



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**Étude rétrospective de la leishmaniose au niveau du
laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et
d'Hygiène du Milieu-FES**

Présentée par : Ahlam ALTIF

Encadré par : Pr. Khadija BEKHTI (FST Fès)

Mr. Mohammed AMEZIANE (LRDEHM)

Soutenu le : 07/06/2018

Devant le jury composé de :

- **Pr. BEKHTI Khadija**
- **Pr. SEFRIOUI Samira**
- **Pr. AMEZIANE Mohammed**

**Stage effectué à : Laboratoire régionale de diagnostic épidémiologique et d'hygiène
du milieu-Fès**

Année universitaire 2017-2018

DÉDICACE

Je dédie ce travail

A

Mes très chers parents

Qui ont toujours été là pour moi tout au long de mes études et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A mon cher frère et ma chère sœur

Pour leurs patiences et leurs soutiens qu'ils n'ont cessés d'apporter au cours de ma formation.

A ma famille

Que ce travail soit l'aboutissement de votre soutien et de votre encouragement.

A mes amis et amies

Mohammed Amziane, Abdellatif Alami, Fatima Zahra El hinaoui, Btissam chair, Zineb Soufi,
, Que notre amitié dure pour toujours.

A tous ce qui m'aiment sincèrement

Je vous dédie ce modeste travail.

Remerciement

Je tiens à remercier toute personne ayant contribué d'une façon ou d'une autre à la réalisation de mon travail.

Tout d'abord je tiens à remercier vivement **Dr. Mehdi BELOUTI**, le directeur du ministère de la sante qui m'a donné l'opportunité d'effectuer mon stage de fin d'étude au sein du laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu-FES.

J'exprime ma profonde gratitude et immense respect à **Mr Mohammed CHERGUI**: responsable de LRDEHM, de sa disponibilité, de m'avoir encadré durant ma période de stage et de son soutien.

J'adresse également mes sincères remerciements à mon encadrante **Khadija BEKHTI** professeur de microbiologie à la faculté des sciences et techniques de Fes pour ses conseils précieux qui m'ont permis de réaliser mon sujet de fin d'étude dans les bonnes conditions.

C'est avec gaité de cœur inestimable que j'adresse mon vif sentiment de reconnaissance et de respect à **Mr Mohammed AMZIANE** qui m'a encadré et m'a guidé le long de toute la dureté de stage. Il s'est grandement impliqué dans la conduite de ce projet. Je tiens à le remercier aussi pour cette liberté qu'il m'a permis, sans laquelle je ne saurais affirmer ma manière de penser et de procéder.

Mes remerciements s'adressent également à **Mr Abdelaaziz El OUALTI**: ingénieure d'état, **Mr Abdellatif ALAMI** : responsable de l'unité de dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale, et **Mr Hamid SABREI** : infirmier-chef du laboratoire, pour leurs conseils et leur accueil chaleureux ainsi qu'à tout le personnel pour, leur bienveillance ainsi que leurs conseils fructueux.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont également à **Mr Halloti Saïd**, notre chef de filière, ainsi à **Mr ajaali** le doyen de la FST FES et tout le corps administratif de la FST FES en témoignage de notre reconnaissance.

Avant-propos

Ce stage de fin d'étude a été réalisé pour l'obtention de la licence en «Science Biologique Appliquée et Santé».

Il a été réalisé en 7 semaines sous la direction du Pr. Khadija BEKHTI, Enseignante Biologiste à la Faculté des Sciences et Technique de Fès – Sais, et sous la direction de Mr. Mohammed AMEZIANE du Laboratoire Régional du Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès. Le sujet du mémoire s'intitule: " Étude rétrospective de la leishmaniose au niveau du Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu de FES ".

Mot clés : leishmaniose, Fès-Moulay Yaacoub, Étude rétrospective.

Présentation du Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu

▪ **Historique**

En 1997, le ministère de la santé a créé des laboratoires "à visée préventive" : les laboratoires de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu (LDEHM). Ils constituent une structure d'appel indispensable pour la surveillance épidémiologique des maladies infectieuses et transmissibles et pour les programmes sanitaire du Ministère de la Santé dans le cadre de l'hygiène de l'environnement. Actuellement, il existe 42 LDEHM, le laboratoire de Fès fait partie des 11 laboratoires régionaux qui ont vu le jour à partir des années 80. Il est implanté près de l'Hôpital EL GHASSANI dans un département indépendant et est individualisé des Laboratoire d'analyses cliniques et de transfusion.

▪ **Organisation fonctionnelle du LRDEHM**

☞ Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès :

➤ **Unité d'Hygiène**

- Analyses microbiologiques des eaux et des aliments.
- Analyse microbiologiques de l'environnement hospitalier.

➤ **Unité de Toxicologie**

- Analyses physico-chimiques des eaux.
- Toxicologie des aliments (Recherches des aflatoxines par CCM).

➤ **Unité des Maladies Parasitaires**

- Microscopie du paludisme, de leishmaniose cutanée et de la bilharziose.
- Diagnostic immunologique du paludisme.

➤ **Unité d'Entomologie**

- Identification de moustique.
- Suivi de la sensibilité OMS des insectes aux pesticides.

➤ **Unité d'Hypothyroïdie Congénitale**

- Dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale chez les Nouveau-nés dans la région de Fès-Meknès.

☞ Mission du LRDEHM

- Soutien au programme de prévention et de lutte contre les maladies infectieuses et transmissibles.
- Appui technique (diagnostic et confirmation des maladies) pour les structures de soins de santé de base (RSSB).

☞ Assurance qualité au LRDEHM

Une politique d'assurance qualité est mise en œuvre par le LRDEHM pour obtenir et garantir la qualité des analyses (NM ISO/CEI 17025, ISO9001). Un système statistique informatisé est mis en place par le LRDEHM pour le traitement des résultats d'analyse.

☞ Rattachement du LRDEHM

Le LRDEHM est rattaché au SIAAP et à la Direction Régional de la Santé de Fès. Il est également en étroite collaboration avec l'Institut National d'Hygiène et la Direction D'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies de Rabat.

☞ Clients du LRDEHM

Le LRDEHM couvre les besoins des délégations sanitaires des provinces et préfectures de la région Fès-Meknès (centres de santé, Hôpitaux provinciaux, Services préfectoraux d'Hygiène du Milieu, Contrôle Sanitaire aux frontières).

Résumé

La leishmaniose cutanée constitue un problème majeur de la santé publique au Maroc malgré les efforts fournis par le Royaume. L'objectif de ce travail est de mettre de la lumière sur la situation épidémiologique de la leishmaniose cutanée dans la région de Fès et Moulay Yacoub, en se basant sur les données récoltées par le Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès, ainsi, que les zones à risque potentiel.

L'étude rétrospective entre 2013 et 2017 a donné une prévalence de la maladie de 29%, l'année 2017 a enregistré le nombre le plus élevé des cas positifs (57), les enfants moins de 12 ans sont les plus touchés et surtout les femmes qui atteignent 75 cas positifs.

La province de Moulay yacoub est plus touchée que la préfecture de Fès. Les secteurs d'Ain kansara, Ain chkef et Ras Elma sont les plus touchés, alors qu'à Fès, les secteurs les plus touchés sont : sidi Brahim, Ain nokbi, Massira et bab sifer.

Sommaire

<i>Introduction</i>	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	2
I. Définition.....	3
II. Épidémiologie.....	3
1. Parasite	3
2. Cycle évolutif.....	5
3. Vecteur	6
4. Modalités de transmission	7
5. La leishmaniose dans le Monde	7
6. La leishmaniose au Maroc : situation actuelle	8
6.1. La leishmaniose viscérale	9
6.2. Les leishmanioses cutanées	9
III. Diagnostic biologique des leishmanioses	11
1. Leishmanioses cutanées.....	11
1.1. Prélèvement.....	11
1.2. Fixation, coloration et observation microscopique.....	12
2. Leishmaniose viscérale.....	13
2.1. Diagnostic clinique.....	13
2.2. Diagnostic biologique.....	13
2.3. Diagnostic sérologique	15
2.4. Diagnostic moléculaire par PCR	15
I. Traitement.....	15
II. Prophylaxie.....	15
MATERIEL ET METHODES	17
I. Matériel et méthodes	18
1. Zone d'étude	18
2. Période d'étude	18
3. Fiche de registre	18
4. Paramètre recherchés.....	19

RESULTATS	20
I. Étude épidémiologique.....	21
1. Prévalence.....	21
2. Répartition annuelles	21
3. Répartition mensuelle.....	22
4. Répartition selon l'âge.....	25
5. Répartition selon le genre	26
6. Répartition géographique.....	26
II. Secteurs à risque.....	27
DISCUSSION	29
<i>Conclusion et perspective</i>	32
<i>Références bibliographiques</i>	33
<i>ANNEXES</i>	35

Liste des abréviations

LDREHM	Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu.
OMS	L'organisation Mondiale de la Santé
LV	Leishmaniose viscérale
LNRL	Laboratoire national de Référence des leishmanioses
LC	Leishmaniose cutanée
SIAAP	Service d'Infrastructure et Action Ambulatoire Préfectorale
PCR	Polymerase Chain réaction
MGG	Coloration de May-Grunwald et Giemsa
MS	Ministère de la Santé
NNN	Novy-Nicolle-Mc Neal
IFI	Immuno-fluorescence indirecte
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
HAI	Hémagglutination indirect
PCR-RFLP	Polymerase chain réaction – Restriction fragment Length Polymorphism

Liste des figures

- **Figure1.** Forme promastigote de la leishmaniose vue au microscope optique.
- **Figure2.** Forme amastigote de la leishmaniose vue au microscope optique.
- **Figure3.** Cycle évolutif.
- **Figure4.** Phlébotome.
- **Figure5.** Répartition géographique mondiale des leishmanioses.
- **Figure6.** Forme amastigote vue au microscope optique.
- **Figure7.** Distribution annuelle de la LC.
- **Figure8.** 2013, distribution mensuelle de la LC.
- **Figure9.** 2014, distribution mensuelle de la LC.
- **Figure10.** 2015, distribution mensuelle de la LC.
- **Figure11.** 2016, distribution mensuelle de la LC.
- **Figure12.** 2017, distribution mensuelle de la LC.
- **Figure13.** Répartition des cas de LC de 2013 à 2017 selon l'âge.
- **Figure14.** Répartition des cas de LC de 2013 à 2017 selon le genre.
- **Figure15.** Répartition de la LC selon les secteurs.

Liste des tableaux

- **Tableau 1 :** leishmaniose cutanée enregistré au LRDEHM depuis 2013 jusqu'à 2017.
- **Tableau 2 :** de la répartition de la LC selon les centres de santé à la région de Fès.
- **Tableau 3 :** répartition de la LC selon les centres de santé à la province de Moulay Yaacoub.

Introduction

Les Leishmanioses sont connues depuis l'antiquité, menacent actuellement 350 millions de personnes. Elles regroupent tout un ensemble de syndromes du fait de la variété des parasites, chacun d'entre eux, étant lié à un vecteur et un réservoir spécifique. C'est ainsi que leurs spectres cliniques s'étendent des formes asymptomatiques aux formes mortelles, avec des atteintes cutanées et muco-cutanées ou viscérales.

La leishmaniose viscérale (LV) de l'enfant est fréquente sur le pourtour Méditerranéen, elle atteint le plus souvent les enfants âgés entre 2 et 3 ans.

Le Maroc se place parmi les pays les plus touchés du pourtour méditerranéen.

Le bilan biologique demandé par le clinicien a bénéficié de l'utilisation de Nouvelles techniques, qui ont non seulement permis d'augmenter le potentiel d'identification, mais également d'apporter de nombreuses informations concernant la nature biochimique et antigénique des *Leishmania*, ce que contribuera au développement de vaccins et de traitements efficaces.

En absence de vaccin, l'OMS (L'organisation Mondiale de la Santé) recommande pour la lutte contre les leishmanioses, un diagnostic le plus précoce possible, suivi d'une prise en charge immédiate et correcte.

De ce fait, le Ministère de la Santé (MS) a lancé un programme de lutte contre les leishmanioses visant l'éradication de cette maladie à pronostic sombre.

Notre travail est une étude rétrospective, portant sur les cas de leishmaniose diagnostiqué au niveau de LRDEHM-Fès durant une période de 5 ans (du 01/01/2013 au 31/12/2017). Cette étude a comme objectif la mise au point sur le profil épidémiologique de cette affection.



REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Définition

Les leishmanioses sont des maladies infectieuses transmises par des diptères piqueurs, les phlébotomes. Elles sont déterminées par un groupe complexe de protozoaires kinetoplastida du genre *Leishmania*. La plupart de ces affections se présentent comme des zoonoses impliquant un vertébré réservoir autre que l'homme. Un petit nombre seulement se comporte comme des anthroponoses : l'homme constitue alors le seul réservoir connu (Rioux et Lanotte, 1993)

II. Épidémiologie

1. Parasite

On connaît actuellement environ 17 espèces de leishmanies réparties dans 88 pays et 4 continents. Au cours de son évolution, le parasite passe obligatoirement deux formes morphologiquement distinctes : forme promastigote et forme amastigote.

- La forme promastigote

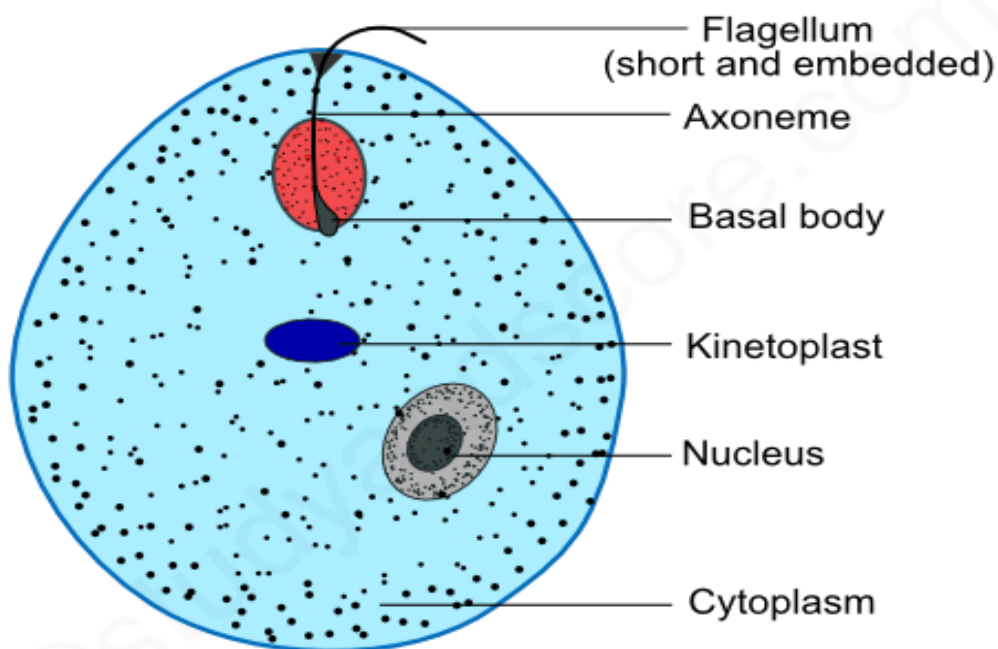


Figure1 : forme promastigote de *Leishmania* vue au microscope optique
https://www.researchgate.net/figure/Forme-promastigote-de-Leishmania-wwwalaeiquebeccom_fig1_309160370

Au microscope photonique, le promastigote se présente en général, comme un corps fusiforme de 20 à 30 μm de long sur 1 à 3 μm de large, réfringent, pourvu d'un flagelle a insertion antérieure. Très flexible, il confère au parasite une mobilité remarquable. La coloration au Giemsa fait apparaître un noyau **violace** bien individualisé, se détachant sur un **cytoplasme rose pale**(*figure1*).

Au niveau de l'insertion du flagelle, un organe de taille importante, le kinétoplaste, prend la même coloration que le noyau. Les promastigote se développent dans l'intestin des invertébrés vecteurs. Ce sont eux que l'on obtient également, in vitro, dans les milieux de culture appropriés.

- La forme amastigote



LEISHMANIA: AMASTIGOTE FORM

©studyandscore.com

Figure2: forme amastigote de *Leishmania* vue au microscope optique
<http://www.studyandscore.com/studymaterial-detail/leishmania-general-characters-distribution-and-life-cycle>

- Le parasite est ovoïde de 2 à 6 µm de diamètre. Coloré au Giemsa, le noyau et le kinétoplast prennent une coloration **rouge** sur un fond **bleu** du cytoplasme. Le flagelle est réduit à une ébauche apicale antérieure et intra cytoplasmique (*figure2*).

2. Cycle évolutif

Les trois éléments indispensables au déroulement du cycle des leishmanies sont le parasite, l'hôte vecteur et l'hôte réservoir.

Chez l'homme, les leishmanies (sous forme amastigote) se multiplient par fission binaire dans les macrophages qu'elles distendent. Ces cellules hôtes finissent par éclater, libérant les parasites qui pénètrent aussitôt dans de nouvelles cellules. Le phlébotome femelle s'infeste en piquant un homme ou un animale malade et en absorbant ainsi des cellules parasitées. Les leishmanies (sous forme promastigote) se multiplient dans l'intestin de ce vecteur. Au bout d'une semaine environ, le phlébotome peut à son tour transmettre des parasites infectieux (*Figure3*).

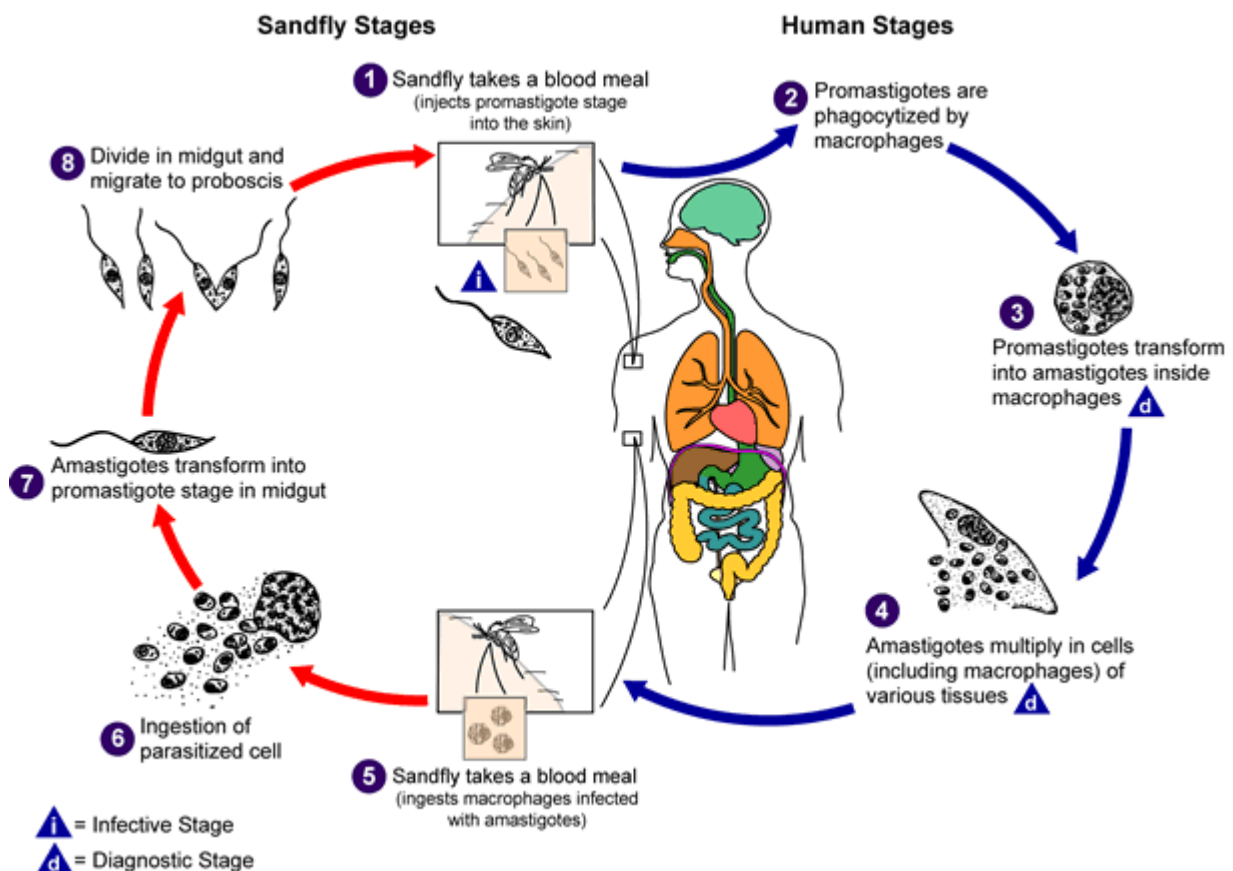


Figure 3: cycle évolutif

<http://leishmaroc.e-monsite.com/>

3. Vecteur

La leishmaniose est une maladie transmise par un arthropode. Son vecteur habituel est le phlébotome. Le phlébotome est un diptère nématocère. La femelle, seule, est hématophage, elle se nourrit sur les vertèbres (lézards et mammifères) son infestation advient lors du repas sanguin, le parasite se développe alors dans son tube digestif.

- Description d'un phlébotome :



figure4 : phlebotomus

https://fr.wikipedia.org/wiki/Phlebotominae#/media/File:Phlebotomus_pappatasi_bloodmeal_continue2.jpg

C'est un insecte d'aspect frêle, mesurant de 1.5 à 3mm de long, possèdent une tête allongée, formant avec le corps un angle de 45degrés. Cette disposition lui confère une allure bossue. Velu, la garniture en poils sur les ailes et le corps lui donne une couleur générale jaune pâle ou grisâtre. Les pattes sont longues et les ailes, au repos, son relevées. (*figure4*)

Généralement, nocturne, le phlébotome a un vol saccade et de courte durée. Son activité semble obéir aux cycles saisonnier et nycthémeral. Le biotope des phlébotomes est variable selon l'espèce, sa détermination est fortement influencée par des facteurs abiotiques (température, Humidité...) et biotique (Besoins trophiques...).

4. Modalités de transmission

Il est actuellement que la pique, lors d'un repas sanguin, est le mode le plus commun de l'infection du phlébotome et de la transmission aux hôtes vertébrés (*Adler et Ber, 1941*).

D'autres modes de transmission sont suggérés : l'écrasement des phlébotomes infectés sur une peau lésée et contact avec le sang parasité (transfusion et échanges de seringues) (*WHO, 2000*).

5. La leishmaniose dans le Monde

Sévissant sur 4 des 5 continents, les leishmanioses affectant la santé des populations de 88 pays du monde, dont 72 parmi les plus faiblement développés.

Selon l'OMS, le nombre des cas prévalent de leishmanioses serait de 12 millions tandis que 350 millions de personnes seraient exposées. L'incidence serait de 1 à 1,5 millions de cas pour la leishmaniose cutanée (L C) et de 500 .000 pour la leishmaniose viscérale (L V). Cette dernière sévit à l'état endémique dans plusieurs pays, sa répartition géographique s'étend sur le pourtour méditerranéen, l'Afrique tropicale, l'Asie particulièrement l'Inde, la Chine du nord-est, l'Amérique du sud notamment le Mexique, et le nord de l'Argentine surtout le Brésil. (*figure5*). La mortalité de la leishmaniose viscérale est loin d'être négligeable, puisque l'OMS l'évalue à 60 .000/an Ces derniers années ont vu, en plus de l'extension des zones d'endémie, des poussées épidémiologiques, comme cela fut le cas au Soudan, amenant une augmentation régulière du nombre de cas signalés, bien que la déclaration ne soit obligatoire que dans 32 pays des 88 concernés.

Par ailleurs, la L V est actuellement considérée comme une parasitose opportuniste au cours du Sida, et son estimation par OMS se situe entre 2 et 9% chez les patients atteints du Sida en Europe du sud.

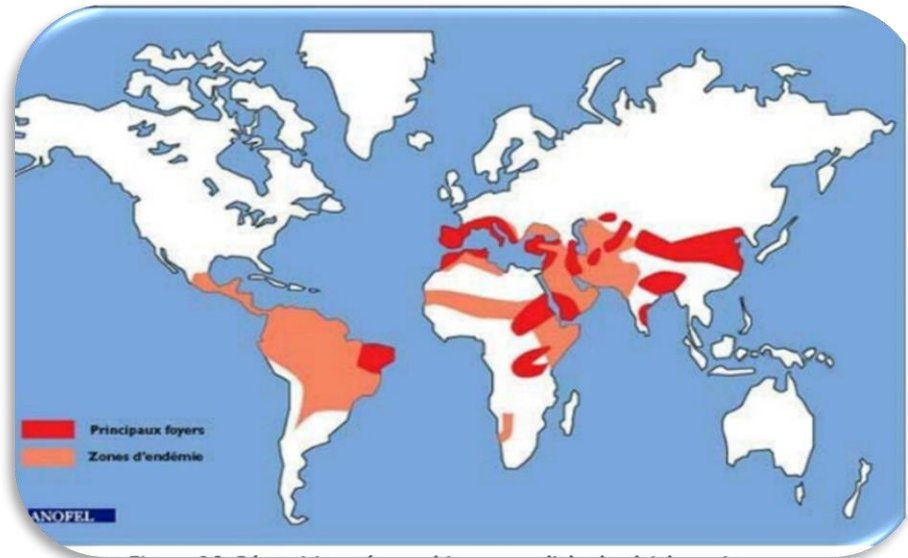


Figure5: répartition géographique mondiale des leishmanioses (Anofel., 2007)

6. La leishmaniose au Maroc : situation actuelle

Les leishmanioses sont des parasitoses endémiques du Maroc. Elles étaient découvertes depuis le début du 20ème siècle (soley, 1914). Les études Eco-biologiques antérieures, des leishmanioses, ont révélé la présence simultanée de 2 formes noso-cliniques de leishmaniose dans le royaume, à savoir :

- La leishmaniose viscérale (LV)
- La leishmaniose cutanée (LC)

La majorité des provinces sont touchées avec une extension spatiale et temporelle (*figure6*). En 2000, 31 de provinces ont été touchées, ce nombre est passé à 45 provinces en 2016. Concernant le nombre de cas, il est passé de 778 en 2000 pour atteindre un pic de 8707 cas en 2010. Puis il a baissé à une moyenne de 2741 cas entre 2012 et 2015, suite à été marquée par une réémergence de cas, soit 4947 cas. (Laboratoire nationale de Reference des leishmanioses (LNRL) à partir du https://www.sante.gov.ma/publication/Etudes_enquête/pages/default.

6.1. La leishmaniose viscérale

La LV au Maroc est connue depuis plusieurs décennies (Delpy, 1993). L'espèce *Leishmania infantum* a été identifiée et confirmée comme agent causal de la maladie au niveau de différentes provinces du Maroc (Mniouil, 2016). Le zymodème Mon 1 est l'agent étiologique commun des LV au pourtour méditerranéen (Rioux et Raspail, 1983).

La LV reste une maladie parasitaire sporadiquement endémique au Maroc. Elle est surtout localisée dans le nord du pays, avec une extension progressive vers le sud (Dereure, 1986, *Bulletin de DELM*, 2000 Mniouil, 2016).

Deux espèces du phlébotome sont incriminées dans la transmission de cette forme au Maroc, *P. ariasi*, *P. perniciosus* et *P. longicuspis* (Dereure, 1986)

Le réservoir de la LV est **le chien malade** ou **porteur sain**. Il assure la conversation du parasite et sa transmission par le vecteur (Rioux et Raspail, 1983).

Transmissible à l'homme par le phlébotome, *L. infantum* est responsable d'une atteinte reticulo-histiocytaire diffuse.

Ce sont surtout les enfants entre 1 et 15 ans qui sont les plus atteints (74%), néanmoins l'adulte aussi n'est pas épargné (26%)

La forme infantile, se traduit par la triade symptomatique classique, fièvre, anémie et splénomégalie (Dedet, 2001).

6.2. Les leishmanioses cutanées

Les LC humaines ont été décrites plusieurs fois au Maroc. Elles ont été subdivisées en 2 entités bio-épidémiologiquement différentes :

- LC due à *L. tropica* ou la forme sèche ou urbaine.
- LC due à *L. major* ou la forme humide ou rurale.

Actuellement et depuis l'installation de l'unité de biologie moléculaire en 2010 au LNRL, les travaux de recherches ont montré la présence de 3 entités différentes, en plus de *L. tropica* et *L. major*, on note aussi la présence de *L. infantum* cutanée.

☞ LC à *L. major*

Il s'agit d'une forme clinique caractérisée par des lésions de type "humide" et par une ulcération large (2 à 8 cm de diamètre) à fond bourgeonnant, papillomateux, recouvert d'un enduit plus ou moins purulent, et a bords abrupts pauvres en leishmanies souvent surinfectée et s'accompagnent alors de lymphagite et d'adénopathie satellite.

Les lésions guérissent en 3 à 6 mois. Une cicatrice pigmentée, permet le diagnostic rétrospectif (Rioux, 1986)

Ce parasite est maintenu par des rongeurs appartenant aux genres *Rhombomys*, *Meriones*, (ELBIHARI, 1984)

La transmission du parasite depuis le réservoir (*M.shawi*) à l'homme se fait par le biais du phlébotomus *papatasi* abondant dans les douars contaminés (Rioux, 1986).

☞ LC à *L.tropica*

Le premier cas de LC due à *L. tropica* a été identifié en France en 1987 chez un enfant marocain ayant séjourné à Tanant dans la province d'Azilal (Marty, 1989). Depuis lors, les atteintes leishmaniennes dues à *L. tropica* ne cessent d'apparaître. Un grand foyer, s'étendant sur une superficie de 400 km² allant d'Azilal au centre jusqu'à Essaouira à l'Ouest et Agadir-Guelmim au sud, était identifié comme lieu où sévit la LC a *L. tropica* dans notre Royaume (Guilvard, 1991).

Les études eco-epidemiologiques depuis 2010 ont montré que :

- La distribution de *L. tropica* par secteur montre une extension de la maladie ainsi qu'une urbanisation des foyers.
- Dans le sud-est *L. tropica* est exclusive : *Settat, Essaouira, Beni Mellal, Fquih Ben Saleh, El Kelaa des Sraghna, Taroudant, Agadir et Tiznit, Guelmim, Chtouka ait baha, Inewgane ait meloul, chichaoua et Azilal* (Rhajaoui, 2012, Sebti, 2015, Amarir, 2016, hakkour, 2016)
- Au sud et sud-ouest elle se retrouve avec *L. major* (Hmamouch, 2017, El Alem, 2016).

LC à *L. infantum*

Le premier cas marocain a été dépisté, dans le rif central à Taounate, par (Rioux) en 1995. L'identification du parasite a montré qu'il s'agit de *L. infantum* Mon24 (Rioux, 1996).

C'est l'agent d'une zoonose dont le chien est le principal réservoir. Certains canidés sauvages sont suspectés d'être des réservoirs primaires de *L. infantum*. Par ailleurs, le rat noir (*Rattus rattus*) pourrait être impliqué comme réservoir naturel de *L. infantum* dans certains foyers méditerranéens (GRADONI, 1983).

III. Diagnostic biologique des leishmanioses

1. Leishmanioses cutanées

Le diagnostic de certitude des LC repose sur la mise en évidence du parasite au niveau de la lésion (annexe1). Soit par un raclage ou par une biopsie cutanée.

1.1 prélèvement

Le diagnostic de certitude des L.C repose sur la mise en évidence du parasite (forme amastigote) au niveau de la lésion soit par un raclage de la lésion par une biopsie cutanée.

❖ Raclage de lésions

Il est effectué à la périphérie de la lésion cutanée, dans ses parties infiltrées, en évitant les zones ulcérées ou surinfectés par des bactéries.

- désinfecter soigneusement l'ulcération cutanée après avoir enlevé les croûtes qui la recouvrent.
- Avec un vaccinostyle, racler le revêtement cutané en allant de plus en plus profondément jusqu'à la sérosité plus ou moins teintée du sang.
- Le produit du raclage et le recueil des sérosités serviront à la confection des frottis et à la réalisation des cultures.
- sur une lame porte objet préalablement dégraissée étaler le prélèvement (produit du raclage) à l'aide d'un vaccinostyle.

- Écraser le produit du raclage à l'aide d'une autre lame porte objet.

Le frottis cutané doit être très mince pour bien observer les formes amastigotes.

Faire si possible plusieurs lames

- Numérotter les lames à l'aide d'un graveur ou crayon.
- Sécher les lames en les posant verticalement sur le support de séchage et colorer au Giemsa.

❖ **Biopsie cutanée**

La biopsie cutanée se fait à l'aide d'un punch sous anesthésie locale par un médecin spécialiste, le prélèvement est ensuite broyé dans l'eau physiologique stérile contenant des antibiotiques (Penicilline-Streptomycine), le broyat est soit ensemencé sur milieu de culture, soit utilisé pour faire un frottis mince (Annexe2).

Remarque : lorsque la lésion est assez récente, le diagnostic est facile car les leishmanies sont nombreuses dans les macrophages.

Dans les lésions anciennes ou surinfectées par les bactéries et les champignons, les parasites sont plus rares.

1.2. Fixation, coloration et observation microscopique

La coloration se fait pour le frottis cutané, en utilisant les lames étalées et séchées selon la fiche technique : prélèvement de leishmaniose cutanée.

Pour les frottis médullaires (LV) : soit les lames sont déjà confectionnées au niveau de l'hôpital, soit préparées à partir d'un prélèvement médullaire en déposant sur une lame porte objet, une goutte de la ponction médullaire et à l'aide d'une autre lame on étale la ponction en réalisant ainsi un frottis médullaire (annexe3).

Examen des lames : formes amastigotes

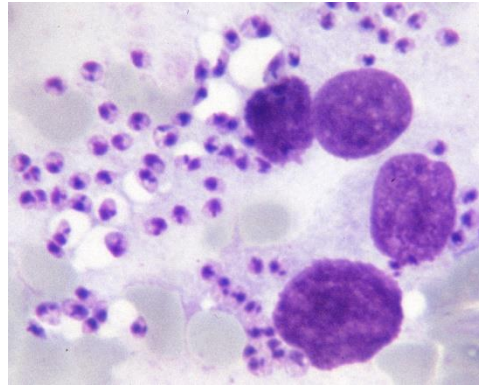


Figure 6 : forme amastigote vue au microscope optique.

<https://www.yabiladi.com/articles/details/59030/zagora-plusieurs-elevés-auraient-developpe.html>

Cette forme se trouve chez l'homme et les autres vertébrés (rongeurs, chiens, renard...).

Elle est arrondie ou ovoïdes, immobile, strictement intracellulaire, avec un diamètre compris entre 2 à 6 μm . Son cytoplasme est bleu contenant deux ponctuations rouges, l'une est grosse excentrée, rouge violacée correspondant au noyau, l'autre est bacilliforme rouge vermeil correspondant au kinétoplaste (figure7).

Lors de la confection du frottis les cellules macrophagiques hôtes peuvent s'éclater et les leishmanies se trouvent éparpillées sur le frottis.

Remarque : la sensibilité et la spécificité de la lecture peut être de 96% si un personnel compétent, fait la lecture de la lame, au moyen, en 20 minutes par lame, et en lisant tout le frottis (Da Silva et al. 2005).

2. Leishmaniose viscérale

2.1. Diagnostic clinique

Il est difficile même en zone d'endémie. Les leishmanioses viscérale simulent toutes les affections fébriles avec splénomégalie : paludisme, salmonellose, certains viroses, tuberculose hépatosplénique, et surtout l'hémopathie maligne et lymphome.

2.2. Diagnostic biologique

Signes de présomption

L'hémogramme met en évidence :

- une anémie normochrome
- une loco-neutropénie constante parfois importante autour de $2000\text{GB}/\text{mm}^3$
- une thrombopénie modérée

La vitesse de sédimentation est toujours augmentée dépassant 100mm à la 1ere heure l'électrophorèse des protides montre une élévation des alphas 2-globulines, une hypergammaglobulinémie et une hypo albuminémie

L'immunoélectrophorèse montre l'augmentation des IgG. Les IgM peuvent être élevées transitoirement.

▪ Diagnostic de certitude

- **Prélèvement**

La ponction de la moelle osseuse est indiquée en premier lieu il se fait soit par ponction sternale ou de la crête iliaque. Le prélèvement est douloureux et doit être réalisé par un personnel médical expérimenté en milieu hospitalier.

- La ponction splénique ganglionnaire ou hépatique
- La ponction splénique (déconseillée car risque de rupture de la rate dans 98% de cas)

Ces différents prélèvements sont servir à la confection de frottis mince pour la culture.

- **Examen parasitologique direct**

C'est la mise en évidence de leishmaniose sous forme amastigote sur un frottis mince coloré au Giemsa.

- **Culture sur milieu NNN (Novy-Nicolle-Mc Neal) additionnée du sang de lapin**

C'est la mise en évidence de forme promastigote après 4 à 30 jours de culture sur milieu NNN.

Cette culture permet outre que le diagnostic, le typage de l'espèce de leishmanie en cause.

2.3. Diagnostic sérologique

- Permet de mettre en évidence des taux d'anticorps élevés
- De réaliser des études sero-epidemiologiques
- De faire un suivi sérologique de l'évolution de la maladie sous traitement

Les principales techniques immunologiques utilisées sont :

Immunofluorescence indirecte (IFI), Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), Hémagglutination indirecte (HAI).

Ces techniques ont des sensibilités et des spécificités variables.

2.4. Diagnostic moléculaire par PCR

Il se fait à partir de biopsies (LC), du sang périphérique (LV) de lames et/ou cultures (LC, LV).

Le diagnostic se base sur la technique de PCR-RLFP.

I. Traitement

Le produit utilisé au Maroc est l'antimoniote de N-methylglucamine (Glucantime^R).

Chimiquement, il a une teneur en antimoine de 8.5% (85 mg/ml).

Il est sous forme d'une injection intra-lésionnelle ou une injection intramusculaire profonde de Glucantime^R. Ce médicament est pris en charge par l'état.

II. Prophylaxie

La prophylaxie anti-leishmaniennes se résume ainsi :

Lutte antiparasite

- Dépistage et traitement des cas pour stériliser l'homme porteur et couper la chaîne de transmission du parasite.
- Mettre des pansements sur les lésions dans les cas des LC anthroponotiques, lieu de pullulation des parasites.

Lutte anti-vectorielle

- Lutte personnelle par utilisation des moustiquaires à mailles serres et des répulsifs.
- Lutte collective chimique anti-vectorielles (larves et l'adulte) au niveau des gîtes des phlébotomes.

Lutte contre le réservoir animal

- Élimination des chiens malades et leur enterrement profond.
- Traitement des chiens porteurs.
- Élimination des rongeurs réservoirs : utilisation des Raticides, destructions de l'ordure ménagère, destruction de terriers.

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

1. Zone d'étude

La préfecture de FES et la province de Moulay Yacoub font partie de la région Fès- Meknès, selon le découpage de 2015 (Annexe 4).

2. Période d'étude

L'étude est rétrospective, elle considère les cas de leishmaniose cutanée collectés au laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène du Milieu – FES, de 2013 à 2017.

3. Fiche de registre

Une fiche de renseignement devrait être soigneusement remplie par l'infirmier effectuant le prélèvement, cette fiche (Annexe 5), fournit des informations sur le patient, à savoir :

- Nom et prénom;
- Age;
- Sexe;
- Adresse;
- Localité;
- Circonscription sanitaire;
- Province/préfecture;
- Dépistage;
- Date de prélèvement;
- Date d'examen;
- Résultats;

4. Paramètre recherchés

- L'âge;
- Le genre;
- Répartition géographique;

Les paramètres cités ci-dessus sont les facteurs clés dans l'analyse et le traitement de notre sujet.

Résultats

I. Étude épidémiologique

1. Prévalence

Tableau 1 : leishmaniose cutanée enregistré au LRDEHM depuis 2013 jusqu'à 2017.

Période	Nombre des cas	Nombre des cas positifs	Pourcentage
Du 01/01/2013 à 30/12/2017	533	155	29.08%

Le résultat du tableau 1 montre que sur 533 cas soupçonnés comme des infestations à leishmaniose cutanée, seulement 155 se révèlent selon l'identification microscopiques des cas positifs.

- La prévalence des cas positifs enregistrés au Laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique au Milieu de Fès est 29%.

2. Répartition annuelles

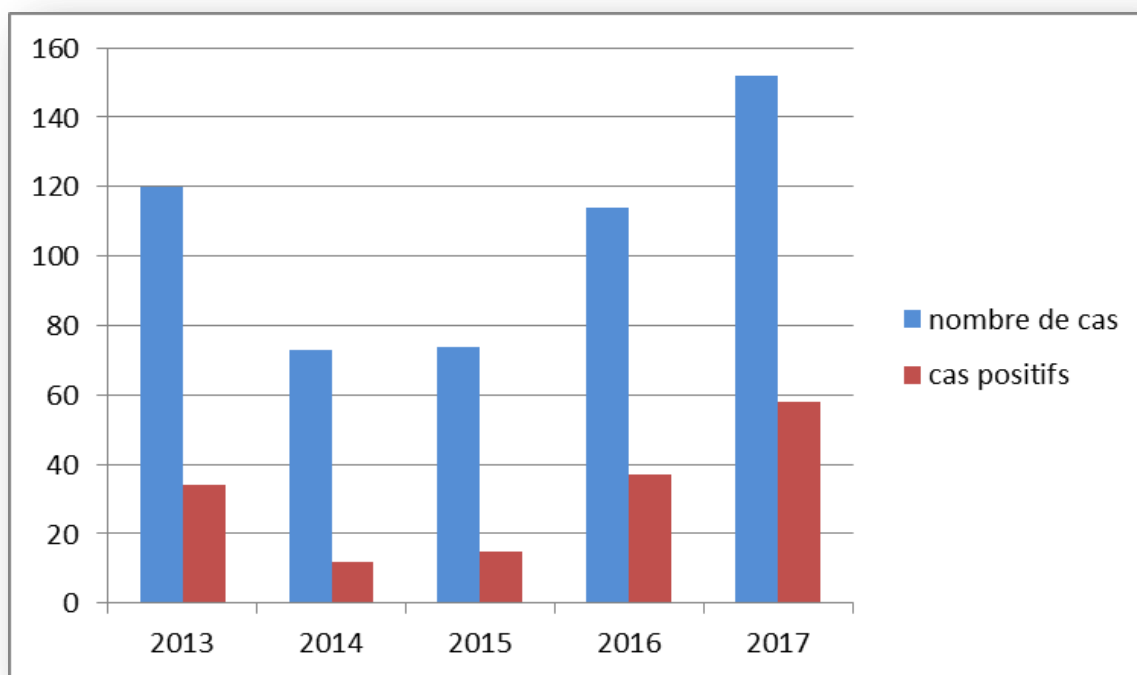


Figure7: distribution annuelle de la LC

De 2013 à 2017 la leishmaniose cutanée se montre avec des fluctuations, le maximum des cas POSITIFS est enregistré en 2017 avec 57 cas, alors que, le minimum est enregistré en 2014 et en 2015 avec une moyenne de 13.5 cas (Figure8).

3. Répartition mensuelle

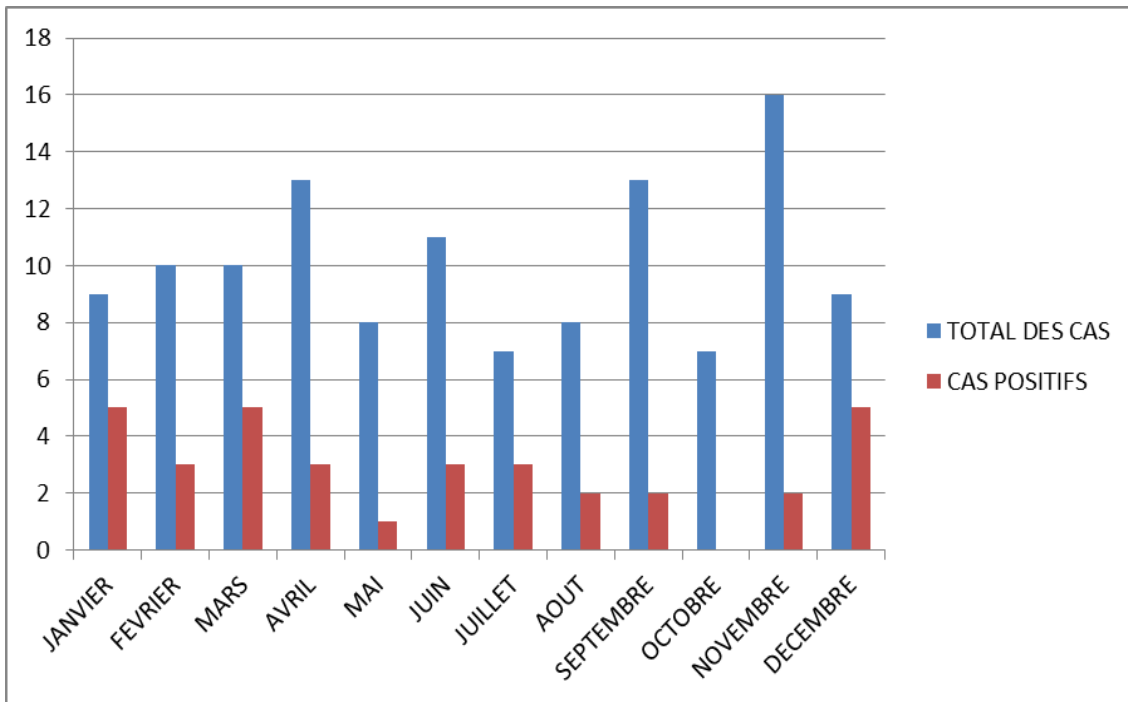


Figure8: 2013, distribution mensuelle de la LC

Les 34 cas de LC enregistrés en 2013 sont repartis sur presque tous les mois de l'année, à part le mois d'octobre, cependant les mois de Décembre, Janvier et Mars ont enregistré le plus de cas avec une moyenne de 5 cas par mois (Figure 9).

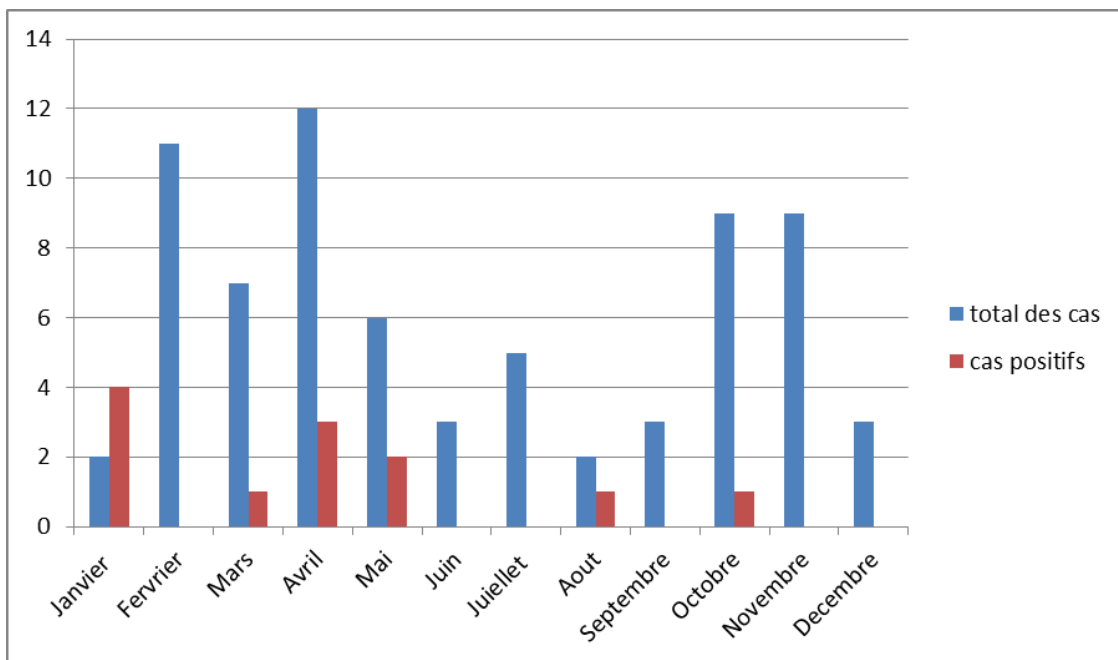


Figure9: 2014, distribution mensuelle de la LC

Les 12 cas de LC enregistrés en 2014 ne concernent pas les mois de Février, Juin, Juillet, Novembre et Décembre, qui n'ont enregistré aucun cas. Par contre, les dits cas sont repartis sur les mois de Janvier, Mars, Avril, Mai, Août et Octobre. Le mois de janvier viens en tête avec 4 cas, suivit par le mois d'Avril avec 3 cas (Figure 10).

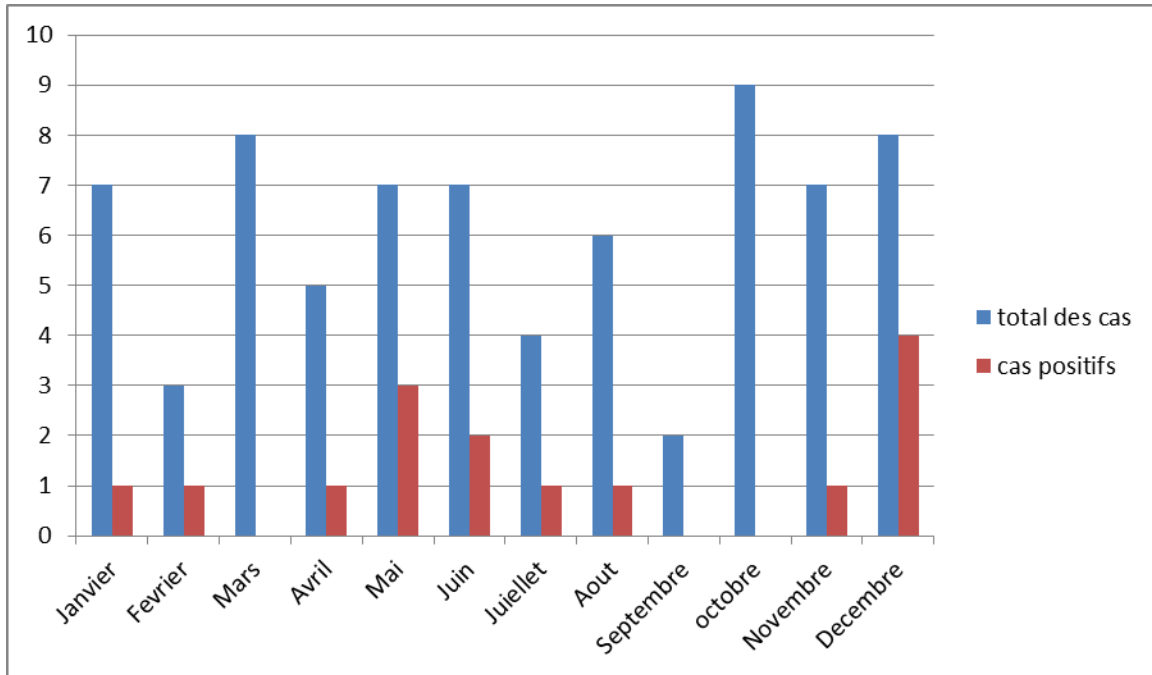


Figure10: 2015, distribution mensuelle de la LC

Les 15 cas de LC enregistrés en 2015 ne concernent pas les mois de Mars, septembre et octobre, qui n'ont enregistré aucun cas. Par contre, les dits cas sont repartis sur les mois de Janvier, Février, Avril, Mai, Juin, Juillet, Août, Novembre et Décembre. Le mois de Décembre vient en tête avec 4 cas, suivit par le mois de Mai avec 3 cas (Figure 11).

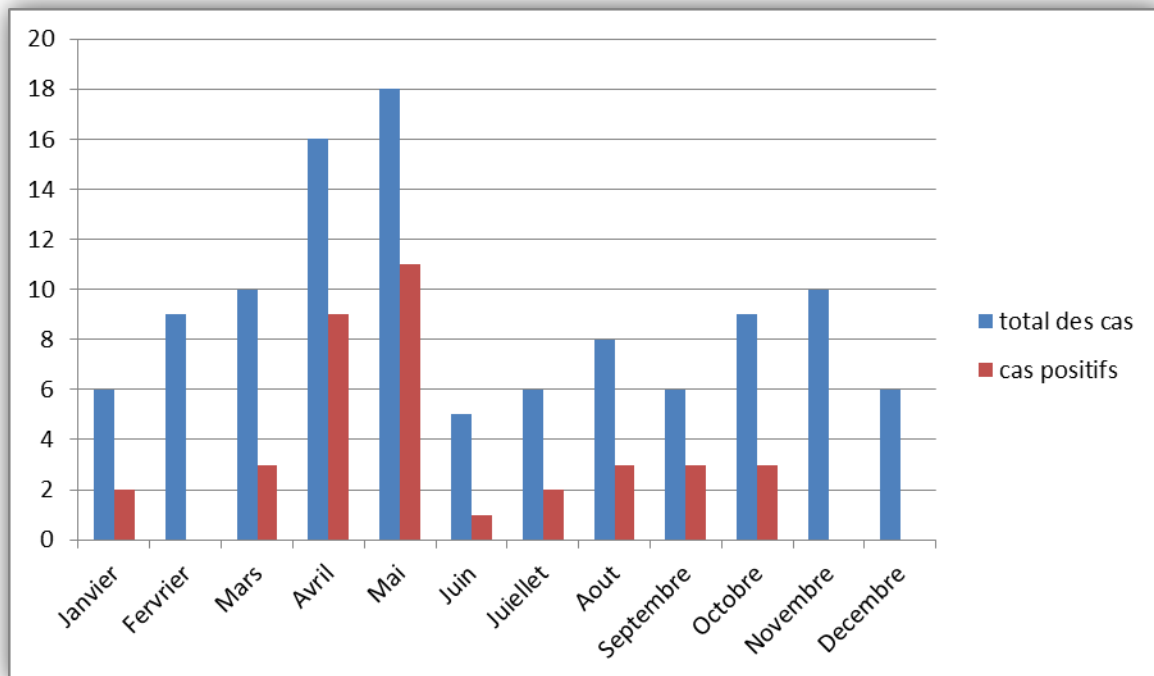


Figure11: 2016, distribution mensuelle de la LC

En 2016, les mois de Février, Novembre et Décembre sont indemnes alors que le maximum de cas POSITIFS est enregistré en mois d'Avril et Mai avec respectivement 9 et 11 cas (Figure 12).

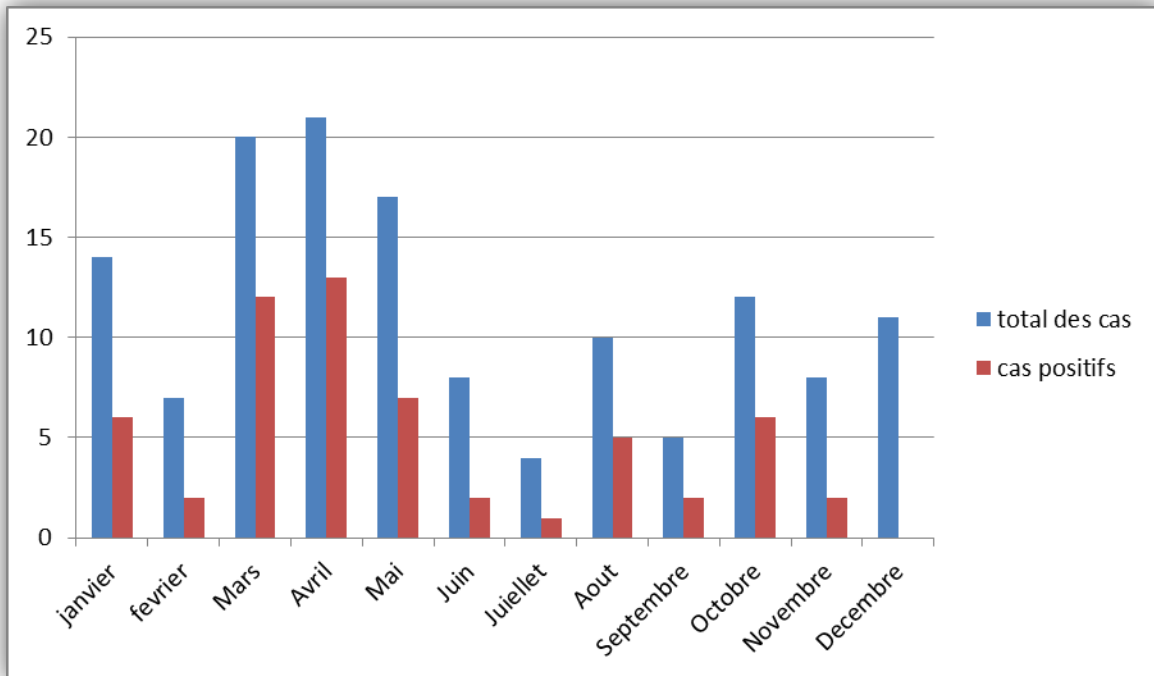


Figure12: 2017, distribution mensuelle de la LC

En 2017, le mois Décembre est indemne alors que le maximum de cas POSITIFS est enregistré en mois d'Avril, Mars et Mai avec respectivement 13, 12 et 7 cas (figure13).

4. Répartition selon l'âge

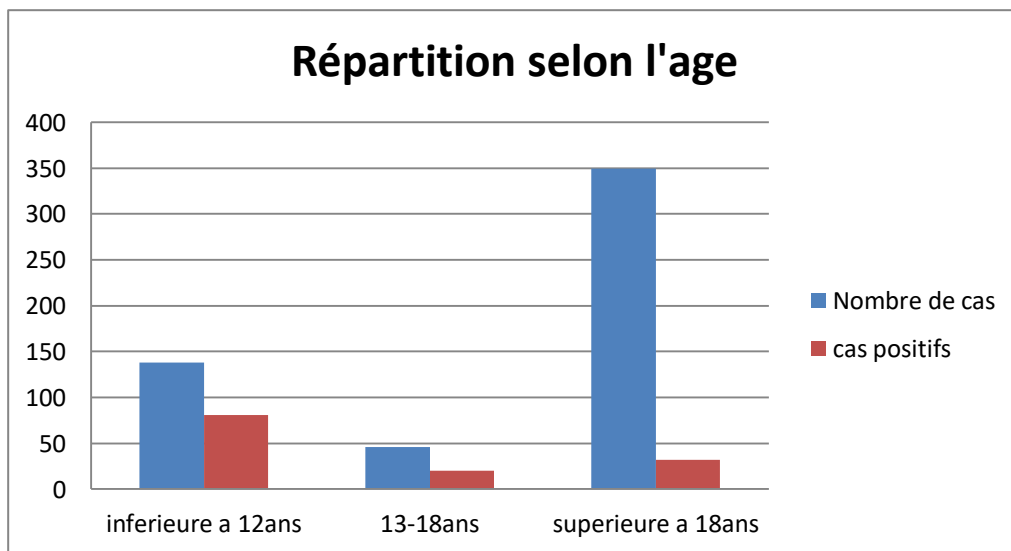


Figure13: répartition des cas de LC de 2013à2017 selon l'âge

- Toutes les tranches d'âge sont touchées par la leishmaniose cutanée.
- La tranche d'âge la plus touchée était celle inférieure à 12 ans, suivie de la tranche des personnes âgées de plus de 18 ans (figure14).

5. Répartition selon le genre

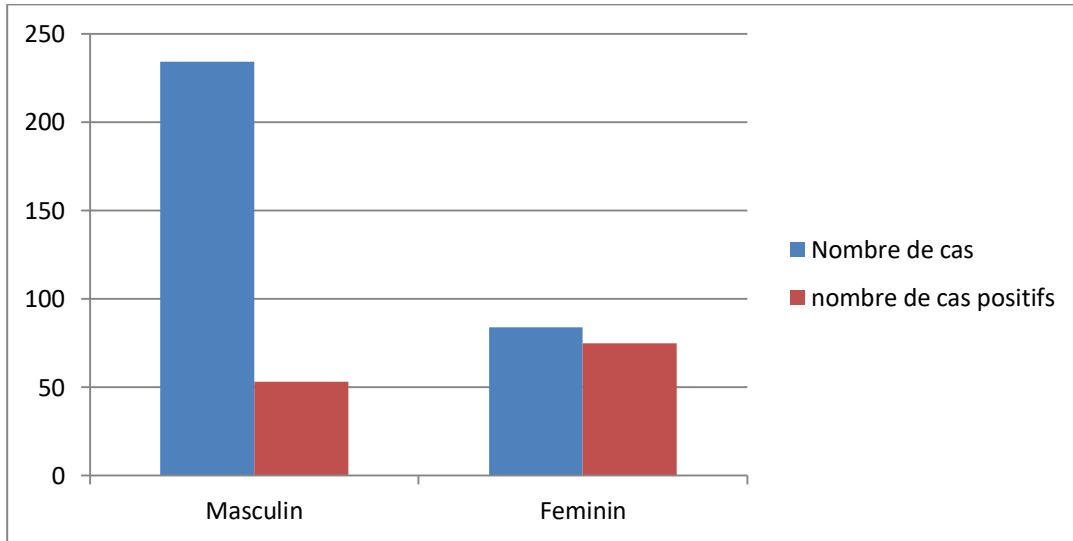


Figure14 : répartition des cas de LC de 2013à3017 selon le genre

D'après la figure 15, Les femmes sont plus touchées que les hommes, le sexe-ratio est de 0.7 (H/F).

6. Répartition géographique

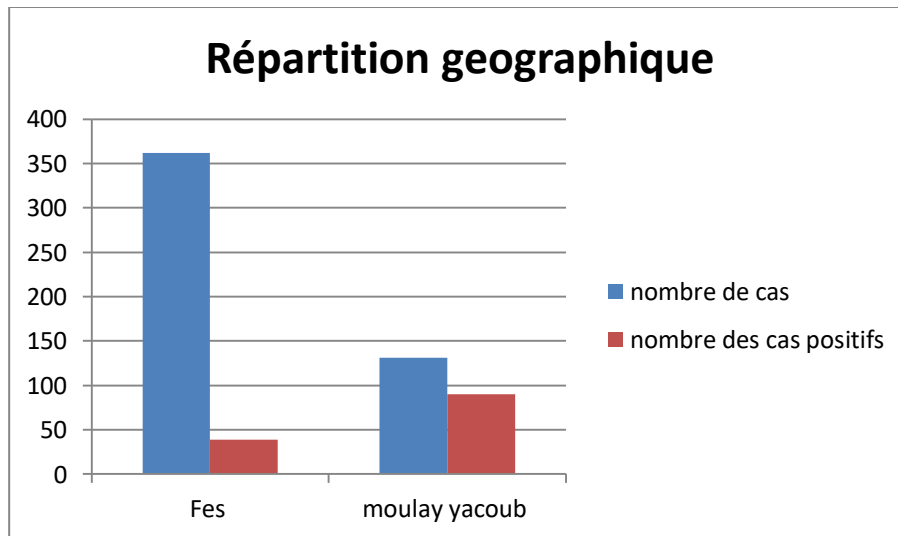


Figure15 : répartition de la LC selon les régions

D'après la figure 16, La province de Moulay yacoub est plus touchée que la préfecture de Fès.

II. Secteurs à risque

Pour mener à bien cette analyse, nous allons étudier les cas positifs des centres de santé de chaque préfecture, à Fès puis à Moulay yacoub.

Tableau 2 : répartition de la LC selon les centres de santé a la région de Fès

Centres de santé	total des prélèvements	nombre des cas positifs
Sidi Brahim	25	4
Ain nokbi	21	4
Massira	12	3
Bab sifer	34	5
sahrij Gnawa	13	4
Bensouda	11	1
Adarissa	9	0
Narjis	6	0
Ain Haroun	5	0
Mon fleuri	13	1
Blida	1	0
sidi Hrazem	4	0
lala soukaina	2	0
Bab jiaf	3	0
Zouagha	5	2
Ain kadous	6	2
Ain hajjouj	8	2
Jnanat	3	1
oued fes	19	1
Bab jdid	4	1
Skhinat	5	0
Benslimane	3	0
Soundous	5	1
Lmssala	5	4
oulad tayeb	2	0
sidi boujida	9	1
Dokkarat	3	0
Lamellah	2	2
Hay tarik	1	0
Boutouil	6	1

Les secteurs de Sidi Brahim, Ain nokbi, Massira, Bab sifer, Sahrij gnawa et Lmssala, sont les plus touchés par la LC à la région de Fès.

Tableau3: répartition de la LC selon les centres de santé a la province de Moulay Yacoub

Centres de santé	Total de prélèvements	Total des cas positifs
S A B	6	1
ouelad mimoun	2	0
Ras elma	68	54
Ain Allah	1	0
ouelad Benyakhlef	1	0
Ain kansra	4	1
Hamria	3	0
CPE Moulay yaacoub	1	0
Ain soma	1	0
Sidi Ahmed	1	0
Ain chekef	60	34

Les secteurs de Ras Elma et Ain chkef sont les plus touchés par la LC à la province de Moulay Yacoub.

Discussion

La prévalence mondiale de la leishmaniose est estimée à 12 millions de cas. Au Maroc, l'incidence annuelle a été estimée à 1 pour 10 000 habitants d'après les données du ministère de la santé.

Le nombre total des cas notifiés de la leishmaniose cutanée au Maroc est passé de 900 en 1999 à 2813 cas en 2015 (DELM, 2015).

La LC a été déclarée la première fois en 2000 à Moulay Yacoub avec 44 cas et surtout, au secteur Ras El Ma (Rhajaoui M. et *al*, 2004, en 2002, ce nombre est passé à 73 cas puis chute jusqu'à 6 cas en 2010 (Slaoui, 2011).

A Fes les résultats montrant un faible nombre corroborent l'étude de Slaoui (2011).

La diminution de la LC est expliquée par la lutte efficace déployée par le ministère de la santé et la collaboration intersectorielle, à savoir l'élimination des ordures ménagères. Malheureusement, des nouveaux cas ne cessent d'apparaître et de nouveaux secteurs sont réapparus. Ceci est dû probablement au relâchement des moyens de lutte et à la persistance d'un certain nombre de facteurs à risque tel que l'urbanisation anarchique et les mauvaises conditions d'hygiène. Sachant que la leishmaniose est un véritable problème de santé publique au Maroc et est liée à plusieurs facteurs : économiques, écologiques et sociaux (Ashford, 1999), on cite :

- Les mauvaises conditions d'hygiène, et surtout la présence de décharges publiques à côté des blocs d'habitation.
- Présence de grottes et des fentes de murs notamment dans les zones rurales et périurbaines constituant des micro-habitats favorables pour les phlébotomes.
- L'urbanisation accélérée et non planifiée dans le périurbain et la cohabitation Homme-animal.
- Le réchauffement climatique enregistré ces dernières années qui favorise l'augmentation de la densité des phlébotomes (OMS, 2000).

En mois d'Avril et Mai, le pourcentage de personnes touchées par la maladie est extrêmement élevé, par rapport aux autres mois de l'année, Ceci peut être expliqué par la biologie et les fluctuations saisonnières du vecteur (Lahouiti et al, 2014).

Les zones où le nombre de cas est élevée (Ain chkef, Ras elma) corrobore les résultats de (Lahouiti et *al*, 2016) qui montre que ces zones à risque se localisent en majeure partie dans les endroits manquant d'hygiène ou les conditions de la pollution du vecteur sont favorable.

L'analyse du nombre de cas positifs dans la préfecture de Fès, Moulay Yacoub en fonction du genre a montré une prédominance du sexe féminin et un sexe-ratio de 0,7 (H/F). La prédominance du sexe féminin a été déjà constatée lors de la première étude menée à Moulay Yacoub en 2000 par Fellah et ses collaborateurs (Fellah et *al.*, 2007) où le sexe-ratio était de 1,5(F/H). Deux explications peuvent être avancées pour ce résultat, la première en relation avec l'hôte définitive, dû au fait que les femmes consultent plus que les hommes, surtout lorsqu'il s'agit d'une lésion au niveau du visage (30,4% des lésions sont localisées au niveau du visage), contrairement aux hommes qui ne consultent qu'en cas de complications. La deuxième est dû au comportement du vecteur *Phlebotomus*, en effet il a été démontré que dans la zone d'étude c'est l'espèce *L.tropica* qui circule (Rhajaoui 2004, Slaoui 2011) ; dont le vecteur est *P. sergenti* qui est endophile (Fellah 2007 ; Lahouiti 2014).

L'analyse du nombre de cas positifs en fonction de l'âge dans la préfecture de Fès, Moulay Yacoub a montré que toutes les tranches d'âge sont touchées, notamment celle entre 0 et 12 ans. Ces résultats concordent avec celles trouvées à la même zone étudiée par Meryem Slaoui (2011) et confirment d'autres études menées à Chichaoua (Zougaghi et *al.* 2009), et en Algérie (Zait et *al.*, 2009) et qui ont montré que c'est la tranche d'âge de 0 à 12 ans qui est la plus touchée avec respectivement 25% et 37%. Keita et *al.* (2003) expliquent cette dominance par la fragilité de la peau des enfants et leur complète nudité qui les rend vulnérables à la piqûre des insectes et à contracter la leishmaniose.

L'analyse du nombre de cas positifs en fonction de secteurs dans la région de Fès a montré que les centres hospitaliers qui reçoivent le nombre des cas les plus importants sont ceux de sahrij gnawa, Imssala, Sidi Brahim, Massira, Bab sifer ..., le nombre de personne malade n'a pas dépassé 5 cas au bout de 5ans. Ces secteurs sont connus être des localités où domine l'urbanisation anarchique qui peut être un facteur favorable pour la pullulation des vecteurs (Hmamouch et *al.* 2018), ainsi qu'à Moulay Yacoub, les résultats montrent que le nombre de personne malade est important dans les centres hospitaliers RAS ELMA, avec un chiffre de 54 personnes, suivies par AIN CHEKEF avec un chiffre de 34 personnes, ceci explique l'existence de la leishmaniose en milieu rural plus qu'un milieu urbaine Ain chkef, Ras elma, ce sont des zones rurales, où coexiste la vie des hommes et des animaux ce qui favorise la pullulation des vecteurs (Lahouiti 2013).

Conclusion et perspective

L'étude rétrospective sur la LC effectuée au laboratoire Régional de Diagnostic Épidémiologique et d'Hygiène au Milieu de Fès, concerne plusieurs cas qui ont été confirmés durant une période de 5 ans, montre que la prévalence de LC dans les préfectures de Fès, Moulay Yacoub est de 29,08%.

- 1- L'espèce qui circule à la préfecture de Fès et la province de Moulay Yacoub est toujours *Leishmania tropica*.
- 2- La LC prédomine durant la fin du printemps et le début de l'été, surtout en mai d'Avril et Mai, période où le phlébotome est actif.
- 3- Toutes les tranches d'âge sont touchées par la LC. Les enfants âgés entre 01 mois et 12 ans sont les plus concernés par cette maladie.
- 4- Ce sont les femmes qui sont les plus atteintes : le sexe féminin est prédominant.
- 5- L'étude rétrospective de la zone étudiée montre que la leishmaniose s'installe majoritairement dans la zone rurale (Moulay yacoub), par rapport à l'urbain (Fès).
- 6- La LC persiste dans les deux zones étudiées avec un nombre non négligeable de cas qui apparaissent chaque année.

L'identification de l'espèce circulante dans la zone étudiée (*L.tropica*) sera importante dans la mise en place des moyens de lutte nécessaires pour combattre cette maladie.

Sachant que l'Homme est le réservoir de cette espèce, la lutte doit donc être sous forme d'un diagnostic précoce et d'un traitement urgent afin d'arrêter le cycle de transmission.

Dans ce travail, on peut démontrer que la leishmaniose est en extension dans la région de Fès, Moulay yacoub et que le nombre de cas est en train d'augmenter. Donc, il faut lutter contre cette maladie, afin de protéger la nouvelle génération et empêcher l'apparition d'une nouvelle épidémie.

Vu la contrainte du temps, nous n'avons pas pu compléter cette étude et dont le poursuivi du travail est toujours demandé.

L'étude peut être suivie par autres étudiants, afin de tirer des conclusions et les comparer avec celui retrouvé entre 2013 et 2017.

Références bibliographiques

- Alder.S et Ber. M. 1941. Transmission of *L.tropica* by the bite of *P.papatasi*. Indian J. Med.Res.29:803-809.
- Alvar.J et jimenez.M.1994. Could infected drug-users be potentiel *L.infantum* reservoirs? .AIDS.8 (2)854.
- Amarir fatima, sebti Faiza, Fellah hajiba, Pralong Francine, Jean-pierre Dedet, el mansouri Bouchra, Hmamouch Asmae, Delouane, Bouchra, Habbari khalid Sadak Abdrrahim, Abassi Ibrahim and Rhajaoui Mohamed. Epidemiological characteristics of a new focus of cutaneous leishmaniasis caused by leishmania tropica in settat, Morocco.Acta Tropica 150 (2015) 116-121
- Bulletin d'épidémiologie.2000. programme de lutte contre les leishmanioses. 78-79.
- Cadi soussi, Amine. Met Lahrech. T. Remarques sur la fréquence et la répartition des leishmanioses au Maroc. 1977. Coll. Int CNRS/INSERM. (239) 219-233.
- Dedet. J-P. 2001. Les leishmanies, les leishmanioses : biologie, clinique et thérapeutique. Maladies infectieuses. 1-11.
- Département de parasitologie. 2000. Registre des données des leishmanioses.
- Département de parasitologie. 2001-2002. Registre des données de la leishmaniose viscérale autochtone au Maroc méridional. Coll. Int CNRS/INSERM. (37) 225.
- El Alem Mohamed Mahmoud, Sebti Faiza, Med L emine, Chichaoui S maine, El Bachir Adlaoui, Habbari khalid, sadak abderrahim, and Fellah Hajiba. Geographical distribution and new situation of Leishmania Species after the control of cutaneous Leishmaniasis Foci in Errachidia Province, Morocco, in 2014. BioMed Research International Volume 2016, Article ID 8642373, pages
- H. El Miri C.Faraj. O. Himmi. A.Hmamouch. S.Maniar. T. Laarousi. M. Rhajaoui. F.Sebti. A.Benhousa. Cutaneous leishmaniasis in Ouzzane and sidi kacem provinces, Morocco (1997-2012). Bull. Soc. Pathol. Exot. DOI 10.1007/s13149-016-0522-1
- Fellah. H, Rhajaoui. M, Ouahabi. S, Belghiti. D and lyagoubi. M, Occurrence of human cutaneous leishmaniasis in Zougha My yacoub province (Morocco).. International journal of Agriculture & biologie. (2007). 1, 197-8.
- Foley.H et Vialatte. C.1914. Existence dans le sud marocain du bouton d'orient a l'état endémique. Bull. Soc. Path. Exo. 7. 114-115.

- Direction de l'Épidémiologie et de Lutte contre les Maladies Ministère de la santé : santé en chiffres 2015; édition 2016.
- Rhajaoui M, Fellah H, Pratlong F, Dedet JP, Lyagoubi M (2004). Leishmaniasis due to *Leishmania tropica* MON-102 in a new Moroccan focus. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 98:299-301.
- Slaoui meryeme, PFE Master biotechnologie, Étude épidémiologique et moléculaire de la leishmaniose cutanée a Fès et Moulay yacoub ; 2011; faculté des sciences université sidi Mohammed Ben Abdellah.
- Hmamouch asmae, thèse : Étude épidémiologique et moléculaire de la leishmaniose cutanée dans la région Fes-Meknès, 2018, FST, Université sidi Mohammed Ben Abdellah.

Annexes

Annexe1



Leishmaniose cutanée -L.infantum

<http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/leishmanioses/site/html/cours.pdf>

Annexe 2



Biopsie cutanée par punch

<https://www.huidziekten.nl/folders/nederlands/huid-biopt.htm>

Annexe3

Fixation, coloration et observation microscopique

Fixation

-Fixer l'étalement cutané ou médullaire à l'alcool méthylique (méthanol absolu) en plongeant les lames dans un bac de coloration remplie du méthanol pendant 2 à 5 minutes.

Coloration

Sortir les lames du méthanol et les introduire dans un bac contenant la solution de MGG diluée à 10% dans une solution physiologique tamponnée a pH 6,8-7,2; en cas de manque utiliser de l'eau distillée a pH 6,8-7,2 pendant 45minutes

-Le flacon de la solution mère de Giemsa doit être ferme hermétiquement et garder à l'abri de la lumière

-Ne jamais introduire une pipette mouillée dans le flacon de la solution mère.

-Le Giemsa dilué est utilisable pendant environ 8 heures, par conséquent, on préparera la dilution le jour même où elle sera utilisée.

Rinçage

-Laver a l'eau distillée ou l'eau du robinet (débit faible) pour enlever l'excès du colorant.

-Il ne faut pas trop rincer les frottis minces, le colorant risque d'être éliminé.

Séchage

-Sèche les lames en les posant verticalement sur le support de séchage.

-En cours du séchage, mettre les lames à l'abri de la poussière et de tout autre débris qui pourrait tomber dessus et entrainer par la suite des problèmes de diagnostic, les protéger contre les mouches et tous autres insectes susceptibles de les endommager

Examen microscopique

-Poser une goutte d'huile a immersion sur lame,

-Lire les lames aux microscopes a l'objectif 100,

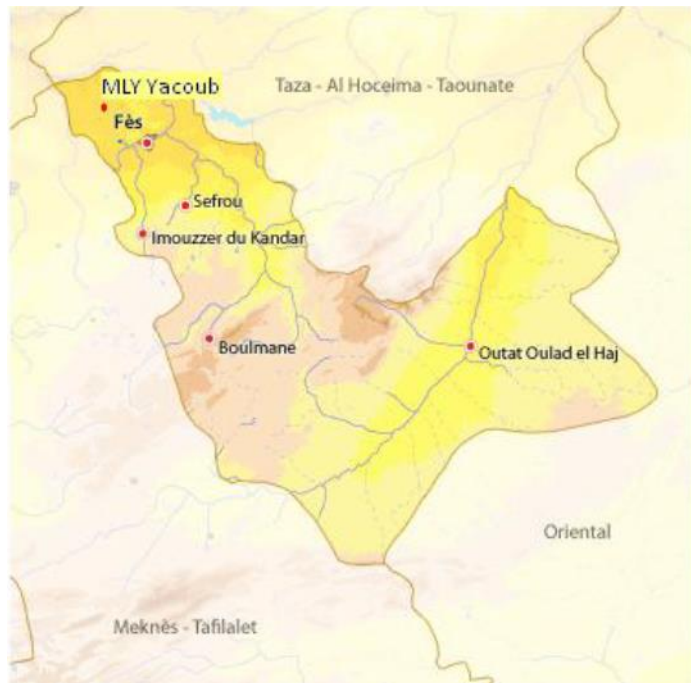
-Balayer toute la lame en zigzag horizontalement ou verticalement.

Conservation des lames

Sous une hotte chimique utiliser l'EUKIT dilué par le toluène ou le Xylène dans un tube.

- Déposer deux gouttes du conservateur dilué sur le frottis
- Couvrir à l'aide d'une lamelle en évitant la formation des bulles d'air sans appuyer.
- Laisser sèche les lames.

Annexe4



Situation de la préfecture de FES et la province de MLY Yacoub dans la région Fès-Boulemane

<http://www.location-et-vacances.com/location-vacances-Fes-Boulemane.1187.html>

Annexe5

MP.1

وزارة الصحة
 MINISTERE DE LA SANTE
 Région Fès Boulemane

Bon d'Examen Individuel N° 049548 /E

الإسم
Nom

السن
Age

رقم المنزل
Maison N°

المسكن
Localité

المستوصف
Secteur

الدائرة الصحية
Circons sanitaire

الإقليم
Province/Préfecture

المنف
Sexe M F

إسم رب الأسرة
Nom du chef de foyer

N° Code رقم

Dépistage Actif Passif Autre

Programmes	Nature de l'examen ou du prélèvement	Date du prélèvement	Date d'examen	Résultat
Paludisme	Goutte épaisse			
Bilharziose	Prélèvement d'urine			
	Sérologie			
	Frottis de moelle			
Leishmaniose	frottis cutané			
	Biopsie			

N° du laboratoire :

Observations : _____

Fiche de registre