Ait Massoude	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	13	Elève	Irirtaourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	F	13	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	13	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	13	Sans	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	13	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	13	Elève	Lazat	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	13	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imicoine	M	14	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	14	Elève	Targa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	14	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	14	Elève	Figuer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	14	Elève	Arriiguer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	14	Elève	Tissint	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	14	Elève	Irirtaourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	14	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	14	Elève	Akouss	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	15	Elève	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	M	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Sans	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Tagadirte	F	15	Sans	Tagadirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	15	Elève	Lazite	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	15	Elève	Lazite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lazite	M	15	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Imzilen	M	15	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Tagnza	M	15	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15		Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	Sans	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	Sans	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	Sans	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	Sans	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	Sans	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	15	Elève	Figuer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	16	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	16	Sans	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	16	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	17	Sans	Imzilene	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	10	Elève	Agadir ozour	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	10	Elève	Ait Lahcen	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	10	Elève	Ait Nacer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	10	Elève	Imoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	10	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa		M	10	Elève	Lmoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	10	Elève	Lmoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	10	Elève	Tamzar Goute	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	10	Elève	AIT Ali	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	10	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	10	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Elève	Ait Aabir	Negative	Oui	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	10	Elève	Toufihalt	Negative	Oui	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	11	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	11	Elève	Timchtite	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	11	Elève	AIT ALI	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	11	Elève	Lmoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	11	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	11	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	11	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	Agadir ozour	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	Ait ahmed	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Lmoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	AZROU	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Taourirte	Negative	Oui	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Azrou	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Azrou	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	AIT ALI	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	AIT ALI	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	Ait Ali	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	AZROU	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	Ait ALI	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	12	Elève	AIT AHMED	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	AIT AHMED	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Lmoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Ait Nacer	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	12	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	13	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	13	Elève	Ait laaser	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	13	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	13	Elève	Ait Aabir	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Lmoudaa	Lmoudaa	M	14	Elève	Azrou	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	14		Ait Ali	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	14		Ait Nacer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	14	Elève	AIT ALI	Negative	Oui	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	14	Elève	AIT ALI	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	15	Sans	Ait laaser	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	15	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	15	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	15	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	sans	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	15	Sans	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	15	Elève	Agadir ozour	Negative	Oui	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	15	Elève	Ait Aabir	Negative	Oui	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	25		Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa		F	5	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	5	sans	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Lmoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Ait mohamed	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Lmoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Ait ahmed	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	LMOUDAA	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Ait Ahmed	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Imoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Ait ahmed	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Ait ahmed	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Agadir ozour	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	6	Elève	Azrou	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Lmoudaa-tawrirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Ait Nacer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Lmoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Ait Nacer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Ait ali	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Ait Ali	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	6	Elève	Lmoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	7	Elève	Ait Nacer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	7	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	7	Elève	Azrou	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	7	Elève	Lmoudaa	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	7	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	7	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	8	Elève	Ait Nacer	Negative	Non	Non

Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	8	Elève	Agadir ozour	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	8	Elève	AIT ALI	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	8	Elève	Ait Nacer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	8	Elève	AIT ALI	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	8	Elève	Azrou	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	8	Elève	AIT ALI	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	8	Elève	AIT ALI	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	8	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	8	Elève		Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	M	8	Elève	Ait Abdelhak	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Ait Abdelhak	F	8	Elève	Ait Aabir	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	9	Elève	Ait Ali	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	9	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	9	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	9	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	9	Elève	Ait Aamer	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	9	Elève	Imitzi	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	M	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Chtouka Ait Baha	Targa	Targa	Lmoudaa	F	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	3			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	3			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	3	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	3			Negative	Non	Non

El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	4			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	4			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	4			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	4			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	4			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	4	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	4			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	F	5			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	F	5			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	F	5	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	5			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	5			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	5	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	5	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	5			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	5			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	6			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	6	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	6			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	6			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	6			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	6			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	6			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	6	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	6	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	6	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	6	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	F	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	7	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	F	7			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	7	Elève		Negative		Non

El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	7	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	7	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	7	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	7	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	7	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Diar	F	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Diar	M	8	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Diar	F	8	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Diar	M	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Diar	M	8	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	8	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	8	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	8	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	8	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	8	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	8	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	8	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Diar	F	9			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Diar	F	9	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Diar	M	9	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Diar	M	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	9	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	9	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	9	Elève		Negative	Non	Non

El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	12	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	12	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	F	13			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	F	13	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	13	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	13	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	13	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	13	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	13	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	F	14	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	F	14	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	14	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	F	15	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	15	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	15	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	15	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	15	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	15	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	15	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	16			Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	16	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	17	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	17	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane Cherkia	Zemrane Cherkia	Diar	M	20			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	10	Elève		Negative	Oui	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	10	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	10	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	10	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	10	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	10	Sans		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	10	Elève		Negative		Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	10	Elève		Negative		Non

El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	5	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	5	Sans		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	5	Sans		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	5	Sans		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	5			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	6	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	6	Sans		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	6	Sans		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	6	Sans		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	6	Sans		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	6	Sans		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	6	Sans		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	6	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	6	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	6	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	6	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	6			Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	7	Sans		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	7	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	8	Elève		Negative	Non	Non

El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	8	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	9	Elève		Negative	Non	oui
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	M	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Zemrane	Zemrane	Hachadia	F	9	Elève		Negative	Non	Non
El Kelaa des Seraghna	Ataouia	Chaara	Old Mrek	M	N			Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	2	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	2	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	F	2	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	2	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	2	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	2	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	F	2	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	2	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	2	Elève	Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	2	Sans	Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	2		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	F	2		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	2		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	2		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	F	2		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	F	2		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	2		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	F	2		Tagounite	Negative	Non	Non

Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	F	7	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	F	7	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	7	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	F	7	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	F	7		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	F	7		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	7		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	8	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	8	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	8		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	8		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	9	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	9	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	9		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	9		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	F	9		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	F	10	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	10	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	10	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	F	10	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	10	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	F	10	Sans	Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	M	10		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	F	10		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Elkheng	Elkheng	Tagounite	F	10		Tagounite	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	F	11	Elève		Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	11	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	11	Elève		Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	F	11	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	11	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	F	11	Sans	Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Mdaghra	Mdaghra	Meski	M	11	Sans	Meski	Negative	Non	Non

Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	M	7		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	F	7		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	F	7		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	M	8		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	M	8		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	M	8		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	F	8		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	M	9		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	F	9		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	M	9		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	F	9		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	M	9		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	M	9		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	M	9		Meski	Negative	Non	Non
Errachidia	Errachidia	Mdaghra	Meski	F	9		Meski	Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	8	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	10	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	10	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	11	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	11	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	11	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	14	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	15	Sans		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	15	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	3	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	4	Sans		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	6	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	6	Sans		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	7	Sans		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	7	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	F	7			Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	8	Elève		Negative	Non	Non

ND	ND	ND	ND	M	8	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	8	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	F	8	Elève		Negative	Non	Non
ND	ND	ND	ND	M	9	Elève		Negative	Non	Non
Taourirte	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	2	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	2	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	2	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	2	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	2	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	3	sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	3	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	3	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	3	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	3	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	3	Sans	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	3	Sans	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	3	Sans	Taourirte Akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	3	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	3	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	3	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	3	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	3	Elève	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	3	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	3	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	4	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	4	Sans	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	4	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	4	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	4	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	4	Sans	Rahala	Negative	Non	Non

Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	4	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	4	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	5	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	5	Sans	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	5	Sans	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	5	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	5	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	5	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	5	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	5	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	5	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	5	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6	Sans	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6	Sans	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	6	sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	6	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	6	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	6	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	6	Sans	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	6	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	6	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	6	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	6	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non

Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	6	Sans	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	7	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	7	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Sans	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Sans	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7			Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	7	Elève	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	7	Elève	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	7	Elève	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	7	Elève	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	8	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	8	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	8	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	8	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	8	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	8	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	8	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non

Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	kasbat sam	kasbat sam	Taourirte	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	8	Elève	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	8	Elève	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	9	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	10	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	10	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	10	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	10	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	10	Elève	Taourirte Akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	10	Elève	Rahala	Negative	Non	Non

Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Hahala	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	10	Elève	Rahala	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	11	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	11	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	11	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	11	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	11	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	12	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	12	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	12	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	M	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	12	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	13	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	13	Elève	Taourirte akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	13	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	13	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	14	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	14	Elève	Rachala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	14	Elève	Taourirte Akka	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat sam	Kasbat sam	Taourirte	F	14	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non

Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	15	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	15	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	15	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	15	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	2		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	2	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	2	sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	2	sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	2	sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	2	sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	2	Sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	2	Sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	3		Rahala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	3		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	3			Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	3	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	3	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	3	Sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	3	Sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	3	sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	4		Rahala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	4		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	4		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	4		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	4		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	4		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	4		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	4	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	4		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	F	4		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	F	4	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	4	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non

Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	4	sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	4	Sans	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	4		Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	4	Sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	5	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	F	5		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	5	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	5	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	5	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	5	sans	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6		Taourirte	Negative	Non	Non

Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	6			Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	6		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	F	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	F	6	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6		Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	6	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	6		Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	7		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève	Rahala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	7		Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non

Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	F	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	F	7	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	7	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	7	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève		Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	7	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	7	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	8	Elève	Rahala Akka	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	8	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	8	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	8	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	8	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	8	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	8	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	M	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Kasbat Sam	Kasbat Sam	Taourirte	F	9	Elève	Taourirte	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	9	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	M	9	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non

Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	9	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	9	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	9	Elève	Agoujgal	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	9	Elève	Souneh	Negative	Non	Non
Tata	Tata	Tata	Agoujgal	F	9	Elève	Souneh	Negative	Non	Non

Annexe 6.

Réactifs supplémentaires des différents tests de diagnostic

Test EITB

1. Bandelettes de nitrocellulose, numérotées et partiellement prédécoupées sensibilisées par électro-transfert d'antigènes de *Schistosoma haematobium*.
2. PBS poudre (mettre en suspension dans 1 l d'eau distillée) pour préparation d'un litre de PBS concentré 10 fois.
3. Lait en poudre
4. Tween 20
5. Eppendorfs de CONJUGUE ANTI-IgG
6. Eppendorf de Substrat DAB (500ul)
Sérum de control positif et sérum de control négatif de CDC.
7. Temoins des standards colorés (protéines recombinantes 31 et 35 kDa) situés dans la pochette (R1) à droite des bandelettes permettant d'estimer de haut en bas la distance de migration et correspondant aux Poids Moléculaires
8. Eau distillée de bonne qualité

Matériel nécessaire

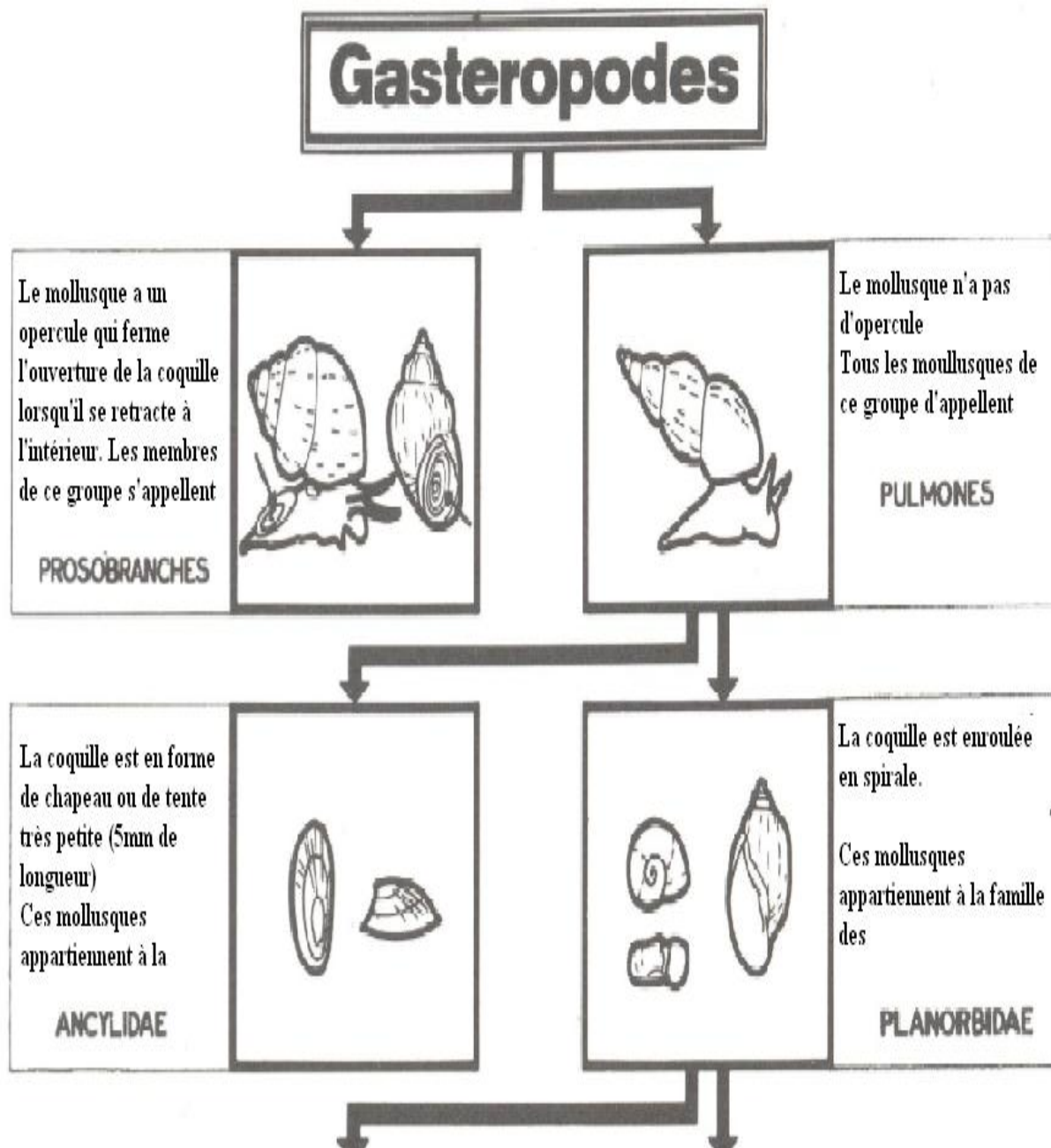
9. Gants en latex.
10. Pincette pour manipuler les bandelettes
11. Cuves d'incubation multicanaux
12. Agitateur oscillant pour immunoblots
13. Système d'aspiration pour les liquides permettant de vider les cuves d'incubation
14. Cutter ou scalpel
15. Papier absorbant de type Whatman-
16. micropipettes et pointes à usage unique (volumes de 25µl, 50µl, 1.2ml et 2ml)
17. Éprouvettes graduées, récipients adaptés, pissette de laboratoire.
18. Chronomètre
19. Ruban adhésif transparent de bonne qualité

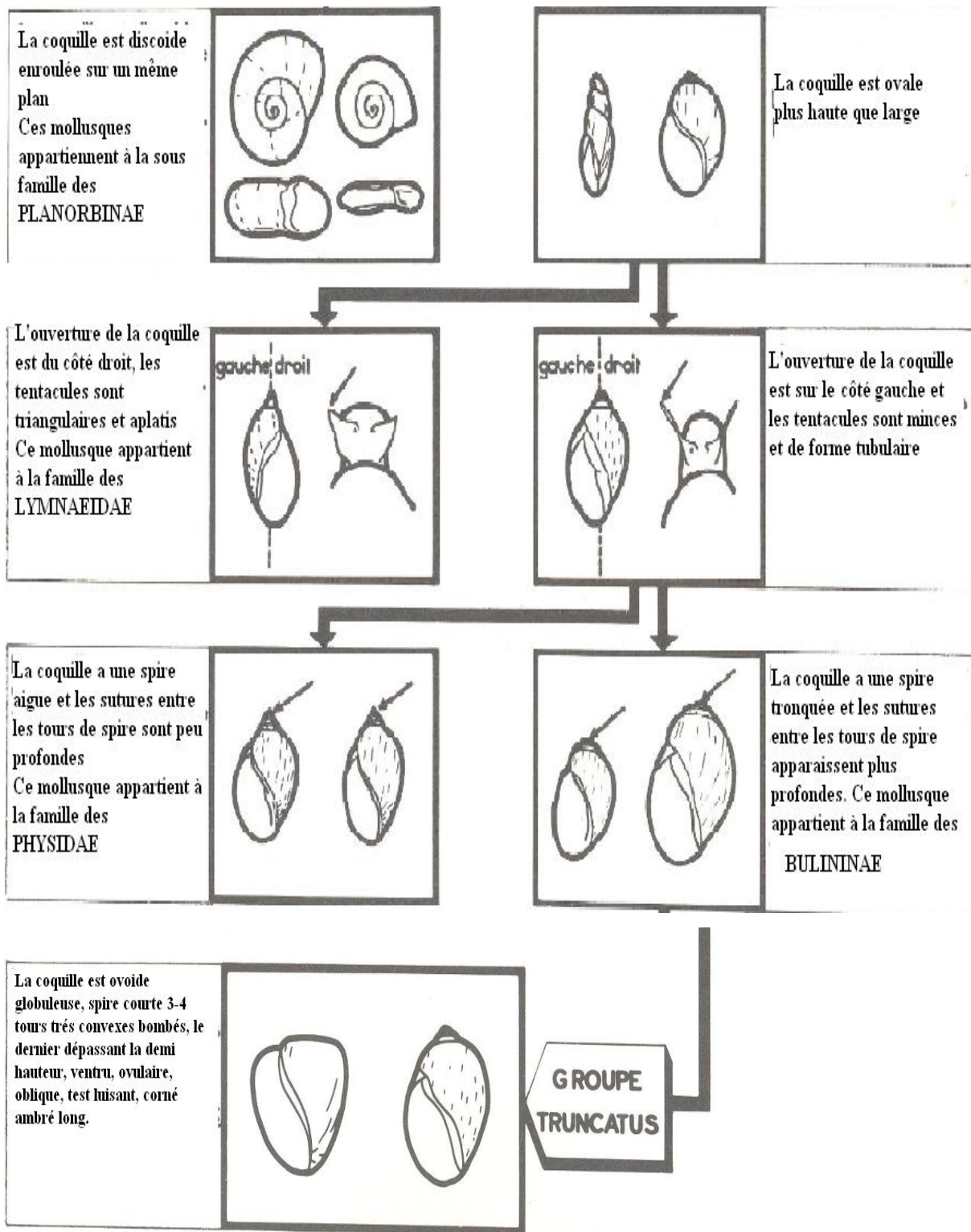
PCR (déjà cité dans le texte)

Eau distillée free DNase
PBS
Primers
dNTP
Ready Mix
Agarose
Équipement : La Micro Centrifugeuse avec rotor pour tube de 2ml.
Bain Marie
Congélateur -20°C
Tubes Eppendorf stériles de 1,5 ou 2 ml
Pipettes et cônes stériles (10, 100, 1000 µl)

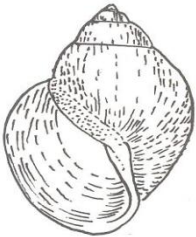
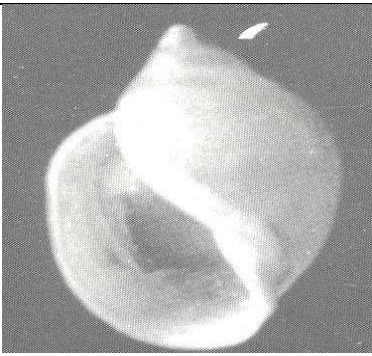

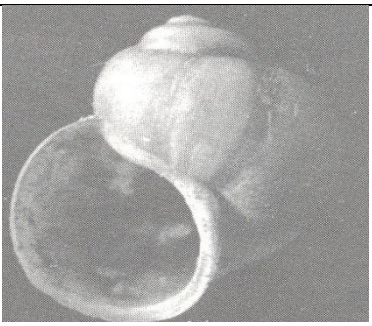
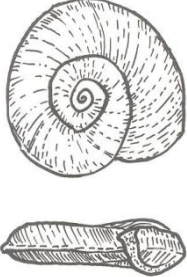
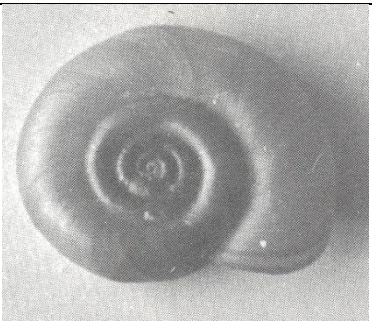
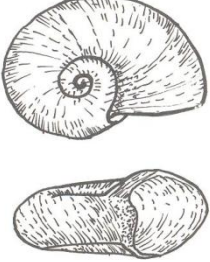
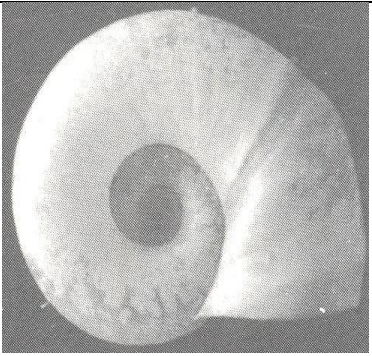
Annexe 7.

Clé de détermination des bulins





Clé pour l'identification de *B. truncatus*, hôte intermédiaire de la bilharziose urinaire au Maroc (Guide de la lutte contre la bilharziose, 1982).

 <p><i>Physa sp.</i></p>		<p>Coquille ovoïde, spire très courte à sommet obtus, test mince, fragile</p> <p>Coquille ovoïde allongée, spire acuminée ; test solide</p>
 <p><i>B. truncatus</i></p>		<p>Coquille ovoïde globuleuse, spire courte 3-4 tours très convexes-bombés, le dernier dépassant la demi hauteur, ventru ovulaire oblique, test luisant, corné ambé long.</p>
 <p><i>Planorbis planorbis</i></p>		<p>Mollusque à coquille discoïde nettement aplatie, à ouverture étroite et ovale.</p> <p>Les spires sont très nombreuses.</p>
 <p><i>Planorbarius metidjensis</i></p>		<p>Mollusque remarquable par leur coquille discoïde aplatie, à ouverture arrondie, à spires plus ou moins nombreuses.</p>

Morphologie de *Physa sp*, *B. truncatus*, *Planorbis planorbis* et *planorbarius metidjensis* (Guide de la lutte contre la bilharziose, 1982).

Annexe 8.

Phase de contrôle de la bilharziose urinaire au Maroc

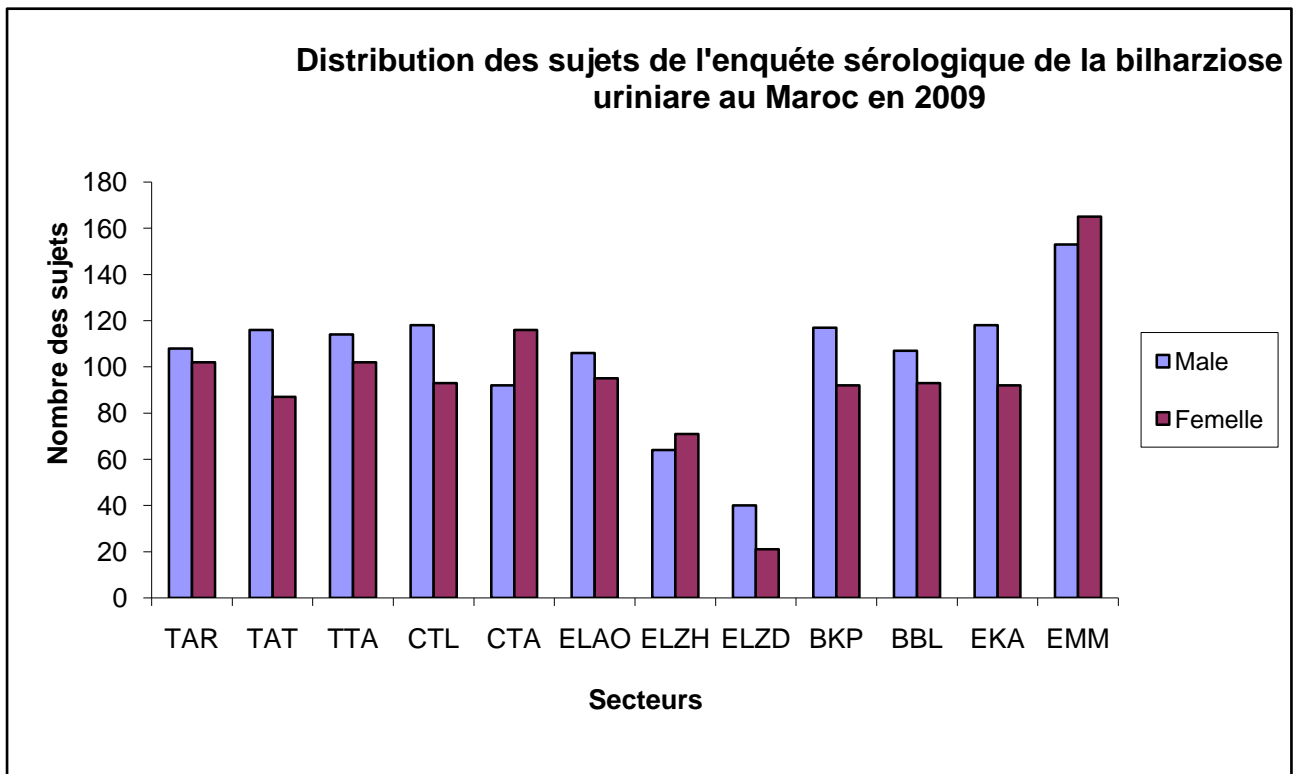
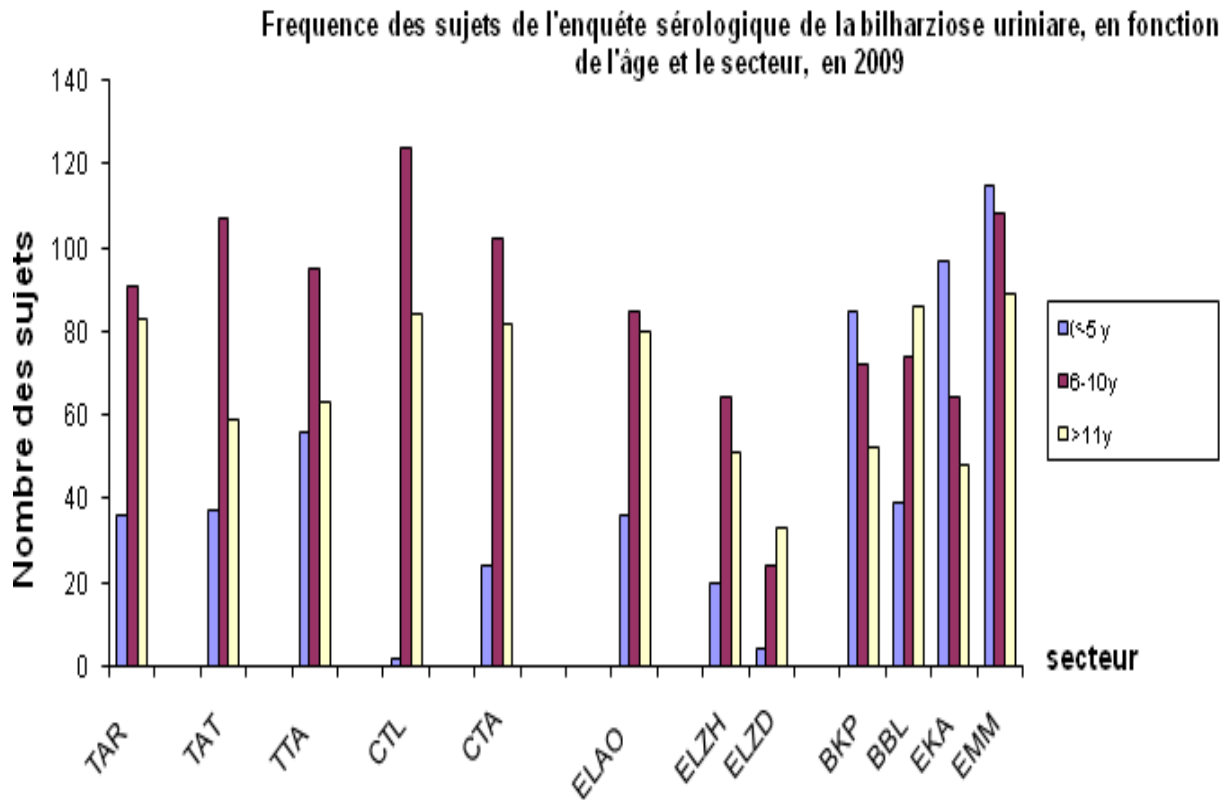
			Notre travail				
Phases pré-élimination			+ 5 ans	2008	2009	2012-2016	2014
↔ ↔ ↔			↔	↔	↔	↔	↔
Phase de pre-contrôle	1982: Phase de contrôle	1994: phase d'interruption de transmission	2005-2011 Phase de consolidation	2013	2013	2013	2014
			Interruption de la transmission en 2004	Vérification de l'interruption de la transmission chez la population humaine par EITB	Vérification de l'interruption de la transmission chez les bulins par Dal PCR et Sh110 PCR	Mise au point de l'approche de diagnostic de la stratégie de surveillance post élimination	Evaluation de nouvelles techniques de diagnostic (PCR Dnal/73) pour la certification de l'élimination
1er cas de bilharziose découvert en 1914 à Marrakech	0	Prevalence <1% à l'échelle nationale	Quelques cas sporadiques	Quelques cas sporadiques	Pas de cas autochtones	Quelques cas sporadiques	Pas de cas autochtones
Etudes focales sur la prévalence à Amzou, sud de Zagora, 100% des enfants étaient infectés en 1937	Prévalence supérieur à 6.1% au niveau provincial						

Foyer limité aux oasis au Sud	Extension de la maladie vers les aires d'irrigation au Centre et le Nord.	Morbidité sous control Le problème est maîtrisé dans la majorité des provinces (1108 personnes infectées parmi 233711 examinées dans 20 provinces)		Maintien de l'incidence nulle au niveau des foyers de transmission connus pendant 5 ans Consolidation de l'arrêt de la transmission dans les anciens foyers			Maintien de l'incidence nulle au niveau des foyers de transmission connus pendant 12 ans	
Stratégies								
Dépistage des cas et traitement dans les centres de santé. Pas de mesures préventives	Approche de contrôle intégrée Morbidité contrôlée Préventives mesures: Dépistage des cas et traitement Education sanitaire Control des bulins (chimique dans 4 provinces)	Approche de contrôle intégrée Contrôle de la transmission Préventives mesures: Dépistage des cas et traitement Education sanitaire Control des bulins (contrôle environnementale et collaboration intersectorielle)		Approche de contrôle intégrée Interruption de la transmission Préventives mesures: Dépistage des cas et traitement Education sanitaire Control des bulins (contrôle environnementale et collaboration intersectorielle)			2012 Approche de surveillance parasitologique par examen direct des urines et prise en charge des cas importés. Surveillance et lutte contre l'hôte intermédiaire Action de soutien Suivi et Evaluation 2013 Elaboation de nouvelle stratégie basée sur le dépistage sérologique	

Tableau 4. Phases des stratégies de lutte contre la bilharziose (Lamrani *et al.* 2000, Amarir *et al.* 2011 ; Amarir *et al.* 2014)

Annexe 9

Répartition sectorielle des cas en fonction de l'âge et le sexe



Annexe 10.

Fiche de l'enquête Malacologique de la commune Krifate, province Fkih Ben Saleh

Province :FKIH BEN SALEH

Commune : BENI MELLAL

Secteur : KOURIFAT

Localité : ABDOUNE

Nom du gîte : PRISE 13

Type : naturelle /X./ artificielle /...../

Caractère : permanent /X/ temporaire /...../

Date de récolte 25/12/14 T° ambiante : 18°C T° eau : 14 ph : 7

Type de végétation : ALGUES.....

Distance par rapport à la localité : 3 KM

Utilisation du gîte : Baignade : /.... / Lessive : /.... / Irrigation : /X/ Autres : /.... /

Nombre de mollusques récoltés:

moins 10 : /.... / 10 à 50 : /X. / 50 et + : /.... /

Nombre de *Bulinus truncatus* récoltés :...50.....

Nombre de *Planorbarius metidjensis* récoltés:...0.....

Codes des flacons de conservation :...12345.....

Observation :la canalisation de cette ligne ou se trouve le bulin est brise. il s agit d un puisard isole. d une eau stagnant. En effet cette canalisation n est pas en fonction

RÉSUMÉ

Le Maroc est l'un des huit pays à avoir élaboré, exécuté et réussi un processus d'élimination de la bilharziose à *S. haematobium*, et ce depuis 2004. Néanmoins, pour confirmer l'interruption de la transmission de la maladie, l'OMS recommande le dépistage sérologique de la bilharziose chez les enfants, combiné avec la détection moléculaire de l'infection à *S. haematobium* chez les bulins, cinq ans après la déclaration du dernier cas autochtone. Dans cette optique, en 2009, nous avons réalisé de pair, une étude sérologique et malacologique dans les provinces à passé épidémiologique récent et à risque potentiel de transmission de la bilharziose: Tata, Errachidia, Chtouka Aït Baha, El Kelaâ des Sraghna, et Béni Mellal. L'étude sérologique a ciblé tous les enfants âgés de moins de 16 ans, habitants les secteurs où les derniers cas ont été détectés. Une goutte de sang de la pulpe digitale est recueillie directement sur du papier buvard. L'examen sérologique est réalisé par l'Enzymo-Immuno Transfert Blot, à base des antigènes microsomaux de *S. haematobium*. L'analyse de l'infectivité des bulins, collectés aux niveaux des gîtes, est réalisée par la DraI PCR spécifique des schistosomes du groupe *haematobium*, et confirmée par la Sh110 SmSL PCR, spécifique de *S. haematobium*. Les résultats ont montré l'absence d'anticorps anti *S. haematobium* chez les 2382 enfants dépistés et l'absence de l'infectivité chez les bulins collectés à Errachidia et Chtouka ; tandis qu'à Béni Mellal, Tata et El Kelaâ des Sraghna, les bulins présentent des traces d'ADN de *S. haematobium* ou *S. bovis*. Ces mollusques, examinés par Sh110 SmSL PCR, ont montrés l'absence de trace d'ADN de *S. haematobium* et réfèrent les résultats positifs du DraI PCR aux réactions croisées avec *S. bovis*. Pour maintenir l'élimination et prévenir la réémergence de la maladie, nous avons réalisé une étude bibliographique sur les tests sérologique et malacologique performants afin de renforcer le système de surveillance/veille sanitaire. L'approche de surveillance proposée, consiste à introduire le dépistage basé sur des tests sérologiques rapides, tel que l'HAI (commercialisé). L'infection active sera confirmée par les tests de détection des antigènes tels que les tests RDT filtration ou FTUCP (commercialisé). La surveillance malacologique et l'examen de l'infectivité seront réalisés par le test récemment développé PCR DraI/Sh73. L'évaluation de ce test dans une étude pilote à la commune de Krifat de Fkih Ben Saleh, a montré qu'il est hautement sensible. La gestion de la surveillance/veille sanitaire proposée dépend du niveau de risque de réémergence de la maladie de chaque aire géographique.

Abstract

Morocco, among eight countries, have eliminated the urinary schistosomiasis transmission, by the end of 2004. However, to confirm the interruption of transmission of the disease, WHO recommended the measure of human and snails *Schistosoma haematobium* infection rates by serology and molecular biology, five years after the last autochthonous case. In this objective, in 2009, we have estimated snail and children infection rates at the last historic transmission sites of schistosomiasis, known to be free from new infection among humans since 2004: Tata, Errachidia, Chtouka Aït Baha, El Kelaâ des Sraghna, et Béni Mellal. The study population was composed of children 1–16 years old, and from sectors and localities that represented foci of schistosomiasis transmission and where the last known cases of schistosomiasis were detected. Fingerstick blood samples were collected on Nobuto filter paper, and specific antibodies directed against *Schistosoma haematobium* adult worm microsomal antigens were detected by using an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay. Screening of large numbers of snails for infection, collected from snails habitats of the five provinces, were analyzed in pools by DraI PCR, specific of *S. haematobium* group. To distinguish *S. bovis* and *S. haematobium*, the snails were analyzed by Sh110/Sm-SI PCR, specific of *S. haematobium*. The results showed an absence of antibodies in all serum samples of 2382 children and an absence of infectivity of snails collected from Errachidia and Chtouka Ait Baha; but, snails from remaining snail habitats of El Kelaa des Sraghna, Tata and Beni Mellal were positive. This led to suggest the presence of circulating schistosome species (*S. haematobium*, *S. bovis* or others) within these positive snail habitats. Subsequently, confirmation with *S. haematobium* species specific molecular assay, Sh110/Sm-SI PCR, showed that none of the collected snails were infected by *S. haematobium* in all historic endemic areas. To maintain the elimination and prevent the reemergence of the disease, a bibliographic research about serological and malacological tests cheap and field friendly showed that there is no ideal test, but we can use the HAI serological test (antibodies detection), RDT filtration or FTUCP test (antigen detection). Malacological survey using molecular tools as PCR DraI/Sh73 presented several advantages and is very encouraged. Evaluation of this new test in Fkih Ben Saleh, Krifate commune, showed the high sensibility of the test. The management of the sanitary survey proposed in our study depends on reemergence risk level of each geographic areas.

